پژوهنده (مجله پژوهشي دانشگاه علوم پزشكي شهيد بهشتي)
سال دوازدهم, شماره ۲, پي در پي ۵۶ ، صفحات ۱۰۷ تا ۱۱۴
خرداد و تير ۱۳۸۶

تاريخ دريافت مقاله ۸۵/۶/٤
تاريخ پذيرش مقاله ۸۵/۹/۱۵

جدا سازي اشرشياكلي مولد شيگا توكسين (STEC) در نمونه هاي گوشت جمع آوري شده از تهران با روش PCR و بررسي ا لگوي مقاومت آنتي بيوتيكي سويه هاي جدا شده

فهيمه باغباني آراني[1] *، دكتر سياوش سلمانزاده اهرابي[2]، فرشته جعفري[3]، عفت حبيبي[4] ، دكتر محمد رضا زالي[5]

چكيده

سابقه و هدف: *باكتري اشرشياكلي مولد توكسين شيگا (STEC)، به عنوان يک پاتوژن ناشي از غذا از نظر سلامت عمومي در دنيا مهم بوده و در بسياري از همه گيري ها و موارد تک گير، گزارش شده است. مطالعات در کشورهاي مختلف بيانگر آن است که احتمال آلودگي مواد غذاي با اين پاتوژن وجود دارد. مطالعه حاضر، با هدف بررسي فراواني آلودگي نمونه هاي گوشت در تهران با STEC، تعيين ژنوتيپ باکتري هاي جدا شده وارزيابي الگوي مقاومت آنتي بيوتيکي آن ها، انجام شد.*

مواد و روش ها: *در اين مطالعه توصيفي دويست و پنجاه نمونه گوشت خام از قصابي هاي مناطق مختلف تهران در طي مدت يک سال از تاريخ ۱۳۸۳/۳/۱ تا ۱۳۸۴/۳/۱ جمع آوري و براي جدا سازي STEC از نمونه هاي گوشت، از روش هاي معمولي کشت و تشخيص ملکولي PCR استفاده شد. سپس الگوي مقاومت آنتي بيوتيکي سويه ها با روش استاندارد انتشار ديسک تعيين گرديد.*

يافته ها: *از بين ۲۵۰ نمونه، ٤۷(۱۸/۸%) نمونه PCR مثبت بودند ولي فقط۳۰ (۱۲%) سويه با موفقيت جدا شد، که از بين آنها، ۲٤(۸۰%) سويه داراي ژن stx_2 ، دو سويه (۶/۷%) هم ژن stx_2 وهم stx_1 را داشته و ٤ (۱۳/۳%) سويه داراي stx_2 و eae مثبت بودند. در تست مقاومت آنتي بيوتيکي همه سويه ها به جنتامايسين، نوروفلوکساسين، انروفلوکساسين، ايمي پنم،ناليديکسيک اسيد، سيپروفلوکسازين و سفتازيديم حساس بودند. درصد مقاومت به آنتي بيوتيک ها عبارت بود از: اولندومايسين ۱۰۰%، اريترومايسين۱۰۰%، سفالوتين۶۷%، آموکسي سيلين-کلاولانيک اسيد ٤۶/۶%، کلروتتراسايکلين۱۳/۳%، تتراسايکلين۱۰%، استرپتومايسين۶/۶%.*

نتيجه گيري: *يافته هاي اين مطالعه نشان مي دهد که امکان آلوده بودن گوشت خام با STEC و مقاوم بودن اين باکتري با عوامل آنتي بيوتيکي وجود دارد و اقدامات پيشگيرانه به منظور جلوگيري از آلودگي گوشت با اين باکتري لازم مي باشد.*

واژگان کليدي: *STEC ، گوشت ، **PCR** ، مقاومت آنتي بيوتيکي*

مقدمه

اشرشيا کلي مولد توکسين شيگا STEC يک پاتوژن مهم در بيماري هاي ناشي از غذا مي باشد و تاکنون چندين همه گيري ناشي از غذا در سراسر جهان را مرتبط با اين باکتري دانسته اند (۱و۲). آلودگي بااين ارگانيسم باعث اسهال آبکي و خوني مي شود و ازعوارض بعدي عفونت با اين باکتري به ويژه با سروتيپ O157:H7 آن، مي توان

