JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره هشتم، شماره اول، ۱۳۹۱، پیاپی ۲۴: ۵۶-۴۹

شناسایی *اشریشیا کلی* O157:H7 از گوشت گاوهای کشتار شده در کشتارگاه شهرستان رفسنجان با استفاده از تکنیک PCR

رضا شاهرخ آبادی[1*]، ابراهیم رحیمی[2]، حسن ممتاز[3]، راحله پورصاحبی[4]

۱- باشگاه پژوهشگران جوان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- گروه کنترل و بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳- گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

۴- دانش آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشگاه باهنر کرمان، کرمان، ایران

تاریخ دریافت: ۳۰ اردیبهشت ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: ۲ شهریور ۱۳۹۱

چکیده

اشریشیا کلی O157:H7 به عنوان یک عامل اسهال، کولیت خونریزی دهنده و سندرم اورمی همولیتیک در سراسر جهان شناخته شده است. گوشت آلوده به مدفوع حیوانی احتمالاً منبع اصلی عفونت اشریشیا کلی O157:H7 در نمونه‌های گوشت می‌باشد. این مطالعه با هدف بررسی میزان شیوع اشریشیا کلی O157:H7 در نمونه‌های گوشت گاو کشتارشده در کشتارگاه شهرستان رفسنجان صورت گرفت. این مطالعه به صورت توصیفی- تحلیلی، از اردیبهشت تا بهمن ۱۳۹۰ انجام پذیرفت. در این مطالعه تعداد ۱۴۸ لاشه مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها از برش سطحی عضله گردن گرفته شد و پس از نمونه‌برداری سریعا کشت و آنالیز میکروبی بر روی نمونه‌ها صورت گرفته و کلنی‌های مشکوک به اشریشیا کلی O157:H7 توسط تکنیک Polymerase Chain reaction مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان آلودگی نمونه‌ها به اشریشیا کلی و اشریشیا کلی O157:H7 بر اساس آزمون کشت به ترتیب ۳۶ (۲۴/۳۲٪) و ۱۰ (۶/۷۵٪) مثبت بودند. از این تعداد ۶ نمونه (۴/۰۵٪) در آزمون PCR به عنوان اشریشیا کلی O157:H7 تشخیص داده شدند. شیوع فصلی اشریشیا کلی O157:H7 نشان داد که بیشترین شیوع آلودگی نمونه‌های اخذ شده در فصل تابستان می‌باشد ($P<0.05$). نتایج این مطالعه نشان داد که گوشت گاو می‌تواند به عنوان یک مخزن بالقوه برای اشریشیا کلی O157:H7 مطرح باشد و گوشت گاو ممکن است به عنوان یک حامل در انتقال این پاتوژن به انسان عمل کند.

کلمات کلیدی: *PCR، اشریشیا کلی O157:H7، گوشت گاو*

*نویسنده مسئول: رضا شاهرخ آبادی

آدرس: باشگاه پژوهشگران جوان رفسنجان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران. تلفن: ۰۹۱۳۳۹۱۶۹۳۱

