جداسازی *اشریشیا کلی* O157:H7 و شناسایی عوامل حدت آن در حیوانات خانگی و صاحبان آن‌ها در شهرستان اصفهان

فرناز سلطانی [۱]، علی شریف‌زاده [۲*]

۱- دانش آموخته دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۲- دانشیار گروه آموزشی میکروبیولوژی،دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی،شهرکرد، ایران

*نویسنده مسئول: sharifzadeh@iaushk.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۱۲/۲۰ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۳/۲۶)

چکیده

اشریشیاکلی سویه O۱۵۷:H۷ در زمره باکتری‌های بیماری‌زای گوارشی است که به عنوان جرم مشترک بین انسان و حیوان محسوب شده و حیوانات ناقل باکتری، منشأ عفونت برای انسان می‌باشند. این مطالعه با هدف بررسی فراوانی میزان آلودگی به *اشریشیاکلی* O۱۵۷:H۷ در سگ‌ها و گربه‌های خانگی و صاحبان آنها در شهرستان اصفهان انجام گردید. بدین منظور در تابستان ۱۴۰۰، ۱۱۵ نمونه مدفوع اخذ گردید. ارتباط فاکتورهای خطری نظیر سن، جنس، نژاد و ابتلا به اسهال نیز با میزان آلودگی بررسی گردید. جدایه‌های *اشریشیاکلی* با آزمایشات کشت و بیوشیمیایی مورد تایید قرار گرفتند. آزمون‌های باکتری شناسی در حد جنس و گونه و آزمون PCR هم برای تایید تشخیص آزمایشات باکتری شناسی از باکتری های جداسازی شده هم بطور مستقیم روی نمونه‌ها صورت پذیرفت. نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر، باکتری *اشریشیاکلی* O۱۵۷:H۷ را در ٤٤٪ سگ‌ها، ۸٪ گربه‌ها، ۸٪ صاحبان سگ و ۸٪ از صاحبان گربه نشان داد. بین سن، جنسیت، و نژاد با فراوانی آلودگی ارتباطی معنی‌داری یافت نشد. اما در ارتباط با ابتلا به اسهال با میزان فراوانی آلودگی ارتباط معنی‌داری یافت شد. بر طبق نتایج از مجموع نمونه‌های حیوانی ٤٤٪ واجد ژن *Stx۱* و ۲۸٪ واجد ژن *Stx۲* بود. در مجموع نمونه‌های انسانی نیز ۲۰٪ واجد ژن *Stx۱* و ۱٦٪ واجد ژن *Stx۲* بود. نتایج به دست آمده با نرم افزار آماری SPSS در سطح($p<۰/۰۱$) **آنالیز گردید**. این نتایج نشان دهنده‌ی نقش سگ و گربه در انتشار و انتقال باکتری *اشریشیاکلی* O۱۵۷H۷ به انسان است. بنابراین سگ و گربه می‌تواند مخزن این باکتری باشد.