۱ *. نويسنده مسؤول : کارشناس ارشد ژنتيک،عضو باشگاه پژوهشگران جوان (دانشگاه آزاد اسلامي)،محقق مرکز تحقيقات گوارش و کبد،دانشگاه علوم پزشکي شهيد بهشتي. آدرس: تهران، ولنجک، بيمارستان طالقاني، مرکزتحقيقات گوارش و کبد،بخش **Food born**. پست الکترونيکي: **fbarani58@yahoo.com***
۲ . استاديار، مرکز تحقيقات گوارش و کبد،دانشگاه علوم پزشکي شهيد بهشتي
۳ . کارشناس ميکرو بيولوژي، محقق مرکز تحقيقات گوارش و کبد،دانشگاه علوم پزشکي شهيد بهشتي
۴ . کارشناس ارشد ميکرو بيولوژي، محقق مرکز تحقيقات گوارش و کبد،دانشگاه علوم پزشکي شهيد بهشتي
۵ . استاد،رئيس مرکز تحقيقات گوارش و کبد،دانشگاه علوم پزشکي شهيد بهشتي

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-09-12]

به كوليت هموراژيک و سندرم اورميک هموليتيک اشاره كرد (۳).

بيش از صد سروتيپ از *E.coli* شناسايي شده است كه توانايي توليد شيگا توكسين را داشته و داراي يكي از ژن هاي *stx1* يا stx_2 يا هر دو آنها و يا واريانت هايي از stx_2 هستند كه محل اين ژنها بر روي باكتريوفاژ ليزوژنيک مي باشد. علاوه بر توليد توكسين، ديگر فاكتور ويرولانس مرتبط باSTEC ، پروتئيني به نام Intimin با وزن ملكولي 94-KDa و موجود در غشاي خارجي باكتري است كه مسئول چسبندگي به سلولهاي اپيتليوم روده مي باشد و توسط ژن *eae* رمز مي شود (۴).

آلودگي انسان با اين باكتري از طريق مصرف مواد غذايي و آب آلوده يا انتقال شخص به شخص صورت مي گيرد (۵) و تاكنون حضور STEC در چندين ماده غذايي از جمله گوشت قرمز و گوشت ماهي گزارش شده است (۶و۷). در حالي كه در كشورهاي پيشرفته، مطالعات زيادي انجام شده است در مورد وضعيت اين باكتري در كشورهاي در حال توسعه، اطلاعات در مورد بسيار محدود مي باشد. از سوي ديگر با توجه به اينكه يكي از روشهاي درماني براي آلودگي با اين باكتري، تجويز آنتي بيوتيک ها مي باشد (۸) و مقاومت باكتريها به عوامل آنتي بيوتيكي در حال افزايش روزافزون است، بررسي حساسيت آنتي بيوتيكي سويه ها به منظور به تعيين راهكارهاي درماني مناسب، لازم مي باشد.

بر اين اساس، مطالعه حاضر با هدف تعيين فراواني آلودگي در نمونه هاي گوشت جمع آوري شده در تهران با باكتري اشرشيا كلي مولد شيگا توكسين، تعيين ژنوتيپ آن ها و نيز بررسي الگوي مقاومت آنتي بيوتيكي سويه هاي جدا شده انجام شده است.

مواد و روشها

در اين مطالعه توصيفي، دويست و پنجاه نمونه گوشت قرمز در طي مدت يک سال از تاريخ ۱۳۸۳/۳/۱ تا ۱۳۸۴/۳/۱ با رعايت توزيع متناسب تعداد نمونه در پنج منطقه شمال، غرب، شرق، مركز و جنوب شهر تهران، از قصابي هاي اين مناطق به طور تصادفي جمع آوري و اين نمونه برداري از گوشت ها به صورت تكه اي و چرخ كرده صورت گرفت. نمونه هاي تهيه شده روي يخ نگهداري و به آزمايشگاه انتقال داده شدند. ۲۵ گرم از هر نمونه در ml ۲۲۵ محيط غني كننده EC-broth حاوي آنتي بيوتيک نوبيوسين (100mg/ml) قرار داده شده و با دستگاه Stomacher هموژنيزه گرديد. سپس به مدت ۲۰ ساعت دردماي° ۳۷ انكوبه شد. µg ۱۰۰ از محيط غني شده EC-broth پس از انكوباسيون در پپتون واتر (كلريد سديم ۵% و ۱% تريپتون) رقيق شده و بعد روي محيط مک كانكي آگار برده و يک روز دردماي ° ۳۷ انكوبه گرديد. سپس مقداري از باكتري موجود در ناحيه اوليه كشت روي محيط مک كانكي آگار را برداشته و استخراج DNA از آن با روش جوشاندن انجام شد.

