Archive of SID

مطالعه فراوانی باکتری *اشرشیاکولی* وروتوکسیکوژنیک در مدفوع گاوها و گوساله‌های کشتاری در کشتارگاه تبریز

منصور خاکپور[1*]، فرهاد ناظری[2]، جلیل خندقی[3]، جلال شایق[4]

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی، تبریز، ایران
۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، دانش‌آموخته دکترای عمومی، تبریز، ایران
۳. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سراب، گروه صنایع غذایی، سراب، ایران
٤. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شبستر، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی، شبستر، ایران
* *نویسنده مسئول مکاتبات:* *khakpour@iaut.ac.ir*

(دریافت مقاله: ۸۹/۱۱/۲۵، پذیرش نهایی: ۹۰/۳/۱۸)

چکیده

اشرشیا کولای به عنوان فلور طبیعی در روده بزرگ و پاتوژن عمده مشترک میان انسان و دام قابل انتقال از طریق غذا بوده که عامل مهم عفونت‌های اسهالی در گاو به‌ویژه گوساله می‌باشد. در این پژوهش هدف شناسائی و جداسازی اشرشیا کولای وروتوکسیکوژنیک می‌باشد که با مراجعه به کشتارگاه تبریز به‌طور تصادفی ٤۳ نمونه مدفوعی از گوساله‌ها و ۱۵۱ نمونه مدفوعی از گاوها اخذ و به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز منتقل گردید. پس از غنی‌سازی نمونه‌ها و کشت در محیط‌های کشت نتایج ذیل به‌دست آمد: از ۱۹٤ نمونه اخذ شده ۱۱۳ مورد اشرشیا کولای جدا شد که ۸۵ نمونه سوربیتول مثبت و ۲۸ نمونه سوربیتول منفی بودند از ۸۵ نمونه سوربیتول مثبت، ۱۹ نمونه گوساله و ٦٦ نمونه گاو و از ۲۸ نمونه سوربیتول منفی، ۱۳ نمونه گوساله و ۱۵ نمونه گاو بودند. همچنین تست سرولوژی برای مشخص کردن سروتیپ‌های اشرشیا کولای غیر O157 روی نمونه‌های سوربیتول مثبت انجام گرفت که ۹ نمونه گوساله و ۳۳ نمونه گاوی واکنش مثبت نشان دادند. سپس روی ۲۸ نمونه سوربیتول منفی و ۸۵ نمونه سوربیتول مثبت تست PCR با استفاده از سکانس ژن‌های STx1 و STx2 انجام گرفت که ۱۹ نمونه از ۲۸ نمونه سوربیتول منفی و ۷ نمونه از ۸۵ نمونه سوربیتول مثبت اشرشیا کولای وروتوکسیکوژنیک بودند. نتایج نشان‌دهنده وجود مقادیر نسبتاً بالای اشرشیا کولای وروتوکسیکوژنیک در مدفوع گاوها و گوساله‌های کشتاری در کشتارگاه تبریز می‌باشد.

مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳۹۰، دوره ۵، شماره ٤، پیاپی ۲۰، صفحات: ۱۳۸٦-۱۳۷۹.
کلید واژه‌ها: اشرشیا کولای وروتوکسکوژنیک، گاو، گوساله، کشتارگاه تبریز، *PCR*

مقدمه

جنس اشرشیا، یکی از اعضای خانواده انتروباکتریاسه است که به عنوان جزئی از فلور طبیعی در روده بزرگ انسان و حیوانات وجود دارد. اشرشیاکولای یک باسیل گرم منفی معمولاً با تاژک‌های اطرافی متحرک و بسیاری از سوش‌های آن حاوی پیلی هستند و برخی از آنها لایه لعابی شبه کپسولی دارند هر گرم از مدفوع انسان حاوی حدود بیش از 10^8 باکتری

