



O157:H7: اشریشیاکلی ۰۱۵۷: های مارکر بیماری زایی و مقاومت آنتی بیوتیکی

تولید کننده شیگاتوکسین در فروشگاههای عرضه کننده گوشت شهرستان شیراز

محمد کارگر^{۱*}، موسی دانشور^۱، مریم همایون^۱

^۱ گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم

چکیده

زمینه: اشریشیاکلی O157:H7 تولید کننده شیگاتوکسین، یکی از پاتوژن‌های متداول در گاو است که به طور اتفاقی موجب ایجاد بیماری‌هایی در انسان می‌شود. این باکتری پتانسیل آلودگی با گوشت قرمز را دارد و اغلب عفونت‌های بالینی ناشی از آن با مصرف گوشت چرخ کرده نیخته در ارتباط است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، به صورت مقطعی ۱۲۲ نمونه گوشت چرخ کرده از قصابی‌های چهار منطقه مختلف شهر شیراز در سال ۱۳۸۶ جمع‌آوری و پس از غنی‌سازی در محیط کشت اختصاصی و ارزیابی تخمیر سوربیتول و فعالیت بتاگلوکورونیدازی (تست MUG)، با کمک آنتی‌سرم اختصاصی، سویه‌های *E. coli* O157:H7 تعیین هویت گردید. سپس ژن‌های بیماری‌زای وروتوکسین، ایتیمین و همولیزین با استفاده از روش Multiplex PCR و مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها با روش دیسک دیفیوژن مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: از مجموع نمونه‌های مورد بررسی، ۱۱۹ کلی سوربیتول منفی جداسازی گردید که ۳ سویه O157:H7 (فرابانی ۲/۴۵ درصد) با آنتی‌سرم اختصاصی تأثیر نداشتند. از سویه‌های مورد بررسی، در دو ژن بیماری‌زای *eaeA* و *stx1* (فرابانی ۱/۶۴ درصد) مشاهده گردید. در سویه‌های تأثیر شده مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های اریتروماسین، تتراسیکلین، آمپیسیلین، پنی‌سیلین، کلیندامایسین، سفکسیم، نوویبوسین و جتامایسین دیده شد.

نتیجه‌گیری: به دلیل زندگی این ارگانیسم در روده دام‌های سالم، ضرورت توجه به پیش‌گیری در هنگام فرایند گوشت وجود دارد.

وازگان کلیدی: اشریشیا کلی O157:H7، شیگاتوکسین، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، گوشت قرمز

دریافت مقاله: ۸/۱۱/۲۷ - پذیرش مقاله: ۸/۱۱/۲۷

* جهرم، شهرک خارقان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم

E-mail: mkargar@jia.ac.ir

مقدمه

سویه‌های STEC در انسان بیماری‌هایی مانند اسهال خونی و بدون خون، کولیت خونریزی دهنده و سندرم اورمی همولیتیک را ایجاد می‌کنند. شیگاتوکسین‌ها با ممانعت از سنتز پروتئین در اپی‌تیلوم روده ایجاد اسهال خونی می‌کنند. ایتیمین نیز پروتئین سطحی ضروری برای ایجاد آسیب‌های A/E بر روی سلول‌های اپی‌تیلیال نواحی گاستروانتریتی است. اسهال شدید و سندرم اورمی همولیتیک بیشتر مربوط به سویه‌هایی می‌باشد که ژن eaeA را برای ایتیمین حمل می‌کنند (۱ و ۳). به طور کلی، فرایند بیماری‌زایی در برگیرنده چندین نوع برهم کنش بین باکتری و میزبان است. این مراحل شامل استقرار باکتری در روده، ایجاد اسهال و آسیب‌های روده‌ای، جذب شیگاتوکسین، واکنش توکسین با بافت‌های میزبان و ایجاد پاسخ‌های التهابی است (۵).

در ایران مطالعات اپیدمیولوژیکی انجام شده بر روی سویه‌های E.coli O157:H7 در نمونه‌های غذایی برخلاف نمونه‌های مدفوع حیوانی بسیار محدود است. با توجه به دوز عفونی بسیار اندک این باکتری (کمتر از ۱۰۰ ارگانیسم) و مقاومت آن در برابر اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها، ضرورت شناسایی منابع آلودگی و چگونگی انتقال باکتری به انسان وجود دارد. هدف از این پژوهش ارزیابی شیوع، ویروتایپینگ و مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری E.coli O157:H7 در نمونه‌های گوشت چرخ‌کرده قصابی‌های شهرستان شیراز می‌باشد.