کلید واژه ها: *اشریشیاکلی* O۱۵۷H۷، سگ، گربه، انسان

مقدمه

باکتری *اشریشیا کلی*، باسیل گرم منفی از خانواده *انتروباکتریاسه*، معمولا متحرک، فاقد هاگ، بی هوازی اختیاری و تخمیر کننده قند لاکتوز است. این باکتری ، به عنوان فلور میکروبی طبیعی در روده انسان و حیوانات خون گرم وجود دارد (Brooks *et al.*,2007). باکتری *اشریشیا کلی*، شایعترین باکتری جداشده در آزمایشگاه‌های میکروب شناسی بالینی از نمونه های دستگاه ادراری و مدفوع بوده و عامل اصلی عفونت های روده ای و خارج روده ای می باشد (Saify *et al.*,2003) سویه‌های غیر بیماریزای این باکتری می‌توانند با دریافت ژن های حدت از راه پلاسمید، فاژ یا ترانسپوزون به سویه های بیماری زا تبدیل شوند. در بین سویه‌های بیماری زای این باکتری، سویه‌های انترو هموراژیک *اشریشیاکلی* به دلیل ایجاد اسهال خونی و سندرم همولیتیک اورمی حائز اهمیت است. سندرم همولیتیک اورمیک در موارد شدید ممکن است منجر به از دست دادن کلیه و مرگ بیمار شود. سویه O۱۵۷H۷ از مهمترین و شایع‌ترین سویه‌های انتروهموراژیک *اشریشیا کلی* و از بارزترین عوامل بیماری‌زای منتقل شونده توسط غذا است که از طریق آب و فرآورده‌های غذایی آلوده به انسان منتقل می‌شود و پس از کلونیزه شدن در روده منجر به آسیب‌های شدیدی همچون کولیت خون‌ریزی دهنده و سندرم ادراری خونری‌زی دهنده می‌گردد. حیواناتی مانند گاو، بز، گوسفند، خوک و بوقلمون به عنوان مخزن این باکتری مطرح هستند (Banatvala *et al.*,2001). راه انتقال این سویه از طریق مواد غذایی به خصوص مواد غذایی با منشأ دامی از جمله شیر و فرآورده‌های آن، گوشت چرخ کرده، همبرگر و... می‌باشد (Bonyadyan *et al.*,2014). متداول‌ترین راه انتقال این باکتری مدفوعی- دهانی عنوان شده است (Linton *et al.*,1997). انتقال از راه هوا نیز در محل‌هایی که حیوانات آلوده وجود دارند هم به اثبات رسیده است (Varma *et al.*,2003). این باکتری تا۲۱ ماه توانایی زیادی در زنده ماندن در خاک، آب و غذا را دارد. (Jiang *et al.*,2002). باکتری پس از اتصال به مخاط روده شروع به ترشح مجموعه‌ای از سیتوتوکسین‌های خارج سلولی با عنوان شیگاتوکسین می-نماید. این توکسین‌ها فاکتور بیماری‌زا در باکتری‌های STEC می‌باشد و در دو قالب *STX۱* و *STX۲* شناسایی گردیده است. مکانیسم بیماری‌زایی توسط مهار پروتئین سازی با فعالیت اختصاصی بر زیر واحد ۶۰S ریبوزوم پستانداران صورت می‌گیرد. *STX* فعالیت آنزیمی و پروتئولیزی داشته و فرآیند طویل سازی پروتئین‌ها را در ریبوزوم مهار می‌کند (Law.,2000 , Gyles.,2007). هم اکنون سازمان جهانی بهداشت به تمام کشورهای جهان، پایش این باکتری را به عنوان یک اولویت تحقیقاتی پیشنهاد داده است. توجه به اهمیت باکتری *اشریشیا کلی* O۱۵۷ :H۷ در ایجاد بیماری و شیوع مسمومیت‌های ناشی از آن از یک سو و ضرورت شناسایی مخازن این باکتری جهت اقدامات بهداشتی و پیشگیرانه از سوی دیگر، بررسی وضعیت فراوانی سویه‌های تولید کننده توکسین در این باکتری را ضروری می‌نماید. ارتباط نزدیک

انسان با سگ‌ها و گربه‌های خانگی و افزایش تعداد افرادی که به نگهداری حیوانات خانگی به ویژه سگ و گربه به منظور برقراری احساسات تمایل نشان می‌دهند ضرورت انجام این گونه از تحقیقات را مضاعف می نماید تا جهت جلوگیری از شیوع عفونت‌های بعدی استفاده گردد (Herrera-Luna *et al*.,2009, Huasai *et al*.,2012 , Koochakzadeh *et al*.,2014). لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی نقش احتمالی سگ ها و گربه های خانگی شهرستان اصفهان به عنوان مخزن *اشریشیا کلی* O۱۵۷:H۷ بوده است.

مواد و روش ها

تحقیق حاضر نوعی مطالعه توصیفی بوده که در درمانگاه دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد مستقر در شهرستان اصفهان انجام شد. نمونه گیری به روش تصادفی از ۱۱۵ سگ و گربه خانگی شهرستان اصفهان پس از معاینه و ثبت مشخصات از قبیل سن، جنس، نژاد، مصرف غذای خام در جیره غذایی، محیط زندگی و سالم بودن یا مبتلا بودن به اسهال با سواپ استریل از مدفوع یا ناحیه-ی رکتوم صورت پذیرفت. از هر نمونه ۲ سواپ مدفوعی اخذ می‌گردید، که یکی از سواپ‌ها در میکروتیوب حاوی سرم فیزیولوژی برای بررسی مولکولی و دیگری در محیط کشت انتقالی برای بررسی به کشت قرار می‌گرفت. نمونه ها به شکلی انتخاب می‌گردید که در یک ماه گذشته سابقه استفاده از آنتی‌بیوتیک نداشته باشند.