www.SID.ir

Archive of SID

اشرشیا کولای می‌باشد *اشرشیا کولای* مانند بقیه اعضای خانواده انتروباکتریاسه، بی‌هوازی اختیاری است. و به‌خوبی روی محیط‌های خیلی ساده رشد می‌کند فعالیت همولیتیک در محیط آگار خون‌دار از خصوصیات برخی از سویه‌های *اشرشیا کولای* است و در سطح محیط کشت آگار خون‌دار رشد کرده و کلونی‌های کروی و محدود به اندازه ۱ تا ۲ میلی‌متر با سطح صاف، قوام آبدار و به رنگ خاکستری را تولید می‌کند. دستگاه گوارش پستانداران در مدت کوتاهی پس از تولد، از محیط *اشرشیا کولای* را اخذ می‌کند. این اجرام به عنوان اعضای مهم فلور طبیعی روده در طول عمر حضور دارند. بسیاری از سویه-های *اشرشیا کولای* حدت پایینی دارند اما می‌توانند به‌صورت فرصت طلب در خارج از دستگاه گوارش موجب بیماری‌هایی مانند بیماری‌های دستگاه ادراری و غدد پستانی گردند و به عنوان یک باکتری فرصت طلب در عفونت‌های زخم، پنومونی، مننژیت و سپتی سمی شرکت می‌کنند. از نظر اپیدمولوژی و بیماری‌زائی *اشرشیا کولای* عامل بیماری‌های مهمی در انسان و دام است از جمله: بیماری‌های روده‌ای (کلی باسیلوز روده‌ای، اسهال نوزادی)، سپتی سمی نوزادان (کولی سپتی‌سمی)، بیماری‌ها دستگاه تناسلی- ادراری مثل مثانه و رحم، ورم پستان گاو، کلی باسیلوز طیور و توکسمی کلی باسیلی (۱ و ۳).

فاکتورهای متعددی در سویه‌های بیماری‌زای *اشرشیا کولای* به آنها اجازه می‌دهد که در سطوح مخاطی استقرار یافته و متعاقباً ایجاد بیماری نمایند. عوامل مستعد کننده‌ای که اجازهٔ استقرار باکتری و حساس شدن حیوانات جهت بروز بیماری‌های بالینی است شامل سن، وضعیت ایمنی، ماهیت جیرهٔ غذایی و نیز مواجهه با بارمیکروبی بالا از سویه‌های بیماری‌زا می‌باشد. از عوامل حدت سویه‌های پاتوژن *اشرشیا کولای*، کپسول، فیمبریه، آندوتوکسین، ساختارهای مسئول کلونیزه شدن باکتری، آنتروتوکسین، وروتوکسین و دیگر مواد ترشحی می‌باشد. در سال‌های اخیر، *اشرشیا کولای* آنتروهموراژیک سویهٔ $O_{157}:H_7$ به عنوان پاتوژن عمدهٔ مشترک میان انسان و دام که قابل انتقال از طریق غذا می‌باشد مسئول سندرم اورمیک همولیتیک- کولیت خونریزی دهنده[1] شناخته شده است و EHEC عامل کولیت هموراژیک در اطفال کمتر از پنج سال می‌باشد. کلی باسیلوز روده‌ای در گوساله‌ها و بره‌های تازه متولد شده که توسط سروتیپ‌های خاصی بروز می‌کنند در هفته اول زندگی مسأله بسیار مهمی است، البته اسهال می‌تواند در گوساله‌های ۲ تا ۳ هفته نیز مهم باشد. بیماری در تمامی نژادهای گوشتی و شیری اتفاق می‌افتد. امروزه تست‌های سرولوژی و روش‌های مولکولی برای تشخیص آزمایشگاهی باکتری‌ها وجود دارد روش‌های جدید با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) که بر پایه سکانس ژن می‌باشند به خوبی و با موفقیت برای تشخیص *اشرشیا کولای* بکار می‌رود. به همین منظور در این تحقیق جداسازی و شناسائی *اشرشیا کولای‌های* وروتوکسیکوژنیک از مدفوع گاو و گوساله‌ها به روش کشت و PCR انجام شده است (۱، ۲ و ۳).

مواد و روش‌ها

مراحل نمونه برداری و کشت:

طی مراجعه به کشتارگاه تبریز در زمستان ۱۳۸٦ به‌صورت تصادفی تعداد ٤۳ نمونه مدفوعی از گوساله‌ها و تعداد ۱۵۱ نمونه مدفوعی از گاوها مجموعاً ۱۹٤ نمونه اخذ و پس از قرار دادن در ظروف استریل در اسرع وقت به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده دامپزشکی ارجاع شد.

در آزمایشگاه در شرایط کاملاً استریل در کنار شعله از هر نمونه مدفوعی ۲۵ گرم به‌دقت وزن شده و به داخل ۲۲۵ میلی‌لیتر پپتون براث استریل اضافه گردید سپس ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد تا غنی‌سازی انجام شود.

