ارزیابی روش های مختلف غنی سازی ، میزان شیوع و مقاومت آنتی بیوتیکی اشریشیا کلی O157:H7 در شیر خام گاوهای شهرستان جهرم

محمد کارگر *[۱] ، سوسن حیدری[۲] ، فیروز عباسیان[۳] ،شهرام شکر فروش [۴]

۱. PhD میکروبیولوژی ، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم
۲. MSc میکروبیولوژی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم
۳. PhD میکروبیولوژی ، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن
۴. PhD کنترل کیفی مواد غذائی، رئیس دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز

* نشانی برای مکاتبه: جهرم ، دانشگاه آزاد اسلامی گروه میکرب شناسی ، تلفاکس : ۰۷۱۱-۶۲۶۲۱۰۲ ، mkaragarmicro418@yahoo.com
دریافت مقاله: اسفند هشتاد و چهار پذیرش برای چاپ: تیر هشتاد و پنج

چکیده

سابقه و هدف: *اشریشیا کلی 0157:H7 یکی از عوامل اصلی ایجاد کننده بیماری های منتقل شونده به وسیله مواد غذایی در انسان است . منابع حیوانی به ویژه شیر گاو یکی از کانون های اصلی انتقال عفونت به انسان محسوب می گردد . هدف از این پژوهش ، ارزیابی شیوع و مقایسه روش های مختلف غنی سازی و بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه های جدا شده این باکتری از شیر خام در گاوهای شهرستان جهرم است .*

روش کار : *در این پژوهش ۵۰۰ نمونه شیر گاو از سه منطقه شهرستان جهرم در سال ۱۳۸۴ جمع آوری و پس از غنی سازی در سه محیط کشتECB ، BHI و TSB واجد نووبیوسین در سه دمای : ۲۲و ۳۷و۴۵ درجه سانتی گراد مورد ارزیابی قرار گرفت . سپس از محیط ECC ، VRBA و CT-SMAC به منظور بررسی تخمیر سوربیتول و لاکتوز و از محیط کروموژن اختصاصی MST برای بررسی فعالیت بتا گلوکورونیدازی باکتری های جداشده استفاده گردید . در نهایت با استفاده از آنتی سرم اختصاصی جداسازی باکتری E.coli o157:H7 تایید و توسط روش های استاندارد حساسیت نسبت به ۱۷ آنتی بیوتیک مختلف بررسی شد ،*

یافته ها : *استفاده از محیط TSB در دمای $22\ ^{o}c$ (با فراوانی۵۳/۶۰٪) مناسب ترین روش غنی سازی تشخیص داده شد . از مجموع نمونه های مورد بررسی ، ۴۵ نمونه (۹٪) اشریشیا کلی سوربیتول منفی جداسازی گردید، همچنین میزان شناسائی اشریشیا کلی MUG^{-} ۳/۶۰٪ و اشریشیا کلی O157:H7 پس از انجام تست های تاییدی ۳/۴۰٪ تشخیص داده شد که تمامی آنها نسبت به پنی سیلین ، آمپی سیلین و نووبیوسین مقاومت داشتند .*

نتیجه گیری : *به دلیل شدت بیماری زایی و دوز عفونی اندک باکتری E.coliO157H7 (۱۰۰ تا ۲۰۰ ارگانیسم) انجام مطالعات گسترده تر بر روی سایر مواد لبنی در سطح کشور پیشنهاد می گردد .*

واژگان کلیدی : ***شیر گاو ، اشریشیا کلی O157:H7، روش های غنی سازی ، مقاومت آنتی بیوتیکی***

مقدمه

اشریشیا کلی سروتیپO157:H7 یکی از عوامل اصلی ایجاد کننده مسمومیت غذایی و بیماری هایی مانند: اسهال خفیف ، کولیت خونریزی دهنده (HC)، ترومبوتیک ترومبوسیتوپنی پورپورا (TTP)، سندرم اورمی همولیتیک (HUS) و مرگ در انسان است (۱ - ۷). بیماری های یاد شده می تواند با بروز ناگهانی ،تمامی گروه های سنی را درگیر سازد . این باکتری برای اولین بار توسط Riley و همکاران در سال ۱۹۸۲ در آمریکا به دنبال شیوع اسهال خونی در ایالت های ارگان و میشیگان به دلیل استفاده از گوشت های آلوده در رستوران های زنجیره ای شناسایی گردید (۸). سپس مواردی از شیوع سندرم اورمی همولیتیک ناشی از آن در آمریکا ، انگلیس و کانادا گزارش شد (۸ ، ۹) . بزرگ ترین شیوع این باکتری در کشور ژاپن توسط Armstong و همکارانش در سال ۱۹۹۶ به دنبال مصرف تربچه گزارش شده است که باعث بروز بیش از ۹۰۰۰ مورد بیماری و ۷ مورد مرگ گردید (۳) . گاوسانان (Bovine animal) به ویژه گوساله یکی از مخازن اصلی این باکتری است (۲ ، ۴) . همچنین حیواناتی مانند : گوسفند ، بز ، آهو ، خوک ، گربه ، سگ ، جوجه و غاز به عنوان مخزن شناخته شده اند (۴) . تا کنون هیچ گونه بیماری زایی ناشی از این باکتری در حیوانات یاد شده گزارش نشده است . اما امکان انتقال باکتری از حیوانات به انسان ، از راه مستقیم ، تماس با آب ، خاک و فضولات نشخوار کنندگان و مصرف مواد غذایی مانند : شیر خام و پاستوریزه آلوده ، ماست ، پنیر ، همبرگر, سوسیس ، گوشت خرد شده ، ساندویچ های گوشتی ، سبزیجات ، آب میوه ها (به ویژه آب سیب) وجود دارد (۴) . این باکتری به دلیل تحمل شرایط اسیدی در دمای ۳۰ تا ۴۰ درجه سانتی گراد چند ساعت و در حرارت ۴ درجه سانتی گراد ، ۱ تا ۸ روز در سس مایونز و ماست و ۶۰ روز در پنیر زنده می ماند . هم چنین میزان بقای این ارگانیسم در دمای ۲۰ - درجه سانتی گراد در همبرگر ۹ ماه گزارش شده است (۱۰ ، ۱۱) . مکانیسم چگونگی آلودگی شیر با این باکتری هنوز کاملاً شناسایی نشده است(۱) ، اما انتقال عفونت به انسان از راه های ، آلودگی پستانی ، تجهیزات شیر دوشی و آلودگی مدفوعی شیر، به وسیله عواملی مانند : مدفوع ، محتویات شکمبه ، بزاق ، محیط مزرعه ، مگس و پرسنل انسانی گزارش شده است (۱ ، ۲) . چگونگی فرآوری محصولات مختلف لبنی از نظر پتانسیل آلودگی با این باکتری اهمیت دارد (۱۳) . به دلیل دوز بسیار اندک عفونی این باکتری (کمتر از ۱۰۰ ارگانیسم) در مقایسه با سایر پاتوژن های مواد غذای به ویژه سالمونلا و شیگلا ، ضرورت شناسایی منابع عفونی و چگونگی انتقال آن به انسان وجود دارد (۱ ، ۱۳) . هدف از این پژوهش ارزیابی شیوع و مقاومت آنتی بیوتیکی این باکتری در شیر خام گاوهای شهرستان جهرم است . همچنین به دلیل تعداد اندک این باکتری در شیر سه روش مختلف غنی سازی برای تکثیر باکتری های آسیب دیده مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش کار