ابتدا نمونه‌های اخذ شده با سواب به محیط مک‌کانکی آگار منتقل و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری گردید. پس از این مدت، پرگنه‌های صورتی انتخاب و در محیط EMB (ائوزین متیلن بلو) کشت داده شد. پس از ۲٤ ساعت گرمخانه گذاری این محیط از نظر ایجاد منظره فلزی بررسی گردید. به منظور تایید باکتری جداسازی شده،، پس از رنگ آمیزی گرام، از روش های کشت در محیط TSI و آزمایش IMViC استفاده گردید. عدم رشد در محیط سیمون سیترات، ایجاد حلقه قرمز رنگ در محیط پپتون واتر پس از افزودن معرف کواکس، قرمز شدن محیط MR پس از افزودن معرف متیل رد و در نهایت منفی بودن واکنش VP از جمله آزمون های تاییدی در مورد *اشریشیا کلی* بود. در نهایت پرگنه‌های تایید شده در این مرحله جداسازی و خالص‌گردیده و جهت تشخیص قطعی با روش PCR نگهداری گردیدند.

در بخش دوم تحقیق، جهت تائید پرگنه‌های مشکوک این باکتری در روش کشت و نیز جهت ردیابی مستقیم *اشریشیاکلی* در سواب‌های مدفوعی، از آزمون PCR استفاده گردید. DNA مورد نیاز جهت این آزمون، توسط کیت استخراج DNA و با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده کیت (سینا ژن، ایران،cat no: 6071) تهیه و تا زمان انجام واکنش PCR در فریزر نگهداری‌گردید. از DNA استخراج شده جدایه‌های مشکوک به‌عنوان DNA الگو، از DNA سروتیپ O157:H7 شناسایی شده در تحقیقات قبلی مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی واحد شهر کرد به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر استریل نیز به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. توالی آغازگرهای ژن‌های این مطالعه در جدول ۱ آمده

است. برنامه های حرارتی در مورد ژن‌های مختلف متفاوت بود. در مورد ژن *rfbE*، یک سیکل۹۵ درجه به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل تکراری ۹٤ درجه ۳۰ ثانیه، ۵۷ درجه ۳۵ ثانیه و۷۲ درجه ٤۵ ثانیه و در نهایت یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۵ دقیقه صورت پذیرفت(Hsu *et al.,2005*). درمورد ژن‌های حدت *Stx۱* و *Stx۲* نیز، یک سیکل۹۵ درجه به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل تکراری۹۵ درجه ٤۵ ثانیه، ٥٤ درجه یک دقیقه و۷۲ درجه یک دقیقه و در نهایت یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۵ دقیقه تنظیم گردیده بود. مخلوط واکنش PCR برای تکثیر این ژن‌ها در حجم ۲۵ میکرولیتر تهیه شد. برای بررسی و مشاهده محصولات PCR از ژل آگارز ۱ درصد استفاده گردید(Puttalingamma *et al.,2014*).

جدول ۱– توالی نوکلئوتیدی و اندازه محصول آغازگرهای مورداستفاده جهت جهت ردیابی *اشریشیاکلی* O۱۵۷:H۷ و ژن‌های حدت (Hsu *et al.,2005;*Puttalingamma *et al.,2014*)

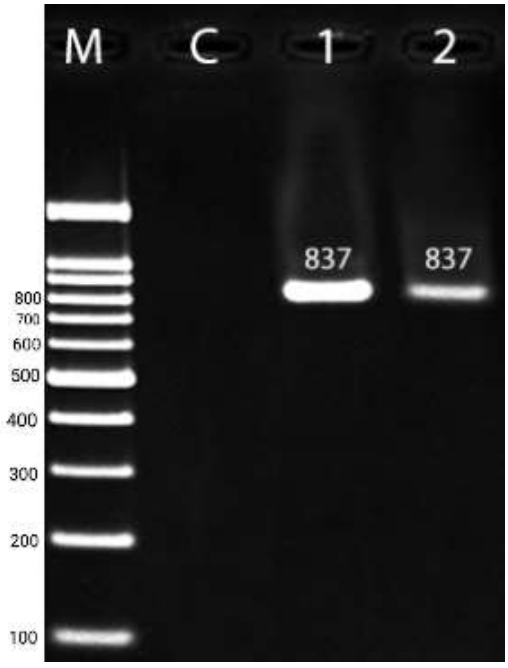
نام ژن	توالی پرایمر	اندازه محصول
rfbE	F:GTGCTT TTGATA TTT TTC CGA GTA C	۸۳۷
	RTTT ATA TCA CGA AAA CGT GAA ATT G	
Stx۱	F: AAATCGCCATTCGTTGACTACTTCT	۳۷۰
	R:CAGTCGTCACTCACTGGTTTCATCA	
Stx۲	F: TGCCATTCTGGCAACTCGCGATGCA	۲۸۳
	R: GGATCTTCTCCCCACTCTGACACC	

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS (شماره ١٦) انجام گرفت. برای بررسی تعیین ارتباط بین آلودگی به *اشریشیاکلی* O۱۵۷:H۷ و متغیرهای سن، جنس، نژاد، تغذیه، نوع نگهداری و وضعیت اسهال از آزمون آماری مربع کای استفاده گردید. همچنین برای مقایسه توان معنی‌داری بین متغییرها و آلودگی از آزمون فی–کرامرز استفاده شد.