۵ لوله آزمایش برای هر نمونه تهیه شد که هر کدام حاوی ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل شده بودند از محیط کشت پپتون براث حاوی مدفوع به‌مقدار ۱ میلی‌لیتر برداشت کرده و به لوله آزمایش اول منتقل شده و رقت 10^{-1} تهیه گردید بعد از

[1] - Hemorrhagic colitis – hemolytic uremic syndrome

www.SID.ir

Archive of SID

بهم زدن ، مجددا به مقدار ۱ میلی‌لیتر از لوله اول برداشت و به لوله دوم اضافه شد و رقت 10^{-2} به‌دست آمد و این عمل را تا لوله پنجم ادامه داده تا رقت 10^{-5} حاصل گردید. از لوله حاوی رقت 10^{-5} به مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر برداشت کرده و روی محیط کشت مکانکی آگار، ریخته و به شکل یکنواخت کشت داده شد، سپس محیط‌های کشت را به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه کرده و در ادامه پس از انکوباسیون محیط‌های کشت جهت خالص سازی و شناسایی‌ای کولای، از پرگنه‌های لاکتوز مثبت (صورتی تا قرمز) ۵ کلونی به شکل تصادفی برداشت کرده و به محیط کشت BHI آگار انتقال داده شد و سپس این محیط ها به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای 37^{0C} انکوبه گردید. بعد از رشد کلونی‌ها در محیط BHI A تست اکسیداز و کاتالاز بر روی هر کلونی به‌صورت جداگانه انجام گرفت و از بین کلونی‌هایی که تست اکسیداز منفی و تست کاتالاز مثبت داشتند با انجام آزمایش‌های تکمیلی IMViC و بعد از تأیید در آن به محیط‌های افتراقی همچون اوره، لیزین، اورنیتین، ONPG، تولید گاز از گلوکز، تخمیر سوربیتول و محیط SIM از جهت وجود حرکت انتقال داده و مورد بررسی قرار داده شد و از اشرشیا کولای بودن آنها اطمینان حاصل شد (٤). در ادامه تحت آزمایش PCR قرار گرفتند.

روش کار مولکولی (استخراج DNA و PCR):

از هر یک از نمونه‌های تایید شده یک پلیت BHI A تهیه و کدگذاری شده و جهت PCR آماده شدند.

استخراج DNA :

ابتدا یک کلونی از پلیت باکتری برداشت و به داخل میکروتیوب ۱/۵ ml انتقال دادیم سپس مقدار ۵۰۰ مایکرولیتر بافر لیزکننده به آن اضافه نموده و به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ċ ٦٥-٦٠ قرار دادیم. در ادامه در ۱۲۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ کردیم مایع رویی را برداشته و به یک میکروتیوب ۱/۵ ml دیگر انتقال داده و هم حجم مایع رویی انتقال داده شده مخلوط کلروفرم- ایزوآمیلیک الکل اضافه نمودیم سپس محلول حاصل را در ۱۲۰۰۰ rpm به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ کرده دوباره مایع رویی را برداشت و به میکرو تیوب ۱/۵ ml جدید منتقل شد، هم حجم مایع رویی ایزوپروپانول سرد اضافه گردید، نیم ساعت در یخچال گذاشته سپس در ۱۲۰۰۰ rpm به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ کرده مایع رویی را دور ریخته و بر روی رسوب باقی‌مانده در میکروتیوب به‌مقدار ۲۵۰ ماکرولیت اتانول ۷۰٪ ریخته و سپس دوباره با اتانول شستشو دادیم، در ۱۲۰۰۰ rpm به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ کرده، اتانول را بیرون ریخته و به‌مقدار ۵۰ ماکرولیتر آب مقطر یا بافر تریس اضافه کرده و به‌عنوان استوک DNA استفاده نمودیم (۷).

انجام PCR:

در این بخش اجزاء و مواد تشکیل دهنده واکنش PCR و نیز برنامه دمایی و زمانی انجام آن به صورت فهرست‌وار آورده شده است. پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش بر مبنای سکانس ژن stx_1 و stx_2 و ساخته شرکت سیناژن مورد استفاده قرار گرفت (۷).