پست الکترونیک: *Reza.vet64@gmail.com*

مقدمه

اشریشیا کلی O157:H7 به‌عنوان یکی از عوامل اصلی ایجادکننده بیماری‌های منتقل شونده به وسیله مواد غذایی از جمله گوشت، فرآورده‌های گوشتی و لبنی، سبزیجات و آب شناخته شده است (۸،۱۳، ۱۵و۱۸). در بین حیوانات گاو به عنوان مهمترین مخزن این باکتری می‌باشد (۲۳). اگرچه گوسفند، بز، خوک، سگ، گربه، بوقلمون، جوجه و غاز نیز به عنوان مخازن این باکتری گزارش شده‌اند (۱۴و۱۵). *اشریشیا کلی* O157:H7 به عنوان مهمترین سروتیپ گروه *اشریشیا کلی* انتروهموراژیک به شمار می‌رود و نقش به سزایی در وقوع بیماری‌هایی چون کولیت خونریزی دهنده، پورپورا ترومبوسیتوپنی ایدیوپاتی و سندرم اورمی همولیتیک ایفا می‌کند (۱۶). سندرم اورمی همولتیک در ۲-۷ درصد بیماران اتفاق افتاده و در ۳-۵ درصد موارد منجر به مرگ می‌گردد (۲۲). در این بیماری اغلب قربانیان معمولا کودکان یا افراد سالخورده می‌باشند. از علائم ناشی از این بیماری می‌توان به درد شدید شکمی، اسهال آبکی، اسهال خونی، متعاقب آن آنمی همولیتیک، ترومبوسایتوپنی و نارسایی حاد کلیوی اشاره نمود. بیماری‌های یاد شده می‌تواند با بروز ناگهانی، تمامی گروه‌های سنی را درگیر کند. این عامل بیماری‌زا در کشورهای زیادی از جمله کشورهای توسعه یافته و درحال توسعه یافت شده است (۱). اگر چه اثبات شده است که باکتری فوق در تمامی نواحی جغرافیایی یافت می‌شود و از مواد غذایی مختلف جدا شده است ولی میزان جداسازی آن در مناطق مختلف بسیار متفاوت گزارش شده است که این امر بسته به نوع ماده غذایی بررسی شده، فصل نمونه گیری و روش‌های جداسازی باکتری متفاوت بوده است (۱۲و۱۷). هموژن بودن این سویه از نظر ژنتیکی سبب یافتن روش‌های زیادی برای جداسازی این سویه‌ها نظیر عدم قدرت تخمیر سوربیتول و عدم تولید بتا دی گلوکورونیداز است که بیشتر انواع *اشریشیا کلی* قادر به انجام دادن آن می‌باشند. از این جهت با ساختن محیط‌های انتخابی نظیر سوربیتول مک کانکی آگار، سفیکسیم پتاسیم تلوریت سوربیتول مک کانکی آگار و سفیکسیم پتاسیم تلوریت رامنوز سوربیتول مک کانکی آگار می‌توان این سویه‌ها را غربالگری کرد. از دیگر روش دقیق ردیابی این پاتوژن روش ملکولی (PCR) می‌باشد، که در سال‌های اخیر موردتوجه قرار گرفته است (۲۰). با توجه به اهمیت *اشرشیا کلی* O157:H7 و نقش آن‌ها در بهداشت و سلامتی جامعه مطالعات متعددی در ایران صورت گرفته که از آن جمله می‌توان به مطالعات Rahim و Shekarfroush اشاره نمود(۲۰و۲۱). بر این اساس این مطالعه جهت شناسایی اشریشیا کلی O157:H7 در کشتارگاه دام شهرستان رفسنجان انجام پذیرفت.

مواد و روش کار

این مطالعه توصیفی- تحلیلی از اردیبهشت تا بهمن ۱۳۹۰ انجام پذیرفت. از آن جایی که وضعیت آلودگی نمونه‌های گوشت مانند یک متغیر دو جمله ای رفتار می کند به این معنی که نمونه‌های گوشت از نظر آلودگی در یکی از دو گروه سالم و آلوده قرار می‌گیرند و برای متغیرهای دو جمله ای اندازه نمونه تصادفی از رابطه $n= Z^2\times P\times(1-P)/d^2$ بدست می‌آید. بر این اساس در این مطالعه تعداد ۱۴۸ نمونه گوشت گاو به روش تصادفی از گاوهای کشتار شده در کشتارگاه رفسنجان جمع‌آوری گردید. نمونه‌گیری در انتهای خط کشتار و در شرایط استریل از برش سطحی