مواد و روش کار

تعداد ۱۲۲ نمونه گوشت چرخ‌کرده مخلوط گاو و گوسفند به صورت نمونه‌های ۲۰۰ گرمی از

سویه‌های اش瑞شیاکلی O157:H7 تولید توکسین‌های مشابه توکسین شیگلا دیسانتری (Shigella dysenteriae) می‌کنند. به همین دلیل به این باکتری‌ها، سویه‌های تولیدکننده شیگاتوکسین می‌گویند. باکتری E.coli O157:H7 اولین بار طی یک همه‌گیری کشنده اسهال خونی (کولیت هموراژیک) در سال ۱۹۸۲ شناسایی شد. از آن زمان به بعد، بیش از ۲۰۰ سروتیپ سویه‌های STEC (Shiga toxin-producing E.coli) از نمونه‌های حیوانات، مواد غذایی و دیگر منابع جداسازی شده است. با وجود این که چندین سویه اش瑞شیاکلی (مانند O26 و O111) توانایی ایجاد کولیت‌های هموراژیک در انسان را دارند، اما سروتیپ O157:H7 مهم‌ترین سروتیپ شناسایی شده است (۱). تمام افراد ممکن است با E.coli O157:H7 آلوهه شوند اما کودکان و افراد مسن مستعدتر هستند. اوج بروز باکتری در فصل تابستان و متوسط دوره کمون آن ۳ تا ۴ روز (از ۱ تا ۸ روز) است (۲).

نشخوارکنندگان اهلی، به ویژه گاو، گوسفند و بز اصلی‌ترین مخازن این باکتری محسوب می‌شوند (۳). از مهم‌ترین مواد غذایی که در همه‌گیری‌های مختلف E.coli O157:H7 احتمال آلودگی آنها با باکتری وجود دارد، می‌توان به همبرگر، گوشت چرخ‌کرده، شیر، ماست، پنیر، سبزیجات، آب میوه‌ها (به ویژه آب‌سیب)، جوانه ترب و یونجه اشاره کرد (۴).

بیماری‌زایی سویه‌های E.coli O157:H7 در ارتباط با عواملی مانند: دو سیتو توکسین کد شونده توسط فاژ، به نام شیگاتوکسین‌های ۱ و ۲ (stx1 و stx2) و یک پروتئین غشای خارجی به نام ایتیمین می‌باشد که به‌وسیله ژن کروموزومی eaeA کد می‌شود (۱ و ۳).

(Difco) انجام شد (۶ و ۷). مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جداسازی شده، با روش استاندارد دیسک دیفیوژن (Disk Diffusion) بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار (Merck) با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی پنی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، تتراسیکلین (۳۰ میکروگرم)، سولفامتوکسازول-تری‌متوپریم (۲۵ میکروگرم)، جنتامايسین (۱۰ میکروگرم)، اریترومايسین (۱۵ میکروگرم)، آمیکاسین (۱۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، نووپیوسین (۵ میکروگرم)، سفکسیم (۳۰ میکروگرم) و کلیندامايسین (۱۰ میکروگرم) انجام گردید (۸). استخراج DNA با استفاده از کیت TMDNP (شرکت سیناژن) انجام گرفت. برای انجام روش Multiplex PCR به منظور ارزیابی هم‌زمان ژن‌های بیماری‌زا، از پرایمرهای معرفی شده توسط Santaniello در سال ۲۰۰۷، در شرایط حرارت ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۳ دقیقه (واسرست ابتدایی)، حرارت ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۲۰ ثانیه (Denaturation)، حرارت ۵۸ درجه سانتی‌گراد ۴۰ ثانیه (Annealing)، حرارت ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۹۰ ثانیه (Extension) و حرارت ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۵ دقیقه (گسترش نهایی) استفاده شد (۹ و ۱۰).

نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc USA IL Chicago) نسخه ۱۳ و آزمون مریع کای و آزمون دقیق فیشر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مرز معنادار روی ($P < 0.05$) قرار داده شد.