Primer 1 : stx_1 :
Forward: CAT TGT CTG GTG ACA GTA GCT
Reverse : CCC TGT AAT TTG CGC ACG GAG
Primer 2 : stx_2 :
Forward: CCA TGA CAA CGG ACA GCA GTT
Reverse : CCT GTC AAC TGA GCA CTG TTG

PCR materials :

Tamplate DNA (from BHI medium)	1 µl
$dNTP_s$ (10 mM)	1 µl
Enzyme (*Taq* DNA polymerase)	0.5 µl
Buffer (10X)	2.5 µl
$MgCl_2$	1.2 µl
Primer	1 µl
D.W	17.8 µl

www.SID.ir

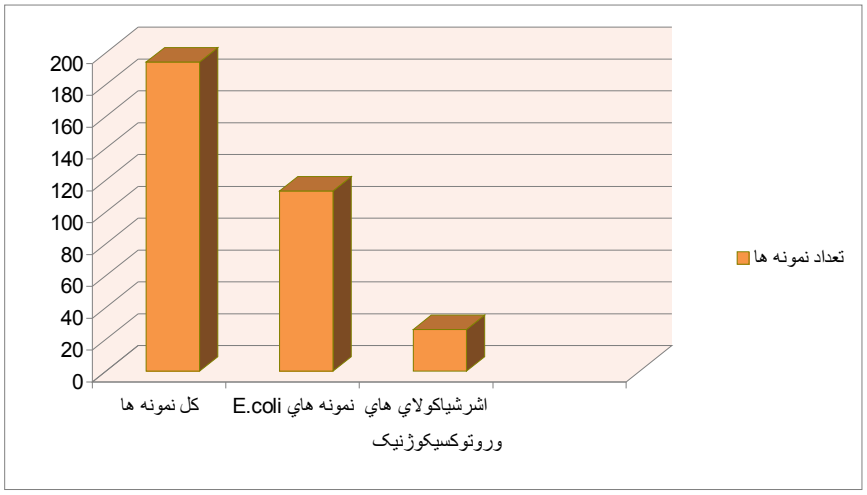
Archive of SID

PCR program :

94 ċ (initial denaturation)	4 min
94 ċ (denaturation)	40 s
62 ċ (annealing)	30s
72 ċ (extension)	75 s
Go to 2	35 cycles
72 ċ (final extension)	10 min

۲-۵-۳- الکتروفورز DNA با ژل آگاروز :

درصد ژل آگاروز استفاده شده، ۱٪ بود. پس از انحلال کامل و کاهش دمای ژل، ژل تهیه شده در ظرف الکتروفورز مناسب (سینی الکتروفورز) که قبلا شانه‌گذاری شده بود، ریخته می‌شد. پس از آماده شدن ژل و جدا کردن شانه، ظرف به تانکر الکتروفورز انتقال یافت. نمونه‌های DNA به نسبت ۵ به ۱ با بافر بارگذاری ٦ x (Loading Buffer) مخلوط شده و در چاهک‌های ژل ریخته شدند. ولتاژ دستگاه در حدود۸۵ mv تنظیم شد و نمونه‌ها به مدت ۱/۵-۱ ساعت روی ژل حرکت می‌کردند. پس از اتمام الکتروفورز، ژل از تانک خارج گردید و در محلول اتیدیوم بروماید با غلظت ۰/۵ mg/ml قرار داده شد. پس از گذشت ۱۰ دقیقه ژل از محل رنگ خارج شده و از ژل مورد نظر در دستگاه ژل داکیومنت عکس‌برداری شد. (۷ و ۹)



نمودار ۱- نتایج تعداد *اشرشیا کولای*‌های وروتوکسیکوژنیک

یافته‌ها

از مجموع ۱۹٤ نمونه اخذ شده، ٤۳ نمونه مربوط به گوساله و ۱۵۱ نمونه مربوط به گاو بودند (نمودار ۱).