عضله گردن در اندازه ۰/۳×۱۰×۱۰ سانتیمتر انجام گرفت و پس از هر بار نمونه‌گیری نمونه‌ها در کنار یخ و با رعایت اصول استاندارد به آزمایشگاه تخصصی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد منتقل و حد اکثر ظرف ۱۲ ساعت پس از نمونه‌گیری از نظر آلودگی *اشریشیا کلی* O157:H7 مورد ارزیابی قرار گرفته و مراحل جداسازی انجام می‌پذیرفت. تعداد نمونه‌های اخذ شده در فصول بهار، تابستان، پاییز، زمستان به ترتیب ۳۱،۴۲،۴۵،۳۰ بود که بر اساس مطالعات مشابه در نظر گرفته شد (۲۰و۲۱). جهت جستجوی *اشریشیا کلی* و *اشریشیا کلی* O157:H7، ۱۰ گرم از هر نمونه به صورت هموژن شده به ۹۰ میلی لیتر آبگوشت تریپتون سوی (TSB) ساخت شرکت مرک آلمان حاوی مکمل نوبیوسین (۲۰mg/l) اضافه شد و برای۲۴-۱۸ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. در ادامه ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه غنی شده مورد نظر در محیط ائوزین متیلن بلو و مک کانکی سوربیتول دار(SMA) ساخت شرکت مرک آلمان حاوی مکمل سفکسیم و تلئوریت پتاسیم کشت و بمدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. جهت تائید تشخیص پرگنه‌های مشکوک *اشریشیا کلی* از کشت برروی محیط تریپل شوگر آیرون (TSI) و آزمون آیم ویک (IMViC) استفاده شد (۲۲). همچنین پرگنه‌های سوربیتول منفی جهت تائید تشخیص *اشریشیا کلی* O157:H7 به وسیله PCR با استفاده از دو پرایمر مخصوص تشخیص ژن‌های O157 و H7 (fiC) مورد بررسی قرار گرفت (۹ و۱۹) (جدول شماره۱). جهت استخراج DNA از کیت استخراج DNA ساخت شرکت سیناژن ایران استفاده شد. کمیّت و کیفیت DNA استخراج شده به دو روش اسپکترومتری با طول موج ۲۶۰ نانومتر و الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. DNA استخراج شده تا زمان انجام PCR در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای انجام آزمون PCR غلظت بهینه مواد به کار رفته در واکنش PCR در حجم ۵۰ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر بافر PCR با غلظت ۱۰X، ۲ میلی مولار $MgCl_2$، ۲۰۰ میکرون مولار dNTP، ۲ میکرومولار از هر پرایمر، ۱ واحد آنزیم DNA پلیمراز Taq، ۱ میکروگرم DNA از هر نمونه بود. سپس از افزودن اجزای PCR حجم‌های فوق لوله در داخل دستگاه ترموسایکلر (Mastercycler Gradient, Ependorf, Germany) قرار داده شدند و برنامه حرارتی به صورت زیر تنظیم شد: یک سیکل ۹۴ درجه سانتیگراد برای۶ دقیقه، ۳۴ سیکل۹۴ درجه سانتیگراد برای ۱ دقیقه، ۵۸ درجه سانتیگراد برای یک دقیقه، ۷۲ درجه سانتیگراد برای ۱ دقیقه و یک مرحله نهایی ۷۲ درجه سانتیگرادی برای ۱۰ دقیقه، محصولات PCR ژل اگارز ۱/۵ درصد حاوی اتیدیوم برمائید الکتروفروز گردید و با نور ماورای بنفش مشاهده و مورد بررسی قرار گرفت (۲۰). در این مطالعه از سوش استاندارد آزمایشگاهی *اشریشیا کلی* O157:H7 به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر به عنوان کنترل منفی استفاده شد. نتایج حاصله در دو سطح آمار توصیفی شامل فراوانی و درصد و آمار استنباطی با استفاده از آزمون کای (χ^2) و نرم افزار SPSS/17.1 تجزیه و تحلیل گردیدند. سطح معنی دار برای تحلیل آماری $P<0/05$ در نظر گرفته شد.

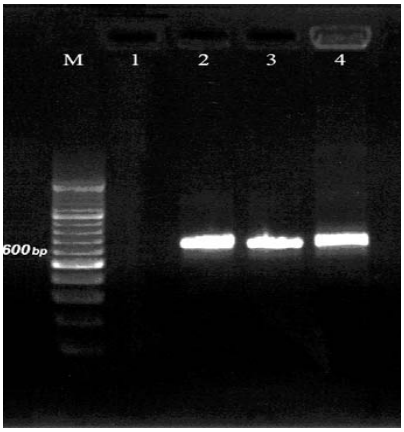
جدول شماره ۱: توالی پرایمرهای ژن‌های O157 و H7 جهت تشخیص *اشریشیا کلی* O157:H7

Organism	سکانس پرایمر	طول محصول	رفرانس
O157	F: 5´-CGGACATCCATGTGATATGG-3´	259bp	Paton *et al* (1997)
	R:5´-TTGCCTATGTACAGCTAATCC -3´		
(FliC) H7	F : 5´- GCGCTGTCGAGTTCTATCGAGC -3´	625bp	Gannon *et al*. (1997)
	R: 5´- CAACGGTGACTTTATCGCCATTCC -3´		