یافته‌ها

در این پژوهش تعداد ۱۲۲ نمونه گوشت چرخ‌کرده (مخلوط گاو و گوسفند) از قصابی‌های مناطق مختلف

قصابی‌های ۴ منطقه‌ی جغرافیایی غرب، شرق، شمال و جنوب شیراز به صورت مقطعی در سال ۱۳۸۶ تهیه گردید. اطلاعات مربوط به مکان، زمان و فرایند تهیه نمونه در پرسشنامه تنظیمی ثبت گردید. تمامی نمونه‌ها با حفظ زنجیره سرد به آزمایشگاه میکروب‌شناسی اداره استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران در شیراز انتقال داده شد.

سپس به منظور غنی‌سازی ۲۵ گرم گوشت چرخ‌کرده به ۲۲۵ میلی‌لیتر محیط اشريشياكلی برات (E.coli broth= ECB) ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نووپیوسین (sigma) اضافه گردید. پس از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در حرارت ۳۰ درجه سانتی‌گراد، از محیط یاد شده بر روی محیط sorbitol-MacConkey مکانکی آگار (agar = SMAC) ۰/۰۵ Lab.M میلی‌گرم در لیتر سفیکسیم شرکت (Oxoid) و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر تلوریت پتاسیم شرکت (Oxoid) تلقیح و در دمای 37°C به مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شد. برای ارزیابی تخمیر لاکتوز و تعیین هویت باکتری‌های جداسازی شده از محیط‌های ویولت رد بایل آگار (violet red bile agar =VRBA) و ائوزین متیلن‌بلو‌آگار (EMB=Eosin Methylene Blue) شرکت Merck استفاده گردید.

همچنین به منظور بررسی فعالیت بتا‌گلوکورونیدازی، باکتری‌های تأیید شده به عنوان اشريشياكلی بر روی محیط کروم‌آگار اختصاصی O157 کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C گرم‌خانه‌گذاری شدند. تأیید نهایی کلندی‌های سوربیتول منفی و بتا‌گلوکورونیداز منفی با استفاده از تست O157:H7 آگلوتیناسیون با آنتی‌سرم اختصاصی

نتایج حاصل از بررسی حساسیت دو سویه *E.coli* O157:H7 در برابر آنتی بیوتیک های مورد بررسی، نشان دهنده مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک های اریترو مايسین، تتراسیکلین، آمپی سیلین، پنی سیلین، کلیندمايسین، سفکسیم، نوو بیوسین و جنتامایسین بود. همچنین یک باکتری به آنتی بیوتیک های سول فاما توکسازول، تری متورپریم و کراموفنیکل مقاوم و یک باکتری نیز به این دو آنتی بیوتیک حساس بود. هر دو باکتری اشريشیا کلی O157:H7 جداسازی شده از نمونه های گوشت چرخ کرده در این پژوهش، نسبت به آنتی بیوتیک آمیکاسین حساس بودند.

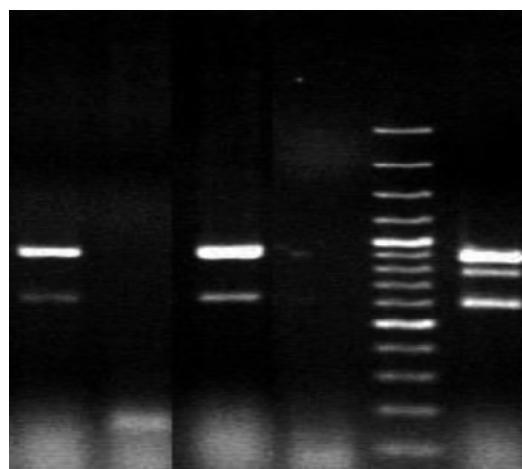
بحث

جداسازی سویه های *E.coli* O157:H7 از مدفوع گوسفندان سالم نشان دهنده شواهد اپیدمیولوژیکی ارتباط بین بیماری انسان و مصرف محصولات آلوده با کودهای حیوانی می باشد (۳). *E.coli* O157:H7 یک پاتوژن انسانی منسوب به گاوسانان است و بنابراین توانایی آلوده کردن گوشت قرمز را دارد. همچنین به دلیل توانایی استقرار باکتری در روده حیوانات به ویژه گاو، احتمال آلودگی گوشت با محتویات روده حیوان در طی کشتار وجود دارد. در بررسی های انجام شده، آلودگی های این سویه، اغلب در ارتباط با مصرف گوشت چرخ کرده نیم پز بوده است. منشا آلودگی گوشت چرخ کرده با این ارگانیسم، در نتیجه آلودگی لاشه حیوان است. زیرا گاوسانان می توانند باکتری را در مدفوع خود حمل کرده و باعث آلودگی پوست و لاشه شوند (۱۱).