۳-۱-۱- نتایج حاصل از کشت میکروبی:

پس از کشت و انجام آزمایشات تکمیلی تعداد ۱۱۳ نمونه معادل ۵۸/۲٤٪ از کل نمونه‌ها، *اشرشیا کولای* جدا شد که از این نمونه‌ها ۸۵ نمونه معادل ۷۵/۲۲٪ سوربیتول مثبت و ۲۸

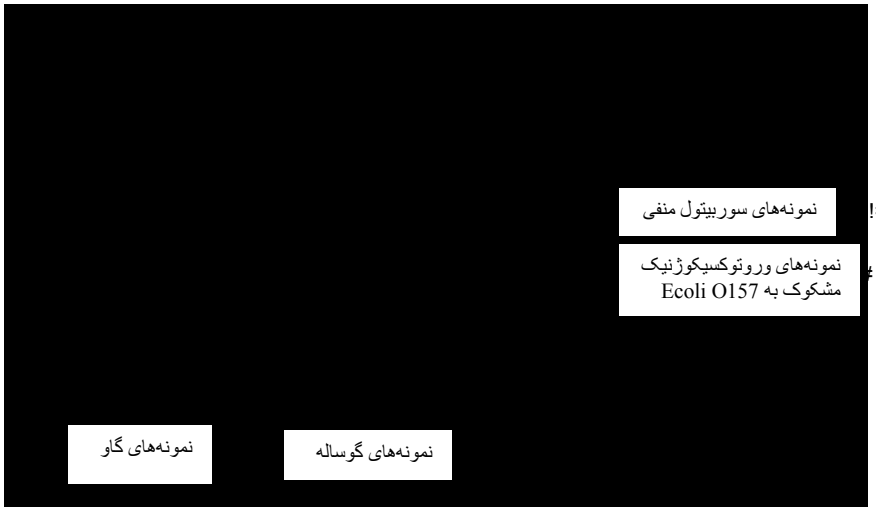
www.SID.ir

Archive of SID

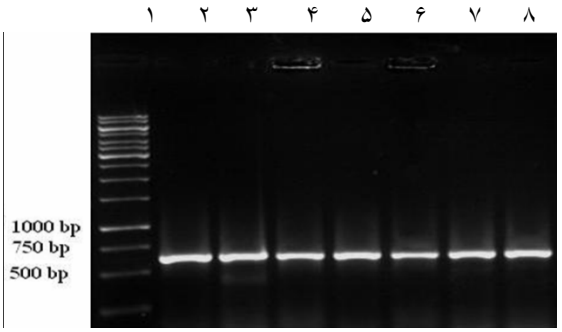
نمونه معادل ۲٤/۷۸٪ سوربیتول منفی بودند. از ۸۵ نمونه سوربیتول مثبت، ۱۹ نمونه مربوط به گوساله و ٦٦ نمونه مربوط به گاو و از ۲۸ نمونه سوربیتول منفی نیز ۱۳ نمونه مربوط به گوساله و ۱۵ نمونه گاوی بودند (نمودارهای ۲ و ۳).

نتایج PCR:

در ادامه ۸۵ نمونه سوربیتول مثبت و ۲۸ نمونه سوربیتول منفی مورد آزمایش PCR قرار گرفتند که از ۲۸ نمونه سوربیتول منفی تعداد ۱۹ نمونه معادل ۱٦,۸٪ *اشرشیا کولای* وروتوکسیکوژنیک جدا شد که از نمونه‌های فوق ۹ مورد مربوط به گاو و ۱۰ مورد مربوط به گوساله ها بودند. از ۸۵ نمونه سوربیتول مثبت نیز ۷ مورد معادل ٦/۲٪ در گروه وروتوکسیکوژنیک قرار گرفتند که همگی مربوط به نمونه‌های گاوی بودند. در مجموع از ۱۱۳ نمونه *اشرشیا کولای* جدا شده تعداد ۲٦ نمونه معادل ۲۳٪ *اشرشیا کولای* وروتوکسیکوژنیک بودند (نگاره ۱).



نمودار ۲- مقایسه نتایج تعداد E.coli وروتوکسیکوژنیک در نمونه‌های سوربیتول منفی در گاو و گوساله