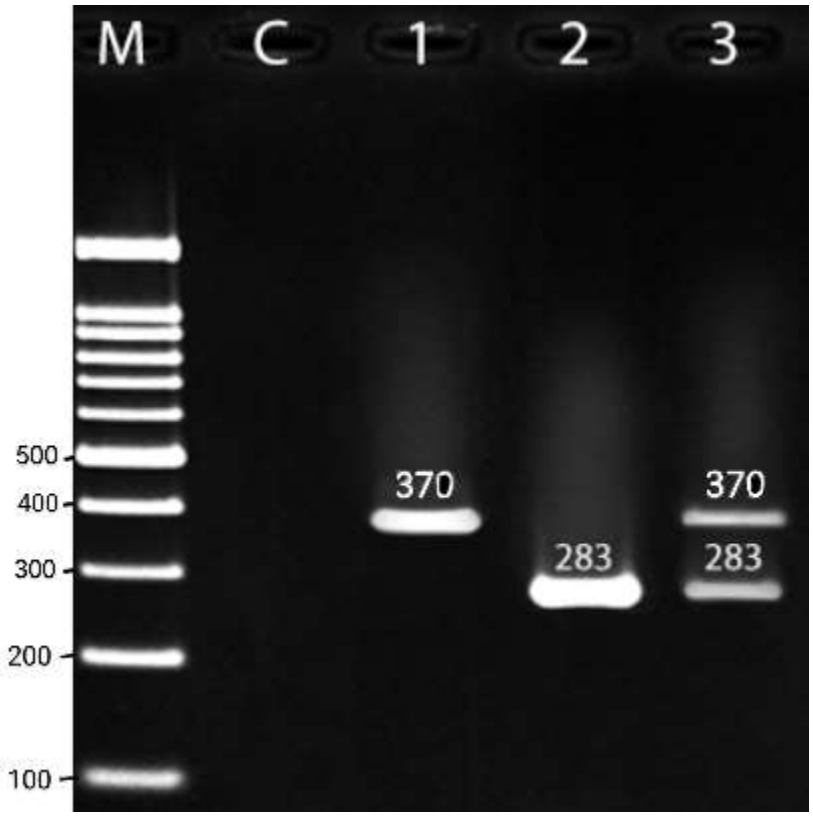
نتای‌ج

در این تحقیق، مجموعاً تعداد ۲۰ جدایه *اشریشیا کلی* O۱۵۷ بعد ازکشت و PCR جداسازی گردید. آزمایش مستقیمPCR روی نمونه های مدفوع، نتایج روش کشت را تایید نمود. درصد جداسازی موارد مثبت آلودگی از نمونه-های مدفوع سگ ٤٤٪ و در نمونه‌های مدفوع گربه ۸٪ گزارش گردید. درصد جداسازی موارد مثبت آلودگی در مورد صاحبان سگ، ۸٪ و در مورد صاحبان گربه نیز ۸٪ تعیین گردید (باند ۸۳۷ جفت بازی در *اشریشیا کلی* O۱۵۷:H۷ در