تقریباً ۳۰ درصد گاوسانان ناقلين بدون علامت *E.coli* O157:H7 هستند. بنابراین، روش هایی که بر کاهش جمعیت باکتری در غذاهای حیوانی قبل از ورود آنها به زنجیره غذایی انسان تأکید دارند،

جغرافیایی شیراز مورد مطالعه قرار گرفت. در مجموع، تعداد نمونه های جمع آوری شده از مناطق مختلف غرب، شرق، شمال و جنوب (به ترتیب ۲۹ ۲۳/۷۷ درصد)، ۳۰ (۲۴/۵۹ درصد)، ۳۳ (۲۷/۰۵ درصد) و ۳۰ (۲۴/۵۹ درصد) نمونه) بود.

از مجموع نمونه های مورد بررسی از ۱۱۹ نمونه (فراوانی ۹۷/۵۴ درصد)، در محیط CT-SMAC کلینی های سوربیتول منفی جداسازی گردید که پس از کشت بر روی محیط های اختصاصی، از ۱۹ نمونه (فراوانی ۱۵/۵۷ درصد) اشريشیاکلی جداسازی شد. با استفاده از آزمون کای دو مشخص گردید که بین عدم تخمیر سوربیتول و محل نمونه گیری رابطه معنی داری وجود دارد ($P=0/02$). از نمونه های مورد بررسی ۱۰ نمونه (فراوانی ۸/۱۹ درصد) فاقد فعالیت بتا گلوکورونیدازی (تست منفی MUG) بودند که از این تعداد، ۳ سویه O157:H7 (فراوانی ۲/۴۵) در صد) با استفاده از آنتی سرم O157:H7 تأیید گردید. از ۸۹۰ مارکهای بیماری زای مورد بررسی، ژن های eae (bp ۶۱۴) و stx1 (bp ۱/۶۴) در دو باکتری (فراوانی در صد) مشاهده گردید (شکل ۱).



شکل ۱) نمایش ژن های بیماری زای تعیین شده با روش Multiplex PCR توسط پرایمرهای اختصاصی بر روی ژل آکاروز. کنترل مثبت واحد ژن های stx1 (614 bp)، stx2 (779 bp) و eaeA (890 bp) (۱)، مارکر (۲)، کنترل منفی (۳)، نمونه های مثبت (۴) و نمونه منفی (۵)

جداسازی شده از لشه‌های گوشت، از نظر وجود ژن‌های *stx2* و *eae* مثبت بودند (۱۶). در پژوهش ما در سویه‌های جداسازی شده فقط ژن‌های *eae* و *stxI* مشاهده گردید. یکی از ویژگی‌های باکتری *E.coli* O157:H7 تفاوت در فاکتورهای ویرولانس سویه‌های مختلف آن می‌باشد. با اینکه وجود تمامی ژن‌های بیماری‌زای مورد بررسی در یک سویه می‌تواند دلیلی بر بیماری‌زایی بیشتر سویه‌ها محسوب شود، اما شباهت فاکتورهای ویرولانس سویه‌های جدا شده از مناطق مختلف می‌تواند نشان‌دهنده شیوع یک سویه در مکان مورد پژوهش و معیاری برای اندازه‌گیری شدت بیماری‌زایی باکتری‌های در حال چرخش باشد.