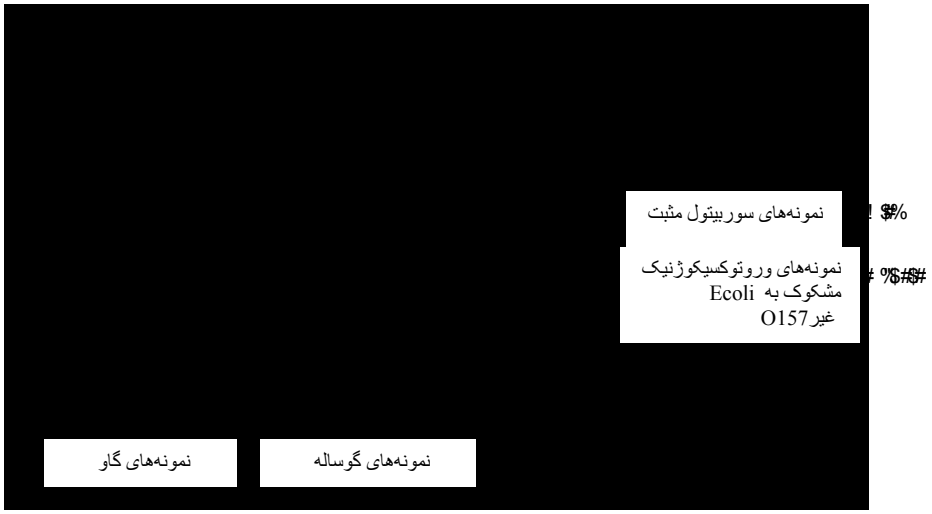


نگاره ۱- باندهای حاصل از الکتروفورز محصول PCR .اندازه باند معادل۷۳۲ bp که مربوط به قطعه STx_1

ردیف ۱ حاوی سایز مارکر DNA ladder plus شرکت Fermentas و ردیف ۲ کنترل مثبت و در خانه‌های شماره ۳، ٤، ۵، ٦، ۷ و ۸ نمونهٔ مثبت

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۳- مقایسه نتایج تعداد *E.coli* وروتوکسیکوژنیک در نمونه‌های سوربیتول مثبت در گاو و گوساله

بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر با کار بر روی ۱۱۳ *اشرشیا کولای* جدا شده از نمونه‌های مدفوعی گاوهای کشتاری کشتارگاه تبریز بعد از انجام کشت و PCR مشخص شد تعداد ۲٦ نمونه معادل ۲۳٪ از موارد، جزء *اشرشیا کولای‌های* وروتوکسیکوژنیک بودند. این درصد بالا از دو جنبه حائز اهمیت می‌باشد. از یک سو به‌دلیل اینکه *اشرشیا کولای‌های* وروتوکسیکوژنیک عامل بیماری‌های بسیار مهم اقتصادی در دامپزشکی از قبیل اسهال کلی باسیلی گوساله‌ها، ورم پستان کلی باسیلی گاو و... می‌باشند، وجود درصد نسبتاً بالای این باکتری‌ها در مدفوع گاوهای به ظاهر سالم منطقه نشان دهنده این موضوع می‌باشد که مدفوع گاوها یکی از مهم‌ترین مخازن انتقال این بیماری‌ها در اپیدمیولوژی کلی باسیلوز گاو و گوساله در منطقه می‌باشد. از طرف دیگر درصد بالای این باکتری‌ها در مدفوع گاوهای کشتاری و احتمال نسبتا بالای آلودگی گوشت به مدفوع در جریان کشتار و توجه به این موضوع که یکی از مهمترین عوامل بیماری‌زای منتقله از غذا در انسان *اشرشیا کولای* O_{157} H_7، جزو *اشرشیا کولای‌های* وروتوکسیکوژنیک می‌باشد، لزوم توجه ویژه به خطر بالقوه آلودگی انسان از طریق مصرف گوشت در منطقه تبریز احساس می‌شود.

در ضمن خطر آلودگی مستقیم کارگران کشتارگاه و افرادی که با گوشت خام و به‌ویژه آلایش‌های کشتارگاهی سرو کار دارند به‌عنوان یک عفونت منتقل شونده از حیوان قابل بررسی است.

پژوهش‌های مشابه در مناطق دیگر نتایج قابل مقایسه‌ای را با نتایج پژوهش حاصل گزارش کردند. به‌عنوان نمونه در پژوهشی که در سال ۱۹۸۸ توسط Blanco و همکاران در شمال اسپانیا بر روی ۲۸۹ نمونه *اشرشیا کولای* جدا شده از مدفوع گاوها انجام گرفته گزارش نموده که ۲۰/۵٪ نمونه‌ها *اشرشیا کولای* وروتوکسیکوژنیک می‌باشند و در ادامه اثرات بیماری‌زای این باکتری‌ها بر روی موش را مطالعه نموده است (۵).

Fukushima و همکاران در سال ۲۰۰٤ در ژاپن در مطالعه‌ای بر روی نمونه مدفوعی ٦۰۵ رأس گاو و گوساله به روش کشت و PCR برای جستجوی *اشرشیا کولای‌های* تولید کننده شیگا

www.SID.ir

Archive of SID

لایک توکسین گزارش نموده‌اند که تعداد ۳۱ رأس (۵/۱٪) آلوده به *اشرشیا کولای* وروتوکسیکوژنیک بودند (٦).