نتایج

براساس آزمون‌های باکتری‌شناسی ۳۶ نمونه از مجموع نمونه‌های مورد مطالعه (۲۴/۳۲ درصد) آلوده به *اشریشیا کلی* بودند و از این تعداد ۱۰ نمونه (۶/۷۵ درصد) براساس ویژگی عدم تخمیر سوربیتول به عنوان سروتیپ مشکوک به *اشریشیا کلی* O157:H7 شناسایی شدند. در ادامه سوش‌های سوربیتول منفی جهت تائید تشخیص *اشریشیا کلی* O157:H7 با استفاده از روش PCR و پرایمرهای اختصاصی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این بخش از مطالعه نشان داد از ۱۰ سوش بررسی شده ۶ مورد *اشریشیا کلی* O157:H7 بوده است و در ۴ مورد *اشریشیا کلی* O157:H7 تائید نشد (تصویر شماره۱و۲). میزان وقوع آلودگی لاشه‌های گاو به *اشریشیا کلی* O157:H7 در طول فصل بهار و تابستان به ترتیب ۶/۶۶ درصد و ۸/۸۸ درصد بود. این پاتوژن از نمونه‌های اخذ شده در طول فصول پاییز و زمستان جدا نشد. بر پایه این نتایج اختلاف آماری معنی داری بین وقوع آلودگی نمونه‌ها به *اشریشیا کلی* و *اشریشیا کلی* O157:H7 در فصول مختلف سال مشاهده شد ($P<0.05$) (جدول شماره۲).

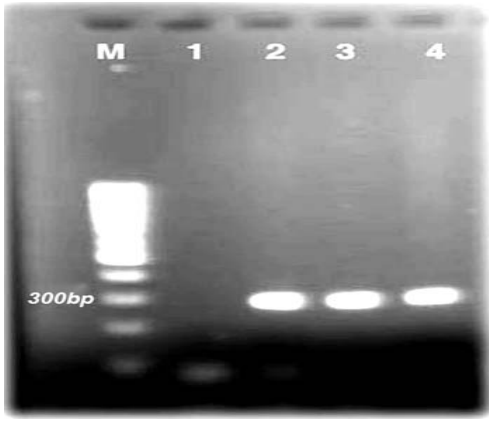
بر پایه نتایج به‌دست آمده از آزمون کشت اختلاف آماری معنی‌داری بین وقوع آلودگی نمونه‌ها به *اشریشیا کلی* O157:H7 در فصول مختلف سال مشاهده نشد.



تصویر شماره ۱: نتایج PCR ژن O157 نمونه‌ها در ژل آگارز ۱/۵ درصد

ستون M: مارکر bp ۱۰۰، ستون ۱: کنترل منفی

ستون ۲: کنترل مثبت، ستون ۳و ۴: نمونه‌های مثبت



تصویر شماره ۲: نتایج PCR ژن H7 نمونه‌ها در ژل آگارز ۱/۵ درصد

ستون M: مارکر bp ۱۰۰، ستون ۱: کنترل منفی

ستون ۲: کنترل مثبت، ستون ۳و ۴: نمونه‌های مثبت

جدول شماره۲- میزان آلودگی نمونه‌های گوشت گاو کشتار شده در شهرستان رفسنجان در فصول مختلف سال

فصل	تعداد نمونه	نمونه‌های آلوده به *اشریشیا کلی*		آلوده به *اشریشیا کلی* O157 برپایه عدم تخمیر سوربیتول		آلوده به *اشریشیا کلی* O157 براساس آزمون PCR	
		تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
بهار	۳۰	۱۰	۳۳/۳۴	۳	۱۰	۲	۶/۶۶
تابستان	۴۵	۱۵	۳۳/۴	۵	۱۱/۱۱	۴	۸/۸۸
پاییز	۴۲	۷	۱۶/۷	۰	۰	۰	۰
زمستان	۳۱	۴	۱۳	۱	۳/۲۲	۰	۰
مجموع	۱۴۸	۳۶	۲۴/۳۲	۱۰	۲۴/۳۲	۶	۴/۰۵