شگل شماره ۱). نتایج کشت و PCR در مورد همه نمونه‌ها کاملا همخوان بود به شکلی که کلیه نمونه‌های مثبت در روش کشت، در روش PCR نیز مثبت و کلیه نمونه‌های مثبت در روش PCR در روش کشت نیز مثبت گزارش گردید. فراوانی ژن‌های حدت *Stx۱* و *Stx۲* در موارد مثبت جداشده از سگ به ترتیب برابر ٪٤٤ و ٪۲۰ و در گربه ٪۰ و ٪۸ بود. در مورد صاحبان سگ نیز فراوانی ژن های حدت به ترتیب برابر ٪۱٦ و ٪۸ و صاحبان گربه نیز این میزان معادل ٪٤ و ٪۸ گزارش گردید (باند ۳۷۰ جفت بازی در مورد ژن حدت*Stx۱* و باند ۲۸۳ جفت بازی در مورد ژن حدت *Stx۲* در شکل شماره ۲). البته ژنهای حدت *Stx۱* و *Stx۲* به شکل توام نیز در سگ با فراوانی ٪۸ مشاهده گردید. مقایسه بین روش‌های کشت و مولکولی در تعیین آلودگی با *اشریشیاکلی* در شهرستان اصفهان تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵). درصد ابتلا سگ به *اشرشیاکلی* O۱۵۷:H۷ بیشتر از ابتلا گربه بود. با توجه به آزمون فیشر مشخص گردید بین نوع حیوان و ابتلا به *اشرشیاکلی* رابطه معنی‌داری وجود داشت (P=۰/۰۰٤). هم چنین بین نوع حیوان و ژن حدت *Stx۱* باکتری نیز رابطه معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۰۱). در حالی که بین نوع حیوان و ژن حدت Stx۲ باکتری رابطه معنی‌داری مشاهده نگردید. مقایسه نسبت موارد مثبت *Stx۱* و *Stx۲* در سگ و گربه‌های خانگی و صاحبان سگ و گربه‌ها مشخص گردید این مقادیر با هم اختلاف معنی‌داری نداشته، بنابراین ژن حدت *Stx۱* بین در سگ و گربه‌های خانگی و صاحبان آنها از یک الگوی مشترک پیروی می‌کنند. در ارتباط با بروز اسهال در سگ و گربه‌های مبتلا به *اشریشیاکلی* ارتباط معنی‌داری یافت شد (P=۰/۰۰۳).



شکل۱– تصویر الکتروفورز ژن O157(*rfbE*): ستونM: مارکر۱۰۰ جفت بازی، ستونC :کنترل منفی، ستون۱: کنترل مثبت، ستون۲: قطعه ۸۳۷ جفت بازی *O157*



شکل۲– تصویر الکتروفورز ژن های حدت*Stx1* و*Stx2* : ستونM: مارکر۱۰۰ جفت بازی، ستونC :کنترل منفی، ستون های بعدی: قطعات ۳۷۰ جفت بازی مربوط به ژنStx1 و ۲۸۳ جفت بازی مربوط به ژنStx2

بحث و نتیجه گیری

امروزه به الگوی آلودگی بسیاری از بیماری های میکروبی بسیار توجه شده است (Mohammadi *et al*.,2022). سویه‌های بیماری‌زای *اشریشیا کلی* سبب بروز بیماری‌های مهمی در انسان و حیوانات می‌گردد. انتقال این باکتری به سادگی از طریق آب و غذای آلوده رخ می‌دهد. سروتیپ O۱۵۷:H۷ از مهم‌ترین سروتیپ‌های این گونه بوده و یکی از

مهم‌ترین علل اسهال در افرادی است که از طریق آب و غذا آلوده شده‌اند. این سویه بر خلاف سایر سویه‌های *اشریشیاکلی* قادر به استفاده از سوربیتول نمی‌باشد (Kaper et al.,2004). تاکنون موارد متعددی از همه گیری‌های ایجاد شده توسط این باکتری با مصرف سبزیجات تازه، شیر غیر پاستوریزه، آب و غذای آلوده با مدفوع گاو وگوسفند و....گزارش شده است (Franz *et al*.,2007 ، Bélanger *et al*.,2011). از آن جا که حیوانات خانگی از جمله سگ و گربه، ممکن است بدون علائم بالینی ناقل آلودگی بوده و گاهی حتی علائم بالینی مثل اسهال خونی را نیز نشان دهند، لذا تشخیص دقیق و سریع آلودگی در این حیوانات به دلیل انتقال به صاحب خود بسیار حائز اهمیت می‌باشد.

