



## پایش مارکرهای بیماری‌زایی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی اشریشیاکلی O157:H7 تولیدکننده شیگاتوکسین در فروشگاه‌های عرضه‌کننده گوشت شهرستان شیراز

محمد کارگر<sup>۱\*</sup>، موسی دانشور<sup>۱</sup>، مریم همایون<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم

### چکیده

زمینه: اشریشیاکلی O157:H7 تولیدکننده شیگاتوکسین، یکی از پاتوژن‌های متداول در گاو است که به‌طور 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 نپخته در ارتباط است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، به‌صورت 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 بتاگلوکوروئیدازی (تست MUG)، با کمک آنتی‌سرم اختصاصی، سویه‌های *E. coli* O157:H7 تعیین هویت گردید. سپس ژن‌های بیماری‌زای وروتوکسین، اینتیمین 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 کلنی سوربیتول منفی جداسازی گردید که ۳ سویه O157:H7 (فراوانی ۲/۴۵ درصد) با آنتی‌سرم اختصاصی تأیید شد. از سویه‌های مورد بررسی، در دو جدایه هر دو ژن بیماری‌زای *eaeA* و *stx1* (فراوانی ۱/۶۴ درصد) مشاهده گردید. در سویه‌های تأیید شده مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های اریثرومایسین، تراسیکلین، آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین، کلیندامایسین، سفکسیم، نوویوسین و جتتامایسین دیده شد.

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

واژگان کلیدی: اشریشیاکلی O157:H7، شیگاتوکسین، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، گوشت قرمز

دریافت مقاله: ۸۸/۱۰/۱۷ - پذیرش مقاله: ۸۸/۱۱/۲۷

\* جهرم، شهرک خارقان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم

E-mail: mkargar@jia.ac.ir

## مقدمه

سویه‌های اشریشیاکلی O157:H7 تولید توکسین‌هایی مشابه توکسین شیگلا دیسانتری ( *Shigella dysenteriae* ) می‌کنند. به‌همین 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 اشریشیاکلی (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 آلوده 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 احتمال آلودگی آنها با باکتری *E. coli* O157:H7 وجود دارد، می‌توان به همبرگر، گوشت چرخ‌کرده، شیر، ماست، پنیر، سبزیجات، آب میوه‌ها (به‌ویژه آب‌سیب)، جوانه‌ترب و یونجه اشاره کرد (۴). بیماری‌زایی سویه‌های *E. coli* O157:H7 در ارتباط با عواملی مانند: دو سیتوتوکسین کد شونده توسط فاز، 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).

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 اپی‌تلیوم روده ایجاد اسهال خونی می‌کنند. ایتیمین نیز پروتئین سطحی ضروری برای ایجاد آسیب‌های A/E بر روی سلول‌های اپی‌تلیال 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). به‌طور کلی، فرایند بیماری‌زایی دربرگیرنده چندین نوع برهم‌کنش 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 ارگانیزم) 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 نمونه‌ی گوشت چرخ‌کرده مخلوط گاو و گوسفند به‌صورت نمونه‌های ۲۰۰ گرمی از

(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)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، آمیکاسین (۱۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، نوویوسین (۵ میکروگرم)، سفکسیم (۳۰ میکروگرم) و کلیندامایسین (۱۰ میکروگرم) انجام گردید (۸).

استخراج DNA با استفاده از کیت  $TM\text{DNP}$  (شرکت سیناژن) انجام گرفت. برای انجام روش Multiplex PCR به منظور ارزیابی هم‌زمان ژن‌های بیماری‌زا، از پرایمرهای معرفی شده توسط سانتانیلو (Santaniello) در سال ۲۰۰۷، در شرایط حرارت ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۳ دقیقه (واسرشت 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 USA, Il, Chicago, Inc) نسخه ۱۳ و آزمون مربع 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 میکروبی‌شناسی اداره استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران در شیراز انتقال داده شد.

سپس به منظور غنی‌سازی ۲۵ گرم گوشت چرخ‌کرده به ۲۲۵ میلی‌لیتر محیط اشیشاکلی براث ( $E. coli$  broth = ECB) شرکت Oxoid واجد ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نوویوسین ( $\sigma$ ) اضافه گردید.