P<0/05 در مقایسه بین فصول مختلف بر اساس آزمون PCR

بحث و نتیجه‌گیری

اشریشیا کلی به عنوان بخشی از فلور میکروبی روده انسان و بسیاری از حیوانات نقش مهمی در میکروب شناسی غذا و آب به عنوان شاخص آلودگی مدفوعی بر عهده دارد(۸). ارتباط بین *اشریشیا کلی* و بیماری‌های حیوانی در سال ۱۸۹۰ مشخص گردید. درحالی که ارتباط آن با بیماری‌های انسانی در سال ۱۹۴۰ به دنبال وقوع بیماری در مهد کودک‌ها مشخص شد (۱۵). باکتری *اشریشیا کلی* O157:H7 از جمله باکتری‌هایی است که در سال‌های اخیر باعث همه‌گیری‌هایی در برخی از نقاط جهان شده است و توجه محققان و دست‌اندرکاران بهداشتی را به خود معطوف نموده است. با توجه به اینکه عامل اصلی انتشار مخزن اصلی *اشریشیا کلی* O157:H7 گاو و محصولات و گزارش‌های موجود مربوط به آلودگی این محصولات بوده است (۱۲و۱۷). شیوع این پاتوژن در گوشت و محصولات حاصل از گوشت گاو بین صفر تا ۲۷/۸ درصد گزارش شده است (۲،۳و۱۷). در این مطالعه میزان آلودگی گوشت گاوهای کشتار شده در شهرستان رفسنجان به *اشریشیا کلی* O157:H7 ۴/۰۵ درصد شناسایی گردید که از میزان آلودگی گزارش شده توسط Rahimi و همکاران که میزان شیوع آلودگی گوشت گاوهای کشتار شده به *اشریشیا کلی* O157:H7 در اصفهان با استفاده از تکنیک PCR ۶/۴ درصد گزارش نموده اند، کمتر است (۲۰). در مطالعه‌ای دیگر Hajian و همکاران میزان آلودگی *اشریشیا کلی* O157:H7 در گوشت گاو ۲/۲ درصد گزارش نمودند که کمتر از این مطالعه بود (۱۰). میزان‌آلودگی *اشریشیا کلی* O157:H7 در گوشت گاو کشور هلند (۱۰/۴ درصد)، انگلیس (۱۳/۴ درصد) آمریکا (۲۸ درصد) بوده که از میزان اندازه گیری شده در این مطالعه بیشتر می‌باشد (۱، ۶ و ۱۲). همچنین میزان *اشریشیا کلی* O157:H7 درگوشت گاو جداسازی شده در این مطالعه نسبت به ایرلند(صفر)، ایتالیا (۳/۶ درصد)، سوئیس (۲/۳ درصد) و آرژانتین (۳/۸ درصد) بیشتر می‌باشد (۴، ۵، ۷ و ۱۷). تفاوت در نتایج حاصله از اندازه‌گیری میزان *اشریشیا کلی* O157:H7 می‌تواند ناشی از روش نمونه‌برداری (نمونه گوشت لاشه، مدفوع، فراورده‌های گوشتی گوشت بسته‌بندی شده در مراکز عرضه)، اندازه و تعداد نمونه انتخابی و روش جداسازی باشد (۱). در این مطالعه بیشترین میزان آلودگی جداسازی شده در فصل تابستان بود که با مطالعات Hancock و Elder همخوانی دارد (۶ و۱۱). مطالعه حاضر اولین گزارش از وضعیت آلودگی لاشه گاوهای شهرستان رفسنجان به *اشریشیا کلی* O157:H7 می‌باشد و حاکی از آن است که مصرف گوشت

نیم‌پز شده گاو می تواند در انتقال این پاتوژن به انسان نقش داشته باشد. لذا ضرورت کنترل، نظارت دقیق و رعایت اصول بهداشت در طول پروسه کشتار، حمل و نقل و نگهداری می‌تواند در کاهش آلودگی متقاطع مؤثر باشد. همچنین با توجه به مخاطرات ناشی از این باکتری در موادغذایی ضرورت بررسی اتیولوژیکی این باکتری در مواد غذایی و راه‌های انتقال آن به انسان لازم به نظر می‌رسد و مطالعات کامل‌تر در سایر مناطق کشور پیشنهاد می‌گردد. همچنین پخت کامل گوشت قبل از مصرف توصیه می‌گردد.