بر اساس تحقیق حاضر، ٤٤٪ نمونه‌های سگ و ٨٪ نمونه‌های گربه به ظاهر سالم ناقل باکتری *اشریشیاکلی* O۱۵۷:H۷ می-باشند که البته در مقایسه با تحقیقات مشابه میزان آلودگی بالاتر بوده است. این اختلاف ممکن است به خاطر تفاوت منطقه جغرافیایی و جدیدتر بودن این تحقیق بوده باشد. در تحقیق شاکری خمسه درصد آلودگی همزمان به *اشریشیاکلی* O۱۵۷:H۷ و ژن حدت Stx۲ در گربه‌های به ظاهر سالم ارجاعی به درمانگاه‌های دامپزشکی شهرستان تهران ٣٪ گزارش شده است (Shakeri khamseh *et al*.,2017). در بررسی های دیگر، میزان شیوع سویه O۱۵۷:H۷ در سگ‌ها ٣/٦ درصد گزارش گردیده است (Bentancor *et al*.,2012). در مورد صاحبان سگ و گربه خانگی نیز تاکنون تحقیقی در مورد این آلودگی باکتریایی صورت نگرفته بود. در تحقیق حاضر میزان آلودگی هم در صاحبان سگ و هم در صاحبان گربه ٨٪ تعیین گردید. براساس نتایج این تحقیق، هم پوشانی کاملی بین آلودگی گربه‌ها و صاحبان آن‌ها مشاهده گردید و به عبارتی دقیقا گربه‌های آلوده به این باکتری دارای صاحبان آلوده نیز بودند. به هر حال هر چند برقراری ارتباط بین آلودگی باکتری‌های جدا شده و صاحبان آن‌ها نیاز به بررسی‌های ژنومی دقیق‌تری دارد ولی همین میزان نیز بسیار با اهمیت می‌باشد. به خصوص با توجه به اینکه انتقال آلودگی در مورد این باکتری از انسان به انسان، انسان به حیوان و بالعکس صورت می‌گیرد و با توجه به اینکه سویه O۱۵۷:H۷ با دوز عفونی بسیار پایین بین ده تا صد عدد باکتری می-تواند بیماری ایجاد کند اهمیت این آلودگی را بیش از پیش می‌نماید(Franz *et al.,2007*).

در تحقیق حاضر، بررسی ارتباط آلودگی با *اشریشیا کلی* O۱۵۷:H۷ در سگ‌ها و گربه‌های خانگی و صاحبان آن‌ها در شهرستان اصفهان با فاکتورهای خطری نظیر سن، جنس، نژاد و ابتلا به اسهال نیز صورت پذیرفت و نتایج تجزیه و تحلیل آماری حاکی از آن بود که بین متغیرهای سن، جنسیت و نژاد با آلودگی باکتریایی ارتباط آماری معناداری وجود ندارد (P>۰/۰۵). علیزاده و همکاران نیز در تحقیق خود در گربه های خانگی غیر اسهالی گزارش نمودند که بین وجود سویه *اشریشیا کلی* O۱۵۷H۷ با متغیرهای جنس، نژاد، تغذیه، تماس با سایر گربه‌ها، تردد در خارج از منزل و سن ارتباط معنی‌داری وجود ندارد که با نتایج تحقیق حاضر همخوان است (Alizadeh.,2014). هم چنین در این تحقیق بین متغیر ابتلا به اسهال با آلودگی باکتریایی *اشریشیا کلی* O۱۵۷:H۷ ارتباط آماری معناداری وجود داشت (P<۰/۰۵). اسمیت و

همکاران نیز با بررسی ۱۱۳ گربه مبتلا به اسهال از مجموع ۱۷۹ گربه آزمایش شده مشاهده نمودند که بین ابتلا به اسهال و آلودگی *اشریشیا کلی* O۱۵۷:H۷ ارتباط آماری معناداری وجود دارد که مطابق با مطالعه حاضر می‌باشد (Smith *et al.*,1998). در تحقیقات مشابه *سالمونلا،شیگلا، اشریشیا کلی و یرسینیا انتروکولیتیکا* بیشترین سهم را در ایجاد اسهال عفونی ایفا می نمایند(Torres *et al.*,2001).

در بررسی حاضر تمام سویه های O۱۵۷:H۷ جداشده از سگ ها دارای ژن تولید سم Stx۱ بود که با سایر تحقیقات در این زمینه همخوان است. کوچک زاده و همکاران نیز گزارش نمودند که سویه های جدا شده تولید کننده سم شیگا (Stx۱) از سگ سانان می باشد (Koochakzadeh *et al.*,2014). در گربه‌ها فراوانی ژن حدت Stx۲ بیشتر است به شکلی که شاکری خمسه در تهران از گربه های آلوده به سویه O۱۵۷ H۷ صرفا این ژن حدت را شناسایی نمود (Shakeri khamseh *et al.*,2017). رومی و همکاران نیز پس از یک همه گیری ژن حدت Stx۲ را از گربه ها جدا نمودند (Rumi *et al.*,2014).