دو واكنش متمايز PCR با پرايمرهاي اختصاصي ژن هاي stx_1 ، stx_2 براي هر نمونه انجام شد(۹). محصول PCR روي ژل آگارز ۱/۳ % الكتروفرز شده و سپس با اتيديوم برماید رنگ آميزي گرديد. از *Escherichia coli* EDL933 بعنوان كنترل مثبت درPCR استفاده گرديد. سپس براي تعيين كلون هاي مؤثر در مثبت شدن PCR اوليه، PCR هاي بعدي روي DNA استخراج شده از كشت خالص حاصل از كلوني هاي اوليه انجام گرفت. در مرحله بعد سويه هاي بدست آمده توسط تست هاي بيوشيميايي به عنوان *E.coli* تاييد شدند. براي تعيين وضعيت ژن *eae* در سويه هاي جداشده، PCR روي اين ژن هم انجام شد (۱۰). ژن هاي هدف، توالي پرايمرها و طول قطعه تكثير شده در جدول شماره ۱ آورده شده است.

براي تعيين حساسيت سويه هاي STEC بدست آمده

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-09-12]

نسبت به داروهاي آنتي بيوتيک، روش ديسک ديفوزيون بر اساس استاندارد Kirby-bauer و برروي محيط آگار دار مولر هينتون صورت گرفت (۱۱). براي اين منظور، مقداري از کلني باکتري از کشت خالص روي محيط مک کانکي آگار وارد محيط کشت TSB شده و به مدت ۲ تا ۴ ساعت در دماي ° ۳۷ تا مشاهده يک کدورت واضح منطبق با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند، انکوبه گرديد. پس از آن قطر هاله عدم رشد برحسب ميلي متر اندازه گيري شده و با استفاده از جدول استاندارد NCCLS، ميزان حساسيت باکتري نسبت به آنتي بيوتيک به صورت حساس، نيمه حساس و مقاوم گزارش شد. *E.coli* ATCC25222 بعنوان کنترل کيفي ديسک ها استفاده گرديد. ديسک هاي آنتي بيوتيکي به کار رفته عبارت بودند از: استرپتومايسين، اولندومايسين، جنتامايسين، نوروفلوکسا سين، انروفلوکساسين، اريترومايسين، آموکسي سيلين کلاولانيک اسيد، ايمي پنم، کلروتتراسايکلين، تتراسايکلين،ناليديکسيک اسيد، سيپروفلوکساسين، سفتازيديم و سفالوتين.

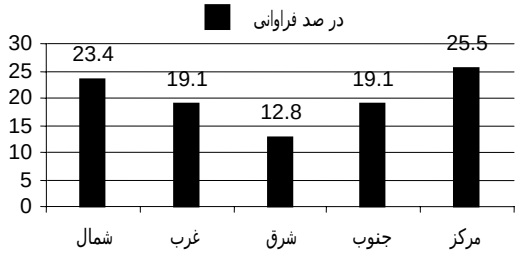
سپس اطلاعات حاصله توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۱/۵ با استفاده از تست مربع کاي يا دقيق فيشر تجزيه و تحليل شد و P-value کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماري معني دار تلقي گرديد.