پس از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در حرارت ۳۰ درجه سانتی‌گراد، از محیط یاد شده بر روی محیط سوربیتول مک‌کانکی آگار (sorbitol-MacConkey agar = SMAC) شرکت Lab.M حاوی ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر سفیکسیم شرکت (Oxoid) و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر تلوریت پتاسیم شرکت (Oxoid) تلقیح و در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شد. برای ارزیابی تخمیر لاکتوز و تعیین هویت باکتری‌های جداسازی شده از محیط‌های ویولت رد بایل آگار ( $\text{violet red bile agar} = \text{VRBA}$ ) شرکت Merck و ائوزین متیلن بلو آگار (EMB=Eosin Methylene Blue) شرکت Merck استفاده گردید.

همچنین به منظور بررسی فعالیت بتاگلوکورونیدازی، باکتری‌های تأیید شده به عنوان اشیشاکلی بر روی محیط کروموآگار اختصاصی O157 کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  گرم‌خانه‌گذاری شدند. تأیید نهایی کلنی‌های سوربیتول منفی و بتاگلوکورونیداز منفی با استفاده از تست آگلوتیناسیون با آنتی‌سرم اختصاصی O157:H7

نتایج حاصل از بررسی حساسیت دو سویه *E. coli* O157:H7 در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی، نشان‌دهنده مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومايسين، تتراسيكلين، آمپي سيلين، پني سيلين، کلیندامایسین، سفکسیم، نوویوسین و جتتامایسین بود. همچنین یک باکتری به آنتی‌بیوتیک‌های سولفامتوکسازول، تری‌متوپریم و کرامفنیکل مقاوم و یک باکتری نیز به این دو آنتی‌بیوتیک حساس بود. هر دو باکتری اشریشیا کلی O157:H7 جداسازی شده از نمونه‌های گوشت چرخ کرده در این پژوهش، نسبت به آنتی‌بیوتیک آمیکاسین حساس بودند.

### بحث

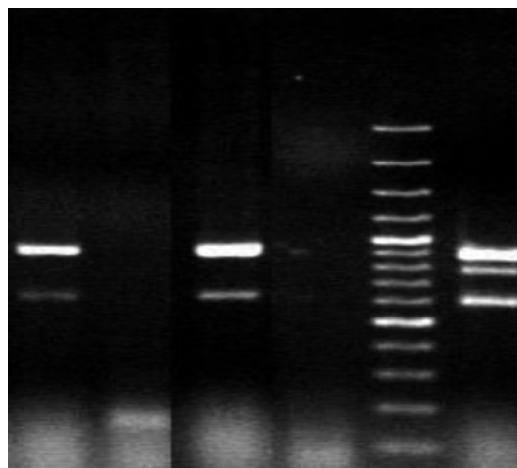
جداسازی سویه‌های *E. coli* O157:H7 از مدفوع گوسفندان سالم نشان‌دهنده شواهد اپیدمیولوژیکی ارتباط بین بیماری انسان و مصرف محصولات آلوده با کودهای حیوانی می‌باشد (۳). *E. coli* O157:H7 یک پاتوژن انسانی منسوب به گاوسانان است و بنابراین توانایی آلوده کردن گوشت قرمز را دارد. همچنین به دلیل توانایی استقرار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

تقریباً ۳۰ درصد گاوسانان ناقلین بدون علامت *E. coli* O157:H7 هستند. بنابراین، روش‌هایی 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 نمونه‌های جمع‌آوری 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 نمونه‌های مورد بررسی از ۱۱۹ نمونه (فراوانی ۹۷/۵۴ درصد)، در محیط CT-SMAC کلنی‌های سوربیتول منفی جداسازی گردید که پس از کشت بر روی محیط‌های اختصاصی، از ۱۹ نمونه (فراوانی ۱۵/۵۷ درصد) اشریشیاکلی جداسازی شد. با استفاده از آزمون کای دو مشخص گردید که بین عدم تخمیر سوربیتول و محل نمونه‌گیری رابطه معنی‌داری وجود دارد ( $P=0/02$ ).

از نمونه‌های مورد بررسی ۱۰ نمونه (فراوانی ۸/۱۹ درصد) فاقد فعالیت بتاگلوکورونیدازی (تست منفی MUG) بودند که از این تعداد، ۳ سویه O157:H7 (فراوانی ۲/۴۵ درصد) با استفاده از آنتی‌سرم O157:H7 تأیید گردید. از مارکرهای بیماری‌زای مورد بررسی، ژن‌های *eae* (۸۹۰ bp) و *stx1* (۶۱۴ bp) در دو باکتری (فراوانی ۱/۶۴ درصد) مشاهده گردید (شکل ۱).