در پژوهش دیگری در سال ۲۰۰۷ Muffling و همکاران در آلمان با مطالعه روی گاو و خوک *اشرشیا کولای*‌های جدا شده از مدفوع جمعیت مورد مطالعه را مورد PCR قرار داده و گزارش نموده اند ۲۲ *اشرشیا کولای* جدا شده از ۲٦٤ نمونه گاوی مورد آزمایش، معادل ۸/۳٪ کل نمونه‌ها از گروه وروتوکسیکوژنیک می‌باشند، در صورتی که از ۷٦ نمونه خوکی مورد آزمایش تعداد ۲۳ نمونه معادل ۳۰/۲٦٪ کل نمونه‌ها وروتوکسیکوژنیک بودند (۹).

در پژوهش دیگری که در سال ۲۰۰٤ توسط Sergent و همکاران در آمریکا روی نمونه‌های متعدد باکتریایی جدا شده از مدفوع گاوها و گوساله ها، آغل‌های نگه‌داری و جایگاه پرواربندی بعد انجام PCR در نهایت ۱۰/۲٪ *اشرشیا کولای*‌های جدا شده از نمونه‌های مدفوعی از نوع *اشرشیا کولای* وروتوکسیکوژنیک بوده‌اند. در حالی که درصد آلودگی در سطح آغل و جایگاه پرواربندی بسیار بالاتر گزارش شده است (۱۰).

از میان ۱۱۳ نمونه مورد بررسی در پژوهش حاضر تعداد ۲۸ نمونه سوربیتول منفی بوده اند (معادل ۲٤/۷۷٪ کل نمونه‌ها) که از این تعداد، ۱۹ مورد با آزمایش PCR در گروه *اشرشیا کولای* وروتوکسیکوژنیک طبقه‌بندی شده‌اند. از ۱۹ مورد فوق ۹ مورد از مدفوع گاو و ۱۰ مورد از مدفوع گوساله جدسازی شده‌اند. با توجه به اینکه *اشرشیا کولای* O_{157} H_7 جزو *اشرشیا کولای*‌های وروتوکسیکوژنیک سوربیتول منفی می‌باشند و نظر به اهمیت بسیار بالای این باکتری در بهداشت عمومی، نتایج موید ریسک نسبتاً بالای انتقال این باکتری از طریق مدفوع گاو به انسان می‌باشد. همچنین درصد بالای این باکتری در مدفوع گوساله‌ها نشان‌دهنده اهمیت بیشتر گوساله‌ها به عنوان مخزن این باکتری برای انسان است.

Sergent و همکاران در سال ۲۰۰٤ با کار بر روی این باکتری گزارش نموده‌اند از ۵۲٪ آغل‌های نمونه برداری شده و ۹۵/۹٪ جایگاه‌های پرواربندی مورد بررسی، *اشرشیا کولای* O_{157} H_7 جداسازی شده است. از سوی دیگر فراوانی بیشتر این باکتری در مدفوع گوساله‌های پرواری در مقایسه با گاوها موید نتایج پژوهشی حاضر می‌باشد (۱۰).

در پژوهش Muffling و همکاران در آلمان در سال ۲۰۰۷ گزارش شده است که میزان فراوانی *اشرشیا کولای* وروتوکسیکوژنیک در مدفوع خوک‌های مورد مطالعه بسیار بیشتر از گاوها می‌باشد اما فراوانی سویه‌های مرتبط با بیماری‌های انسان در نمونه‌های گاوی بسیار بیشتر بوده و اغلب سروتیپ O_{157} می‌باشد (۹) این نتایج نشان دهنده اهمیت بالای گاو از نظر بهداشت عمومی می‌باشد.

در پژوهش حاضر تعداد ۸۵ نمونه از ۱۱۳ نمونه مورد آزمایش سوربیتول مثبت بودند که از این تعداد ۷ نمونه با آزمایش PCR در گروه وروتوکسیکوژنیک قرار گرفتند که همگی از نمونه‌های مدفوعی اخذ شده از گاو به‌دست آمده‌اند. این نمونه‌ها از سروتیپ‌های وروتوکسیکوژنیک غیر O_{157} می‌باشند. نتایج پژوهش‌های دیگر هم از جدا شدن این سروتیپ‌ها از مدفوع گاو و گوساله حکایت می‌کند. سروتیپ‌های جدا شده شامل O_{26}، O_{126}، O_{111} و O_{121} می باشند (۵، ٦ و ۹).