در پژوهش قبلی ما در جهرم بر روی ۵۰۰ نمونه شیر، ۱۷ باکتری O157:H7 جداسازی گردید که ۰/۲ درصد از کل نمونه‌ها، تولیدکننده وروتوکسین (stx2) بودند (۱۷). همچنین در پژوهش دیگر بر روی نمونه مدفعه کودکان زیر ۵ سال در شهرستان مرودشت، از ۶۱۵ نمونه مورد بررسی از ۷ کودک (فرانسوی ۱/۱۴ درصد)، باکتری *E.coli* O157:H7 جداسازی گردید و تنها در یکی از سویه‌های جدا شده ژن‌های *eaeA* و *stxI* (فرانسوی ۰/۱۶ درصد) مشاهده گردید (۱۸). جمشیدی و همکاران ۱۰۰ نمونه گوشت چرخ‌کرده را به صورت تصادفی در ماههای خرداد و تیر سال ۱۳۸۴ از فروشگاه‌های عرضه گوشت در سطح شهرستان مشهد جمع‌آوری نموده و با تست PCR تنها یک نمونه را به عنوان سروتیپ O157:H7 تأیید کردند (۱۹).

در پژوهش ما از میان ۱۲۲ نمونه گوشت چرخ‌کرده مخلوط گاو و گوسفند، سه سویه O157:H7 (فرانسوی ۲/۴۵ درصد) با استفاده از آنتی‌سرم اختصاصی

دارای اهمیت ویژه‌ای در کاهش بیماری‌های انسانی هستند (۱).

درصد شیوع O157 در آمریکا ۱۷/۸ درصد (الدر Elder) و همکاران سال ۲۰۰۰، ایتالیا ۱۲ درصد (بوناردی Bonardi) و همکاران سال ۲۰۰۱، ایرلند ۱۱ درصد (مک ایوی McEvoy) و همکاران سال ۲۰۰۳، انگلستان ۱/۴ درصد (چاپمن Chapmam) و همکاران سال ۲۰۰۱، بلژیک ۱۰/۲ درصد (توتنال Tutenal) و همکاران سال ۲۰۰۳، ترکیه ۳/۶ درصد (گون Gun) و همکاران سال ۲۰۰۳ و جمهوری چک ۱ درصد (لوکاسووا Lukasova) و همکاران سال ۲۰۰۴ گزارش شده است (۱۲).

راهکارهای متنوعی شامل تغییر در عملکردهای مزرعه‌ای، اصلاح رژیم غذایی گاو، واکسیناسیون و تزریق فاژهای لیتیک و باکتری‌های پروویوتیک به منظور کاهش مقدار O157:H7 در گاوها زنده و به دنبال آن کاهش آلودگی در گوشت، پیشنهاد شده است (۱۳).

در فرانسه اولین شیوع گسترده O157:H7 (۶۹ مورد)، در سال ۲۰۰۵ گزارش گردید که با مصرف گوشت چرخ‌کرده در ارتباط بود و مشخصه اصلی سویه‌های STEC مرتبط با بیماری، تولید شیگا توکسین‌های *stx1* و *stx2* و واریته‌های *stx2* بود. البته واریته‌های اختصاصی میزبان‌هایی مثل گوسفند و خوک (*stx2e*) بیماری‌زایی کمتری برای انسان دارند (۱۴). در بررسی سال ۲۰۰۶ توسط ایلماز (Yilmaz) و همکاران بر روی نمونه‌های گوشت گاو در ترکیه، وجود ژن‌های *stx1* و *stx2* در ۲۶ سویه O157:H7 نشان داده شد (۱۵).

در مطالعات متعددی که طی سال‌های ۲۰۰۰ و ۲۰۰۳ انجام گردید اغلب سویه‌های *E.coli* O157

آمپیسیلین، نووبیوسین و پنیسیلین مقاومت داشتند و ۷۲/۲ درصد آن‌ها نیز حداقل به یک یا دو آنتی بیوتیک نیمه مقاوم بودند (۶). سویه‌های جداسازی شده در این پژوهش نیز به اکثر آنتی بیوتیک‌ها مقاوم بودند. افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در نقاط مختلف دنیا به عنوان یک مشکل اساسی مطرح می‌باشد و اطلاع از حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی، در درمان نقش اساسی دارد (۲۲). به طور کلی در کشورهای در حال توسعه پژوهش‌های محدودی در مورد شیوع و بیماری‌زایی باکتری *E.coli* O157:H7 انجام شده است و شاید یکی از دلایل گزارش موارد کمتر شیوع نیز همین مسئله باشد. از این رو بررسی هم زمان نمونه‌های کلینیکی و مواد غذایی و پایش مارکرهای مولکولی و مقاومت آنتی بیوتیکی می‌تواند به فهم بهتر اهمیت بیماری‌زایی و شیوع آن در ایران کمک نماید. همچنین گوشت چرخ‌کرده نیز به دلیل تنوع منشا دامی و میزان قابل توجه مصرف می‌تواند هدف مناسبی برای پایش شیوع باکتری *E.coli* O157:H7 محسوب شود. با توجه به این که باکتری *E.coli* O157:H7 نرمال فلورای روده گاوسانان می‌باشد، پایش مکرر این باکتری ضروری به نظر می‌رسد. همچنین این باکتری را می‌توان به عنوان یک شاخص بهداشتی به منظور ارزیابی آلدگی گوشت در نظر گرفت. از طرفی توصیه‌های بهداشتی در زمان انتقال دام و تهیه گوشت، می‌تواند در کاهش آلدگی محصولات دامی مؤثر باشد.