شکل ۱) نمایش ژن‌های بیماری‌زای تعیین شده با روش Multiplex PCR توسط پرایمرهای اختصاصی بر روی ژل آگاروز. کنترل مثبت واجد ژن‌های *stx1* (614 bp)، *stx2* (779 bp) و *eae4* (۸۹۰ bp) (۱)، مارکر 100 bp (۲)، کنترل منفی (۳)، نمونه‌های مثبت (۴ و ۶) و نمونه منفی (۵).

جداسازی شده از لاشه‌های گوشت، از نظر وجود ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eae* مثبت بودند (۱۶). در پژوهش ما در سویه‌های جداسازی شده فقط ژن‌های *stx1* و *eae* مشاهده گردید. یکی از ویژگی‌های باکتری *E. coli* O157:H7 تفاوت در فاکتورهای ویروالانس 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 ویروالانس 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 مدفوع کودکان زیر ۵ سال در شهرستان مرودشت، از ۶۱۵ نمونه مورد بررسی از ۷ کودک (فراوانی ۱/۱۴ درصد)، باکتری *E. coli* O157:H7 جداسازی گردید و تنها در یکی از سویه‌های جدا شده ژن‌های *stx1* و *eaeA* (فراوانی 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 (فراوانی 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 ۱/۰۲ درصد (توتال 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 پروبیوتیک به منظور کاهش مقدار *E. coli* O157:H7 در گاوهای زنده و به‌دنبال 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 شینگا توکسین‌های *stx1*، *stx2* و واریته‌های *stx2* بود. البته واریته‌های اختصاصی میزبان‌هایی مثل گوسفند (*stx2d*) 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 *eaeA*، *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

شناسایی و از دو باکتری ژن‌های *eae* و *stx1* (فراوانی 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 گسترده‌تر بر روی نمونه‌های کلینیکی، مواد غذایی و مواد لبنی در مدت زمان طولانی‌تر می‌باشد. با توجه به این‌که ممکن است تنها استفاده از روش سرولوژی برای تأیید باکتری *E. coli* O157:H7 کارایی لازم را نداشته باشد، به‌همین دلیل به‌منظور 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 آنتی‌بیوتیکی بالایی را از خود نشان داده‌اند. یکی از مسائلی که باعث افزایش اهمیت *E. coli* O157:H7 می‌شود، وجود مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری است (۲۰).

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

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

آمپی‌سیلین، نوویوسین و پنی‌سیلین مقاومت داشتند و ۷۲/۲ درصد آن‌ها نیز حداقل به یک یا دو آنتی‌بیوتیک نیمه مقاوم بودند (۶). سویه‌های جداسازی شده در این پژوهش نیز به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بودند. افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در نقاط مختلف دنیا به‌عنوان یک مشکل اساسی مطرح می‌باشد و اطلاع از حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی، در درمان نقش اساسی دارد (۲۲). به‌طور 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 مسأله باشد. از این رو بررسی هم‌زمان نمونه‌های کلینیکی و مواد غذایی و پایش مارکرهای مولکولی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌تواند به فهم بهتر اهمیت بیماری‌زایی و شیوع آن در ایران کمک نماید. همچنین گوشت چرخ‌کرده نیز به‌دلیل تنوع منشا دامی و میزان قابل توجه مصرف می‌تواند هدف مناسبی برای پایش شیوع باکتری *E. coli* O157:H7 محسوب شود. با توجه به این‌که باکتری *E. coli* O157:H7 نرمال فلورای روده گاوسانان می‌باشد، پایش مکرر این باکتری ضروری به‌نظر می‌رسد. همچنین این باکتری را می‌توان به‌عنوان یک شاخص بهداشتی به‌منظور ارزیابی آلودگی گوشت در نظر گرفت. از طرفی توصیه‌های بهداشتی در زمان انتقال دام و تهیه گوشت، می‌تواند در کاهش آلودگی محصولات دامی مؤثر باشد.

### تشکر و قدردانی:

نویسندگان این مقاله از سرکار خانم مهین خیمه‌کبود

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, Guler L, 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 Microbiol 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-Kurkdjian 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, Cabrera-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.