جدول۱- ژنهاي هدف، توالي پرايمرها و طول قطعه تکثير شده

ژن هدف	توالي پرايمر (5’-3’)	طول محصول PCR (bp)
stx1	CAGTTAATGTGGTGGCGAG CTGCTAATAGTTCTGCGCTC	۸۹٤
stx2	CTTCGGTATCCTATTCCCGG GGATGCATCTCTGGTCATG	٤۷۸
eae	TGCGGCACAACAGGCGGCA CGGTCGCCGCACCAGGATC	٦۲۹

يافته ها

از ۲۵۰ نمونه گوشت گاو مورد آزمايش ۴۷ (۱۸/۸%) نمونه در تست PCR مثبت بود. اما در اين مطالعه تنها ۳۰ (۱۲%) سويه با موفقيت خالص گرديد. فراواني STEC در نمونه هاي گوشت در مناطق مختلف تهران در نمودار ۱ نشان داده شده است. بطوري که بيشترين فراواني در مرکز (۲۵/۵%) و کم ترين فراواني در شرق (۱۲/۸%) ديده شد. اما رابطه معني داري بين فراوانيSTEC در گوشت و منطقه جمع آوري نمونه ها وجود نداشت. درصد حضورSTEC در



نمودار ۱- فراواني STEC در نمونه هاي گوشت در مناطق مختلف تهران در فاصله زماني ۱۳۸۳/۳/۱ تا ۱۳۸۴/۳/۱

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-09-12]

گوشت چرخ كرده (۳۱/۶۴) ۱۸/۹% و در گوشت تكه اي (۱۶/۸۶) ۱۸/۶% بود كه اين نتايج نشان داد رابطه معني داري بين نوع گوشت و فراواني اين باكتري در آن وجود ندارد.

جدول۲- الگوي حساسيت آنتي بيوتيكي سويه هاي STEC جداشده از نمونه هاي گوشت درمناطق مختلف تهران در فاصله زماني ۱۳۸۳/۳/۱ تا ۱۳۸۴/۳/۱

آنتي بيوتيک	حساس	نيمه حساس	مقاوم
استرپتومايسين	%۸۳/٤	%۱۰	%٦/٦
اولندومايسين	-	-	%۱۰۰
جنتامايسين	%۱۰۰	-	-
نوروفلوكسازين	%۱۰۰	-	-
انروفلوكسازين	%۱۰۰	-	-
اريترومايسين	-	-	%۱۰۰
كو آموكسي كلاو	%٤٦/۷	%٦/٦	%٤٦/۷
ناليديكسيک اسيد	%۱۰۰	-	-
سيپروفلوكسازين	%۱۰۰	-	-
ايمي پنم	%۱۰۰	-	-
كلروتتراسايكلين	%٦۳/۳	%۲۳/٤	%۱۳/۳
تتراسايكلين	%۹۰	-	%۱۰
سفتازيديم	%۱۰۰	-	-
سفالوتين	%۳۳	-	%۶۷

از بين اين ۳۰ سويه جداشده، ۲۴ (۸۰%) سويه فقط ژن stx_2 را داشتند, در حالي كه ۲ (۶/۷%) سويه هر دو ژن stx_2 وstx_1 را دارا و ۴ (۱۳/۳%) سويه هم همزمان حاوي ژنهاي stx_2 وeae بودنـد. آنتـي بيوگرام براي تعيين ميزان حساسيت و مقاومت آنتي بيوتيكي سويه هاي STEC جدا شده صورت گرفت كه نتايج آن در جدول۲ ارائه گرديده.

مقاومت به اولندومايسين و اريترومايسين صد در صد بود. در حالي كه مقاومت نسبي به استرپتومايسين، آموكسي سيلين-كلاولانيک اسيد، سفالوتين، لروتتراسايكلين و تتراسايكلين هم مشاهده شد. الگوي مقاومت چندگانه هم در بين سويه ها وجود داشت بطوري كه ۳/۳% به ۶ آنتي بيوتيک، ۱۸/۸% به ۵ آنتي بيوتيک و۳۰% به ۴ آنتي بيوتيک مقاوم بودند.

بحث

بيماري هاي ناشي از غذا يكي از مسايل عمده بهداشتي در اكثركشورهاي جهان بوده و در اين ميان STEC به عنوان يكي از عوامل مهم بيماريزاي ناشي از غذا در همه گيري ها و حتي در موارد تک گير محسوب مي شود. لذا روش هاي تشخيص و شناسايي صحيح و دقيق اين باكتري هم در بيماران و هم در منابع غذايي داراي اهميت ويژه مي باشد. با توجه به دقت كم و زمان بر بودن روش هاي شناسايي كلاسيک، روش هاي مولكولي به ويژه PCR امروزه در حال گسترش مي باشد به طوري كه شناسايي STEC در مواد غذايي از طريق تكثير ژن هاي بيماريزا با روش PCR درچندين مطالعه گزارش شده است (۱۴-۱۲).