به طور معمول در حال حاضر شناسایی O۱۵۷:H۷ در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی انسانی بر پایه کشت، جداسازی و تست‌های فنوتیپی است ولی از آن جا که به خصوص در مورد این آلودگی محیط اختصاصی کروم آگار برای تشخیص باکتریایی الزامی است لذا استفاده از روش‌های مولکولی برای تشخیص سویه O۱۵۷H۷ طی سال‌های اخیر توسعه یافته و هم اکنون از نظر تجاری قابل دسترسی بوده و مورد استفاده قرار می‌گیرند. شناسایی ژن اختصاصی rfbE که منحصرا در ژنوم سروتیپ O۱۵۷:H۷ موجود بوده و آنتی ژن سطحی O را کد می کند بر پایه PCR می‌توانند جانشین روش‌های کشت در شناسایی این باکتری‌ها از نمونه‌های بالینی شود (Linton *et al.*,1997).

با توجه به افزایش روزافزون تمایل افراد برای نگهداری سگ و گربه در منزل و به علت نزدیکی و وابستگی بسیار زیاد بین صاحبان و حیواناتشان، که به عنوان یکی از مخازن پاتوژن‌ها مطرح‌اند، افزایش زمینه اطلاعات در خصوص شیوع این گونه عفونت‌های باکتریایی قابل انتقال بین انسان و حیوان برای تعیین شدت بیماری و اقدامات پیشگیرانه در جهت بهبود سلامت عمومی مهم می‌باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان از سرکار خانم دکتر فرانک عالی در مرکز تحقیقات بیونکنولوژی، به جهت همکاری در اجرای آزمایشات قدردانی می نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می دارند هیچ گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع

- Brooks, G.F., Carroll, K.C., Butel, J.S. and Morse, S.A.(2007) Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. *Helicobacter*, 52(7):37-45.
- Saify, M. H., Barnes, G., Glisson. J. R, fadly, A. M. and McDonald, L. E.(2003) Diseases of poultry. Iowa state press, 75-84.
- Banatvala, N., Griffin, P. M., Greene, K. D., Barrett, T. J., Bibb, W. F., Green, J. H. and Wells, J. G.(2001) The United States national prospective hemolytic uremic syndrome study: microbiologic, serologic, clinical, and epidemiologic findings. The Journal of infectious diseases, 183(7): 1063-1070.
- Bonyadyan, M., Zahrai Salehi, T. and Mehrabani, A.(2014) Comparison of two methods of polymerase chain reaction and standard culture to detect *Salmonella* in raw milk. Comparative pathobiology of Iran, 1(48):1509-1516.
- Linton, D., Lawson, A. J., Owen, R. J. and Stanley, J. P. C. R.(1997) PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples. Journal of clinical microbiology, 35(10): 2568-2572.
- Varma, J. K., Greene, K. D., Reller, M. E., DeLong, S. M., Trottier, J., Nowicki, S. F. and Mead. P. S.(2003) An outbreak of *Escherichia coli O157* infection following exposure to a contaminated building. Jama, 290(20): 2709-2712.
- Jiang, X., Morgan, J. and Doyle, M. P.(2002) Fate of *Escherichia coli O157: H7* in manure-amended soil. Applied and environmental microbiology, 68(5): 2605-2609.

Law, D.(2000) Virulence factors of *Escherichia coli O157* and other *Shiga toxin*-producing *E. coli*. Journal of Applied Microbiology, 88(5): 729-745.

- Gyles, C. L.(2007) Shiga toxin-producing Escherichia coli: an overview. Journal of animal science, 85: 45-62.
- Herrera-Luna, C., Klein, D., Lapan, G., Revilla-Fernandez, S., Haschek, B., Sommerfeld-Stur, I. and Baumgartner, W.(2009) Characterization of virulence factors in *Escherichia coli* isolated from diarrheic and healthy calves in Austria shedding various enteropathogenic agents. Vet Med, 54(1): 1-11.
- Huasai, S., Chen, A., Wang, C. J., Li, Y. and Tongrige, B.(2012) Occurrence and characteristics of virulence genes of *Escherichia coli* strains isolated from healthy dairy cows in Inner Mongolia, China. Brazilian Journal of Microbiology, 43: 528-534.
- Torres, M.E., Pírez, M.C., Schelotto, F., Varela, G., Parodi, V., Allende, F., et al.(2001), Etiology of children's diarrhea in Montevideo, Uruguay: Associated pathogens and unusual isolates. Journal of Clinical Microbiology, 39 : 2134-2139.
- Koochakzadeh, A., Zahraei Salehi, T., Nayeri Fasaei, B. and Askari Badouei, M.(2014) Detection of verotoxin (Shiga-like toxin)-producing and *eae* harboring *Escherichia coli* in some wild captive and domestic Equidae and Canidae. Archives of Razi Institute, 69(2): 157-163.
- Hsu CF, Tsai TY, Pan TM (2005). Use of the duplex TaqMan PCR system for detection of Shiga-like toxin-producing Escherichia coli O157. Journal of Clinical Microbiology. 43:2668-2673
- Puttalingamma V, Niveditha S. A review: detection of Escherichia coli O157:H7. Int J Pharm Sci Res 2014; 4(3): 49-52.