در سال ۲۰۰۳ Laven و همکاران در انگلستان با کار بر روی گوساله‌های کشتاری در ۳ کشتارگاه لندن در خلال سال‌های ۱۹۹۹ و ۲۰۰۰ به روش PCR جهت جستجوی *اشرشیا کولای* O_{157} گزارش نموده‌اند. میزان این باکتری در قسمت‌های مختلف گوشت و دستگاه گوارش گوساله‌ها متفاوت بوده به طوری که میزان جداسازی و کلونیزه شدن باکتری در قولون بیشتر از شکمبه بوده همچنین میزان اتصال آن به دیواره روده‌ها بیشتر می‌باشد. از سوی دیگر فراوانی این باکتری در خلال ماه‌های زمستان نسبت به سایر فصول به‌طور معنی‌داری کمتر

www.SID.ir

Archive of SID

می‌باشد (۸).

این نتایج نشان دهنده این است که اولاً افرادی که با آلایش‌های دامی سروکار دارند بیشتر در معرض آلوده شدن با این باکتری‌ها قرار داشته و از طرف دیگر در فصول گرم سال ریسک آلودگی بالاتر است.

منابع

۱. جاوتز، ۲۰۰۱. میکروب شناسی پزشکی، ترجمه ارجمند، م. و ستوده نیا، ع.، انتشارات ارجمند، صفحات: ۳٤٦-۳۲٦.

۲. طباطبایی، ع. و فیروزی، ر. ۱۳۸۰. بیماری‌های باکتریایی دام، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات: ۲۳۱- ۲۰٦.

۳. کوئین، مارکی، کارتر، دونلی، لئونارد، ۱۳۸٦. میکروب شناسی دامپزشکی و بیماری‌های میکروبی، ترجمه زهرایی صالحی، ت. و شایق، ج.، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات: ۱۹۹-۱۵۷.

٤. مک فادین، جی. ۱۳۸۳. آزمایش‌های بیوشیمیایی برای شناسایی باکتری‌های پزشکی، ترجمه رحمتی، ا.، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی تبریز. صفحات: ۸۰٤-۸۷۳ .

5. Blanco, J., Gonzalez, E.A., Garcia, S., Blanco, M., Regueiro, B., Bernardez, I. 1988. Production of toxins by Escherichia coli strains isolated from calves with diarrehoea in Galicia (North-western Spain), Veterinary Microbiology, Vol 18, pp: 297-311.
6. Fukushima, H. and Seki, R. 2004. High numbers of shiga toxin-producing Escherichia coli found in bovine feces collected at slaughter in Japan, FEMS Microbiology Letters, Vol 238, pp: 189-197.
7. Gannon, V.P.J., D'souza,S., Graham, T., King, R.K., Rahn, K. and Read, S. 1996. Use of the Flagellar H7 Gene as a Target in Multiplex PCR Assays and Improved Specificity in Identification of Enterohemorrhagic Escherichia coli Strains, Animal Diseases Research Institute, Agriculture and Agri-Food Canada, Canada T1J 3Z4, Canada N1G 3W4.
8. Laven, R.A., Ashmore, A. and Stewart, C.S. 2003. Escherichia coli in the Rumen and Colon of Slauthter Cattle , with Particular reference to E.coli O157, The Veterinary journal, Vol 165 , pp: 78-83.
9. Muffling, T.V., Smaijlovic, M., Nowak, B., Sammet, K., Bulte, M. and Klein, G. 2007. Preliminary study of certain serotypes, genetic and antimicrobial resistance profiles of verotoxicogenic Escherichia coli(VTEC) isolated in Bosnia and Germany from cattle or pigs and their products, International Journal of Food Microbiology, Vol 117, pp: 185-191.
10. Sergeant, J.M., Sanderson, M.W., Smith, R.A., Dee Griffin, D. 2004. Associations between management , climate , and Escherichia coli O157 in the feces of feedlot cattle in the Midwestern USA, Preventive Veterinary Medicine , Vol 66, pp: 175-206 .

www.SID.ir