در اين مطالعه PCR براي بررسي حضور STEC در نمونه هاي گوشت گاو استفاده شد. PCR بدون مرحله كشت و غني سازي، تمام باكتري هاي موجود اعم از باكتري هاي مرده را هم مي تواند شناسايي كند بنابراين عدم توانايي PCR در تمايز قائل شدن بين سلول زنده و مرده مي تواند نقطه ضعفي براي اين روش تشخيصي باشد كه در اين مطالعه براي غلبه بر اين مساله، تست PCR بعد از مرحله كشت و غني سازي انجام شد و در نتيجه نتايج بدست آمده، نشان دهنده حضور باكتري زنده است كه توانايي بيماريزايي دارد.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-09-12]

بررسي وجود STEC در مواد غذايي به ويژه گوشت و محصولات وابسته در چندين كشور انجام شده است. اما در ايران بر اساس اطلاعات موجود اين اولين مطالعه است كه با اين روش بر روي گوشت گاو و ميزان آلودگي آن با STEC انجام مي گردد. در دانمارک ۰/۳% از ۱۵۸۴ نمونه مورد آزمايش با *E.coli* O157:H7 آلوده بود (۱۵) و ميزان آلودگي با STEC در سويس در بين ۲۱۱ نمونه مطالعه شده ۲/۸% گزارش شده است (۱۶). در آرژانتين هم ۳/۵% آلودگي به*E.coli* O157:H7 نشان داده شده است (۱۷). همچنين در مطالعه اي در هند كه روش شناسايي به كار رفته PCR بود,۵۰% آلودگي با STEC گزارش شده, هر چند فقط چهار سويه (۳/۶%) خالص گرديده است (۱۳). اين در حالي است كه در مطالعه حاضر ۱۸/۸% نمونه ها براي حضور STEC مثبت بودند كه اين مقدار آلودگي زياد بوده و نشان دهنده عدم رعايت اصول بهداشتي در زنجيره توليد و توزيع اين ماده غذايي در تهران مي باشد و ضرورت انجام اقدامات پيشگيرانه به منظور جلوگيري از آلودگي گوشت گاو با اين باكتري را بيان مي كند.

در اين مطالعه سويه هاي جداشده داراي ژنوتيپ هاي مختلفي بودند و stx_2 فاكتور بيماريزاي غالب (۸۰%) در ميان سويه ها بود. در بررسي ديگري كه سلمانزاده اهرابي و همكاران در سال ۲۰۰۵ بر روي نمونه هاي اسهال كودكان در تهران انجام دادند stx_2 (۸۳%) بيشترين فراواني را نشان داد (۱۸) بنابراين ژنوتيپ غالب در بين سويه هاي STEC دراين منطقه (هم نمونه هاي اسهال و هم گوشت گاو) stx_2 مي باشد. نكته جالب توجه اين است كه در اين مطالعه فراواني ژن *eae* بين سويه هايSTEC ۱۳/۳% و همچنين در نمونه هاي اسهالي مطالعه شده توسط سلمانزاده اهرابي و همكاران نيز ۲۳% سويه ها حاوي ژن *eae* بودند (۱۸) كه اين مطلب مي تواند نشاندهنده فراواني نسبتاً پايين اين ژن در سويه هاي STEC در اين منطقه باشد. از طرفي جداسازي سويه هاي STEC فاقد *eae*, احتمال وجود ديگر عوامل چسبندگي را تقويت ميكند.