تقدیر و تشکر

از شبکه دامپزشکی شهرستان رفسنجان و دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان که ما را در این مطالعه یاری نموده اند کمال تشکر را داریم. همچنین از باشگاه پژوهشگران جوان و دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که در تامین بودجه، امکانات آزمایشگاهی و مطالعاتی ما را حمایت نموده اند سپاسگزاریم.

منابع

1. Byrne, C.M., Erol, I., Call, J.E., Kaspar, C.W., Buege, D.R., Hiemke, C.J., Fedorka-Cray, P.J., Benson, A.K., Wallace, F.M., Luchansky, J.B. (2003) . Characterization of *E. coli* O157:H7 from downer and healthy dairy cattle in the upper Midwest region of the United States. *Applied Enviromental Microbiology* **69**: 4683-9.
2. Caprioli, A., Morabito, S., Brugère, H., Oswald, E. (2005). Enterohemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Veterinary Research* **36**: 289-311.
3. Chapman, P.A., Siddons, C.A., Cerdan-Malo, A.T., Harkin, M.A. (1997). A 1-year study of *Escherichia coli* O157 in cattle, sheep, pigs and poultry. *Epidemiology and Infection* **119**: 245-50
4. Chinen, I., Tanaro, J.D., Miliwebsky, E., Lound, L.H., Chillemi, G., Ledri, S., Baschkier, A., Scarpin, M., Manfredi, E., Rivas, M. (2001). Isolation and characterisation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail meats in Argentina. *Journal of Food Protection* **64**: 1346-51.
5. Conedera, G., Marangon, S., Chapman, P.A., Zuin, A., Caprioli, A. (1997). Atypical strains of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in beef cattle at slaughter in Veneto region, Italy. *Journal of Veterinary Medicine* **44**: 301-6.
6. Elder, R.O., Keen, J.E., Siragusa, G.R., Barkocy-Gallagher, G.A., Koohmaraie, M., Laegreid, W.W. (2000). Correlation of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157 prevalence in faeces, hides and carcasses of beef cattle during processing. *The National Academy of Science* **97**: 2999-3003.
7. Fantelli, K., Stephan, R. (2001). Prevalence and characteristics of shigatoxin-producing *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* strains isolated from minced meat in Switzerland. *International Journal of Food Microbiology* **70**: 63-9.
8. Galane, P.M., Le Roux, M. (2001). Molecular epidemiology of *Escherichia coli* isolated from young South African children with diarrhoeal diseases. *Journal of Health, Population and Nutrition* **19**: 31-7.
9. Gannon, V.P., D'Souza, S., Graham, T., King, R. K., Rahn, K., Read, S. (1997). Use of the flagellar H7 gene as a target in multiplex PCR assays and improved specificity in identification of enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains. *Journal of Clinical Microbiology* **35**: 656-62.
10. Hajian, S., Rahimi, E., Mommtaz, H. (2011). A 3-year study of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle, camel, sheep, goat, chicken and beef minced meat.