تشکر و قدردانی:

نویسنده‌گان این مقاله از سرکار خانم مهین خیمه کبود

شناسایی و از دو باکتری ژن‌های *stx1* و *eae* (فراآوانی ۱/۶۴ درصد) جداسازی شد. آمارها نشان می‌دهد که در مناطق مختلف شیوع سویه‌ها می‌تواند متفاوت باشد. اما برای نتیجه‌گیری دقیق‌تر در این مورد نیاز به مطالعات همزمان و گستردگرتر بر روی نمونه‌های کلینیکی، مواد غذایی و مواد لبني در مدت زمان طولانی‌تر می‌باشد. با توجه به این که ممکن است تنها استفاده از روش سرولوژی برای تأیید باکتری *E.coli* O157:H7 کارایی لازم را نداشته باشد، به همین دلیل به منظور شناسایی دقیق‌تر جدایه‌های مشکوک، علاوه بر ویروتایپینگ، ارزیابی ژن‌های O و H با روش PCR نیز پیشنهاد می‌گردد.

باکتری‌های *E.coli* O157:H7 جداسازی شده از نمونه‌های کلینیکی، مواد غذایی و نمونه‌های حیوانی طی بررسی‌های گوناگون مقاومت آنتی بیوتیکی بالایی را از خود نشان داده‌اند. یکی از مسائلی که باعث افزایش اهمیت *E.coli* O157:H7 می‌شود، وجود مقاومت آنتی بیوتیکی این باکتری است (۲۰).

در مطالعه بیرن (Byrne) و همکاران، ۱۸ درصد سویه‌های O157:H7 به حداقل یکی از ۱۸ ترکیب ضد میکروبی تست شده مقاوم بودند. ۶ مورد از ۱۱ باکتری جداسازی شده نیز به سولفامتوکسازول، استرپтомایسین و تتراسیکلین مقاوم بودند. منگ (Meng) و همکاران از ۹ سویه جداسازی شده از گوشت چرخ‌کرده دو نمونه مقاوم به استرپтомایسین، سولفامتوکسازول و تتراسیکلین جدا کردند (۲۱).

در پژوهش قبلی ما بر روی نمونه‌های شیر تمامی باکتری‌های جداسازی شده، به سه آنتی بیوتیک

اسلامی جهرم به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال سپاس را دارند.

کارشناس ارشد اداره استاندارد و تحقیقات صنعتی و آقای مهدی کارگر کارشناس آزمایشگاه دانشگاه آزاد

References:

- 1.Callaway TR, Elder RO, Keen JE, et al. Forage Feeding to Reduce Preharvest *Escherichia coli* Populations in Cattle , a Review. *J Dairy Sci* 2003; 86: 852-60.
- 2.Boyce T, Swerdlow DL, Griffin PM. *Escherichia coli* O157:H7 and the Hemolytic-Uremic Syndrome. *New Eng J Med* 1995; 333: 364-8.
- 3.Turutoglu H, Ozturk D, GulerL, et al. Presence and Characteristics of Sorbitol-Negative *Escherichia coli* O157 in Healthy Sheep Faeces. *Vet Med* 2007; 52: 301-7.
- 4.Heuvelink AE, Biggelaar FLAM, Zwartkruis-Nahuis JTM, et al. Occurrence of Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* O157:H7 on Dutch Dairy Farms. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 3480-7.
- 5.Paton JC, Paton AW. Pathogenesis and Diagnosis of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infections. *Clin Microbial Rev* 1998; 11: 450-79.
- 6.Kargar M, Heidary S, Abbasian F, et al. [Survey of Prevalence and Antibiotic Susceptibility & Verotoxin Production of E.coli Verotoxigenic (E.coli O157:H7) in Row Milk of Jahrom Cows]. *Iran J Infect Dis Trop Med* 2006; 34: 7-11.
- 7.Islam MA, Heuvelink AE, de Boer E, et al. Shiga-Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolated From Patients with Diarrhoea in Bangladesh. *J Med Microbiol* 2007; 56: 380-5.
- 8.Bidet P, Mariani-Kurdjian P, Grimont F, et al. Characterization of *Escherichia coli* O157:H7 Isolates Causing Haemolytic Uraemic Syndrome in France. *J Med Microbiol* 2005; 54: 71-5.
- 9.Santaniello A, Gargiulo A, Borrelli L, et al. Survey of Shiga-Toxin Producing *Escherichia coli* in Urban Pigeons (*Columba Livia*) in the City of Napoli, Italy. *Ital J Anim Sci* 2007; 6: 313-6.
- 10.Kim J, Kim S, Kwon N, et al. Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 Using Different Detection Methods and Molecular Determination by Multiplex PCR and RAPD. *J Vet Sci* 2005; 6: 7-19.
- 11.Barkocy G, Edwards K, Nou X, et al. Methods for Recovering *Escherichia coli* O157:H7 from Cattle Fecal, Hide, and Carcass Samples: Sensitivity and Improvements. *J Food Prot* 2005; 68: 2264-8.
- 12.Chahed A, China B, Maini J, et al. Prevalence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* from serotype O157 and other attaching and effacing *Escherichia coli* on bovine carcasses in Algeria. *J Appl Microbiol* 2006; 101: 361-8.
- 13.Rena Orr. The Prevalence of *E. coli* O157:H7 in Cattle. International Food Safety Network Infosheet 2000. (Accessed in February 2, 2011, at <http://www.foodsafety.ksu.edu>).
- 14.Pradel N, Bertin Y, Martin C. Molecular Analysis of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Strains Isolated from Hemolytic-Uremic Syndrome Patients and Dairy Samples in France. *App Environ Microbiol* 2008; 74: 2118-28.
- 15.Yilmaz A, Gun H, Ugur M, et al. Detection and frequency of vt1 ,vt2 and eae genes in *Escherichia coli* O157:H7 and O157 strains isolated from cattle, cattle carcasses and abattoir environment in Istanbul. *Int J Food Microbiol* 2006; 106: 213-7.
- 16.Verela-Hernandez JJ, Cabral-Diaz E, Cardona Lopez MA, et al. Isolation and characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157 from beef carcasses at a slaughter plant in mexico. *Int J Food Microbiol* 2007; 113: 237-41.
- 17.Kargar M, Heidary S, Kafilzade F, et al. Isolation & Characterization of Verotoxin Producing E.coli O157:H7 Strains in Row Milk of Jahrom Cows. *J Food Technol Nut* 2009; 3: 62-9.
- 18.Kargar M, Homayoon M, Yaghoobi R, et al. Prevalence of Virulence Genes stx1 , stx2 , hly and eaeA with Multiplex PCR from

- E.coli O157:H7 Strains among Children with Acute Gastroenteritis in Marvdasht. Iran J Infect Dis Trop Med 2009; 44: 7-12.
- 19.Jamshidi A, Basami M, Rasooli M. Isolation and characterization of Escherichia coli O157:H7 in ground meat isolated of meat store by traditional culture and PCR method from mashhad-Iran. Iran J Vet Res 2008; 22: 72-6.
- 20.Estrada-Garcia T, Cerna JF, Paheco-Gil L, et al. Drug- resistant Diarrheogenic Escherichia coli, Mexico. Emerg Infect Dis 2005; 11: 1306-8.
- 21.Byrne CM, Erol I, Call JE, et al. Characterization of Escherichia coli O157:H7 from downer and healthy dairy cattle in the upper midwest region of the united states. Appl Environ Microbiol 2003; 69: 4683-8.
- 22.Ebrahimi A, Ebrahimi S, Aghouli M. Survey of resistance rate of Shigella species isolated from children with diarrhea Fasa, Summer, 1383. Irani South Med J 2009; 12: 225-30.