STEC عموماً به عوامل آنتي بيوتيكي حساس مي باشد. هر چند گزارشات در رابطه با مقاومت اين باكتري نسبت به آنتي بيوتيک ها در سويه هاي جداشده از انسان و حيوانات در حال افزايش است (۱۹و۲۰). در يک مطالعه در اسپانيا در سال ۲۰۰۵ كه بر روي STEC جداشده از منابع انساني، حيواني و مواد غذايي انجام شده بود, ۳۲% سويه ها به تتراسايكلين و ۲۹% به استرپتومايسين مقاوم بودند (۲۱). در بررسي ديگري در هند در سال ۲۰۰۲، از ۶۳ سويه STEC مورد آزمايش مقاومت به تتراسايكلين (۲۳/۸%) و استرپتومايسين (۱۴/۳%) ديده شد (۲۰) كه مقاومت به اين دو آنتي بيوتيک در اين مطالعه هم مشاهده مي شود. نكته قابل ذكر ديگر اين است كه در اين مطالعه سوش هاي STEC علاوه بر تتراسايكلين به مشتق آن يعني كلروتتراسايكلين هم مقاومت نشان داده اند. بنابراين كلروتتراسايكلين نمي تواند جايگزين مناسبي براي اين آنتي بيوتيک در عفونت با STEC در انسان و حيوان باشد. با توجه به داروي انتخابي عفونت هاي ناشي از STEC كه عمدتاً شامل داروهايي از گروه كينولون ها، ماكروليدها و سفالوسپورين ها مي باشد (۲۱), در اين مطالعه حساسيت باكتري هاي جدا شده نسبت به اين گروه از آنتي بيوتيک ها نيز بررسي شد كه از گروه كينولون ها نوروفلوكساسين، انروفلوكساسين،ناليديكسيک اسيد و سيپروفلوكساسين مورد آزمايش قرار گرفتند كه تمامي سوش هاي جدا شده به اين آنتي بيوتيک ها حساس بودند. مقاومت ۱۰۰% به اريترومايسين كه جزو گروه ماكروليدها مي باشد نكته قابل توجهي است كه در برنامه درماني بايد مورد توجه قرار گيرد. نتايج نشان مي دهد حساسيت به سفتازيديم از گروه سفالوسپورين ها ۱۰۰% بوده, در حاليكه ميزان مقاومت ۶۴% نسبت به سفالوتين كه عضو ديگر گروه سفالوسپـورين هاست

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-09-12]

وجود داشت كه قابل ملاحظه مي باشد. الگوي مقاومت چندگانه – به ويژه نسبت به آنتي بيوتيک هايي كه عموماً در پزشكي استفاده مي شود- اخيراً مورد توجه محققين قرار گرفته و در چندين مطالعه گزارش شده است (۲۴-۲۲) كه در اين مطالعه هم ما شاهد چنين مسأله اي هستيم. به طور كلي نتايج بدست آمده و مشاهده مقاومت نسبي در بين سوش هاي جدا شده، از يک طرف احتياط در استفاده از آنتي بيوتيک ها را در حيوانات گوشزد ميكند و از طرف ديگر لزوم مطالعات بيشتر به ويژه روي بيماران و همچنين انجام آزمون حساسيت آنتي بيوتيكي قبل از درمان را پيشنهاد مي كند.

تشكر و قدرداني

نويسندگان از كليه افرادي كه در طول انجام اين پژوهش ما را ياري دادند بويژه آقاي دكترحميد محقق شلماني وآقاي دكترحسين دبيري كه در تدوين مقاله از نظرات ارزشمندشان استفاده شد، صميمانه تشكر و قدرداني مي نمايند.

REFERENCES

1. Karmali MA. Infection by Verocytotoxin-producing- Escherichia coli. Clin Microbiol Rev 1989;2:15-38.
2. Ostroff SM, Griffin PM, Tauxe RV, Shipman LD, Greene KD, Wells JG, et al. A statewide outbreak of Escherichia coli O157:H7 infections in Washington State. Am J Epidemiol 1990;132:239-47.
3. Tarr PI. Escherichia coli O157:H7 clinical diagnostic and epidemiological aspects of human infection. Clin Infect Dis 1995;20:1-8.
4. Louie M, de Azavedo JCS, Handelsman MYC. Expression and characterization of the eaeA gene product of Escherichia coli serotype O157:H7. Infect Immun 1993;61:4085-92.
5. Armstrong GL, Hollingsworth J, Morris JG. Emerging foodborne pathogens: Escherichia coli O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. Epidemiol Rev 1996;18:29-51.
6. Doyle MP, Schoeni JL. Isolation of Escherichia coli O157:H7 from retail fresh meats and poultry. Appl Environ Microbiol 1987;53:2394-6.
7. Samadpour M, Ongerth JE, Liston J, Tran N, Nguyen D, Whittam TS, et al. Occurrence of shiga-like toxin-producing Escherichia coli in retail fresh seafood, beef, lamb, pork, and poultry from grocery stores in Seattle, Washington. Appl Environ Microbiol 1994;60:1038-40.
8. Sagara H. Treatment of enterohemorrhagic Escherichia coli O157 in human. Proc Jpn Soc Antimicrob Anim 2000;21:31-6.
9. Olsvik O, Strockbine NA. PCR detection of heat-stable, heat-labile, and shiga-like toxin genes in Escherichia coli. In: Persing DH, Smith TF, Tenover, FC, White TJ, eds. Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications. Washington, DC: ASM Press. 1993. pp:271-6.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-09-12]