International Conference on Food Engineering and Biotechnology, IPCBEE IACSIT Press. Singapoore, 162-5.
11. Hancock, D.D., Besser, T.E., Rice, D.H., Herriott, D.E., Tarr, P.I. (1997). A longitudinal study of *Escherichia coli* O157 in fourteen cattle herds. *Epidemiology and Infection* **118**: 193-5.
12. Heuvelink, A.E., Zwartkruis-Nahuis, J.T.M., Beumer, R.R., De Boer, E. (1999). Occurrence and survival of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in meats obtained from retail outlets in The Netherlands. *Journal of Food Protection* **62**: 1115-22.
13. Hiko, A., Asrat, D., Zewde, G. (2008). Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in retail raw meat products in Ethiopia. *Journal of Infection in Developing Countries* **2**: 389-93.
14. Jo, M.Y., Kim, J.H., Lim, J.H., Kang, M.Y., Koh, H.B., Park, Y.H., Yoon, D.Y., Chae, J.S., Eo, S.K., Lee, J.H. (2004). Prevalence and characteristics of *Escherichia coli* O157 from major food animals in Korea. *International Journal of Food Microbiology* **95**: 41-9.
15. Kenneth, J., Ryan, M.D., Cray, M.D. (2004). *Sherrie's medical microbiology*. 4th Edition, London: Mc Grow Hill, 354-7.
16. Koyange, L., Ollivier, G., Muyembe, J.J., Kebela, B., Gouali, M., Germani, Y. (2004). Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157. Kinshasa. *Emerging Infectious Disease Journal* **10**: 968-9.
17. Madden, R.H., Espie, W.E., Moran, L., McBride, J., Scates, P. (2001). Occurrence of *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* and *Campylobacter spp.* on beef carcasses in Northern Ireland. *Meat Science* **58**: 343-6.
18. Murphy, B.P., Murphy, M., Buckley, J.F., Gilroy, D., Rowe, M.T., Mc Cleery, D., Fanning, S. (2005). In-line milk filter analysis: *Escherichia coli* O157 surveillance of milk production holdings. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* **208**: 407-13.
19. Paton, A.W., Paton, J.C. (1998). Detection and characterization of shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for stx1, stx2, eaeA, enterohemorrhagic *E.coli* hlyA, rfbO111, and rfbO157. *Journal of Clinical Microbiology* **36**: 598-602.
20. Rahimi, E., Momtaz, H., Hemmatzadeh, F. (2008). The prevalence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter* spp. on bovine carcasses in Isfahan, Iran. *Iranian Veterinary Journal of Research* **9**: 365-70.
21. Shekarfroush, S., Tahamtan, Y., Pourbakhsh, 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 Biological Sciences* **11**: 1085-92.
22. Stampi, S., Caprioli, A., De Luca, G., Quaglio, P., Sacchetti, R., Zanetti, F. (2004). Detection of *Escherichia coli* O157 in bovine meat products in northern Italy. *International Journal of Food Microbiology* **90**: 257-62.
23. Varela-Hernández, J.J., Cabrera-Diaz, E., Cardona-López, M.A., Ibarra-Velázquez, L.M., Rangel-Villalobos, H., Castillo, A., Torres-Vitela, M.R., Ramírez-Alvarez, A. (2007). Isolation and characterization of shigatoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 and non- O157 from beef carcasses at a slaughter plant in Mexico. *International Journal of Food Microbiology* **113**: 237-41.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 8, Issue 1, 2012

Identification of *Escherichia coli* O157: H7 on Bovine Carcasses in Rafsanjan by Using Culture and PCR Method

Shahrokhabadi, R.[1]*, Rahimi, E.[2], Momtaz, H.[3], Poursahebi, R.[4]

1- Young Researchers Club, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
2- Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
3- Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
4- Graduated of Veterinary Medicine, University of Bahonar, Kerman, Iran

Received Date: 19 May 2012 *Accepted Date: 23 Aug 2012*

Abstract: *Escherichia coli O157:H7 is now recognized as an important cause of diarrhea, hemorrhagia colitis and hemolytic-uremic syndrome worldwide. Meat contaminated with animal feces is probably the major source of the E. coli O157:H7. In this study, we investigated the prevalence of E. coli O157:H7 in meat samples of bovine in Rafsanjan, Iran. This was a descriptive - analytical and descriptive study, which was conducted from April 2011 to February 2012. A total of 148 bovine carcasses were sampled by surface section of neck meat taken immediately after slaughter analyzed using microbiological examinations. Suspected colonies to E. coli O157:H7 were confirmed by a specific polymerase chain reaction method (PCR). The results showed that the contamination rate of samples to E. coli and E. coli O157:H7 were 36(24/32%) and 10(6/75%), respectively, six samples (4/05%) were identified as E. coli O157:H7, using polymerase chain reaction. Seasonal distribution showed that the highest prevalence of E. coli and E. coli O157:H7 occurred in summer samples (P<0.05).These results indicate that bovine can be a reservoir for E. coli O157:H7 and bovine meat may serve as a vehicle for the pathogen transmission to human.*

Keywords: *Escherichia coli O157:H7, Bovine meat, PCR*

**Corresponding author: Shahrokhabadi, R.*
Address: Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University. Tel: 09133916931
Email: Reza.vet64@gmail.com