- Mohammadi, M., Pezjhan, A. and Radfar, M.(2022) An Analysis of the Trends of Mortality in Iran and the World and the Factors Affecting the Country's Mortality in Research Texts (Course of the Last Decade), Journal of Healthcare Management, 13(3):51-62.
- Kaper, J. B., Nataro, J. P. and Mobley, H. L.(2004) Pathogenic *Escherichia coli*. Nature reviews microbiology, 2(2): 123-140.
- Franz, E., Klerks, M. M., De Vos, O. J., Termorshuizen, A. J. and van Bruggen, A. H.(2007) Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli stx 1, stx 2, eaeA,* and *rfbE* genes and survival of *E. coli O157: H7* in manure from organic and low-input conventional dairy farms. Applied and Environmental Microbiology, 73(7): 2180-2190.
- Bélanger, L., Garenaux, A., Harel, J., Boulianne, M., Nadeau, E. and Dozois, C. M.(2011) *Escherichia coli* from animal reservoirs as a potential source of human extraintestinal pathogenic E. coli. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 62(1): 1-10.
- Shakeri khamseh, S. H., Arfaei, F. and Amini, K.(2017) Isolation and Identification of Shiga Toxin Producing *Escherichia coli O157:H7* from Healthy Domestic Cats. Comparative pathobiology, 4(55): 2029-2036.
- Bentancor, A., Rumi, M. V., Carbonari, C., Gerhardt, E., Larzabal, M., Vilte, D. A. and Mercado, E. C.(2012) Profile of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from dogs and cats and genetic relationships with isolates from cattle, meat and humans. Veterinary microbiology, 156(3-4): 336-342.
- Alizadeh, M.(2014) Also investigated the relationship between infection with *Escherichia coli O157:H7* in non-diarrheic domestic cats. Iranian Veterinary Journal, 16(1):94-105. (In Persian)
- Smith, K. A., Kruth, S., Hammermueller, J., Gyles, C. and Wilson, J. B. A.(1998) case-control study of verocytotoxigenic *Escherichia coli* infection in cats with diarrhea. Canadian journal of veterinary research, 62(2): 87-90.
- Rumi, M. V., Irino, K., Deza, N., Huguet, M. J. and Bentancor, A. B(2012) First isolation in Argentina of a highly virulent *Shiga toxin*-producing *Escherichia coli O145*: NM from a domestic cat. The Journal of Infection in Developing Countries, 6(04): 358-363.

Isolation of Escherichia Coli O157:H7 and identification their virulence factors in pets and their owners in Isfahan city

Soltani F[1] , Sharifzadeh A[2]*

1- Graduate of Veterinary medicine, Faculty of Veterinary Medicine , , Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, I.R. Iran.

2- Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, I.R. Iran.

*Corresponding Author: sharifzadeh@iaushk.ac.ir

Abstract

Escherichia coli O157:H7 is one of the intestinal pathogens and Zoonotic diseases between humans and pets. The carrier pets are the source of infection for humans. This study was conducted with the aim of determining the frequency of *Escherichia coli* O157:H7 contamination in pets and their owners in Isfahan city. For this purpose, in the summer of 1400, fecal samples were taken from 115 samples. The relationship between Risk factors such as age, gender, race, diarrhea and the frequency of contamination were investigated. Isolated *Escherichia coli* confirmed by culture and biochemical test. O157:H7 serotypes on culture media and fecal swabs was detected by PCR. The *Shiga toxin 1* and *2* genes were analyzed by multiplex polymerase chain reaction The results in the present study indicated that E.Coli O157:H7 were isolated from 44% of dogs,8% of cats,8% dog owners and 8% cat owners . No significant relationship was found between age, gender, race. However, a significant relationship was found between the incidence of diarrhea with infection. According to the results of molecular analysis of pet samples, were identified *Stx1* gene in 44% samples and and *Stx2* gene in 28% samples. Also were identified *Stx1* gene In 20% samples and *Stx2* gene in 16% samples in human samples. These results have demonstrated the role of dogs cats in spread and transmit of pathogenic *Escherichia coli* O157H7 to humans. Therefore, Dogs and cats can serve as reservoirs for these pathogenic dangerous bacteria.

Key words: *Escherichia coli O157H7*, dog, cat, human