10. Heuvelink AE, van de Kar NC, Meis JF, Monnens LA, Melchers WJ. Characterization of verocytotoxin-producing Escherichia coli O157isolates from patients with haemolytic uraemic syndrome in Western Europe. Epidemiol Infect 1995;115:1–14.

11. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance standards for antimicrobial disc-A5. Villanova, Pa.USA. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1993.

12. Kumar SH, Otta SK, Karunasagar I. Detection of shigs –toxingenic Escherichia coli (STEC) in fresh seafood and meat marketed in Mangalore, India by PCR. J Microbiol 2001;33:334-8.

13. Khan AS, Yamasaki TS. Prevalence and genetic profiling of virulence determinants of non-O157 Shiga toxin producing Escherichia coli isolated from cattle, beef and human cases in Calcutta, India. Emerg Infect Dis 2002; 8:54-62.

14. Adwan GM and Adwan KM. Isolation of shiga toxigenic Escherichia coli from raw beef in Palestine. Int J Food Microbiol 2004;97:81-4.

15. Boel J, Aabo S, Mariager B. Prevalence of Escherichia coli O157 in meat in Denmark. Abstr V129/II in VTEC97 3rd International Symposium and Workshop on shiga toxin (vero toxin)-producing Escherichia coli infection, Baltimore, MD, USA 1997.

16. Fantelli K, Stephan R. Prevalence and characterization of shiga-toxin producing Escherichia coli and listeria mono cytogenes strains isolated from minced meat in Switzerland. Int J Food Microbiol 2001;70:63-9.

17. Chinen I, Tanaro JD, Miliwebsky E, Lound LH, Chillemi G, Ledri S, et al. Isolation and characterization of Escherchia coli O157:H7 from retail meats in Argentin. J Food Prot 2001;64:1346-51.

18. Salmanzadeh AS, Habibi E, Jaffari F, and Zali MR.Molecular epidemiology of Escherichia coli diarrhoea in children in Tehran. Ann Trop Paediat 2005;25:35-9.

19. Dontorou C, Papadopoulou C, Filioussis G, Economou V, Apostolou I, Zakkas G, et al. Isolation of Escherichia coli O157:H7 from foods in Greece. Int J Food Microbiol 2003;82:273-9.

20. Khan A, Das SC, Ramamurthy T. Antibiotic Resistance, Virulence Gene, and Molecular Profiles of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli Isolates from Diverse Sources in Calcutta, India. J Clin Microbiol 2002;40(6):2009-15.

21. Mandel GL, Bennet JE, Dolin R (eds). Principle and practice of infection disease.6th ed.New York, Churchill Livingslone 2005. pp:2655-60.

22. Mora A, Blanco JE, Blanco M, Alonso MP, Dhabi G, Echeita A, et al. Antimicrobial resistance of Shiga toxin (verotoxin)-producing Escherichia coli O157:H7 and non-O157 strains isolated from humans, cattle, sheep and food in Spain .Res Microbiol 2005;156(7):793-806.

23. Zhao S, White DG, Beilei Ge. Identification and Characterization of Integron-Mediated Antibiotic Resistance among Shiga Toxin-Producing Escherichia coli Isolates. Appl Environ Microbiol 2001; 67(4): 1558–64.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-09-12]

24. Schroeder CM, Zhao C, Roy CD. Antimicrobial Resistance of Escherichia coli O157 Isolated from Humans, Cattle, Swine, and Food. Appl Environ Microbiol. 2002; 68(2): 576–81.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-09-12]