نمونه گیری : ۵۰۰ نمونه شیر ، از اردیبهشت تا شهریور ماه ۱۳۸۴، با روش خوشه ای از گاوداری‌های سنتی ،نیمه صنعتی و صنعتی ، سه ناحیه اصلی : مرکزی ،خفر و سیمکان شهرستان جهرم تهیه گردید. نمونه ها به صورت مستقیم از پستان گاو در ظروف استریل جمع آوری و با رعایت زنجیره سرد به آزمایشگاه میکرب شناسی شبکه دامپزشکی شهرستان جهرم منتقل گردید . در مورد تمامی نمونه ها اطلاعاتی مانند : سن ، نژاد ، نوع تغذیه ، منبع آب آشامیدنی ، محل و ماه‌های نمونه گیری در پرسش نامه تنظیمی ثبت گردید .

غنی سازی : مقدار ۴۰ میلی لیتر از هر نمونه شیر در دورrpm ۵۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و سپس رسوب حاصل از آن در سه محیط (Difco)TSB ، (Oxoid) E.coli broth و(Oxoid) BHI واجد۲۰ میلی گرم در لیتر نووبیوسین (Sigma,Germany) به مدت۲۴ساعت به ترتیب :با سه دمای ۲۲ ، ۳۷ و ۴۵ درجه سانتی گراد غنی سازی گردید (۱۲) .

جداسازیE.coliO157:H7: کشت های غنی شده در مرحله قبل به صورت جداگانه برروی محیط سوربیتول مک کانکی (CT-SMAC) واجد۰/۰۵میلی گرم درلیتر سفیکسیم (Dynal) و ۲/۵میلی گرم در لیترپتاسیم تلوریت (Dynal) کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در حرارت ۳۷ درجه، کلنی های سوربیتول منفی خالص سازی و سپس به منظور ارزیابی تخمیر لاکتوز، کلنی های یاد شده بر روی محیط VRBA (Merk)کشت داده شد (۱ ، ۱۴). در مرحله بعد مجدداً تخمیر سوربیتول در محیط تک قندی بررسی و به منظور تایید نهایی جداسازی اشریشیا کلی، در محیطEMB(Oxoid) و Chrom.Agar (Rambach) و ECC(Merk)کشت داده شد (۱ ، ۱۴ ، ۱۵) . هم چنین به منظور تایید جداسازی سروتیپE.coli O157:H7 فعالیت بتاگلوکورونیدازی باکتری ها در محیط کروموژن Chrom Agar E.coli O157:H7 ارزیابی گردید (۱) .

تعیین سروتیپ : به منظور تایید نهایی کلنی های MUG^- خالص شده در مرحله قبل، از تست آگلوتیناسیون با آنتی سرم اختصاصی E.coli O157:H7 (Difco,USA) استفاده گردید (۲) .

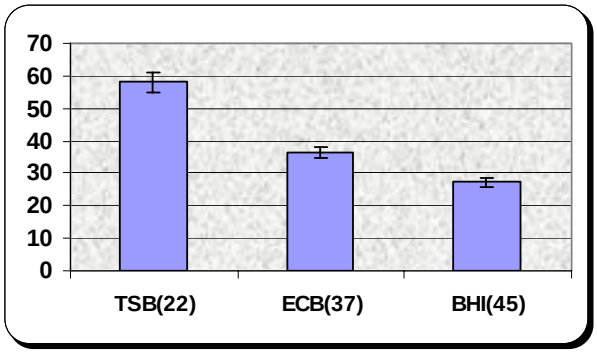
تست حساسیت آنتی بیوتیکی : با استفاده از روش استاندارد Disck Diffusion بر روی محیط کشت مولر هینتون (Merk) با استفاده از دیسک‌های آنتی بیوتیک شامل نووبیوسین۵ ، آمپی سیلین۱۰، پنی‌سیلین۱۰ ، کانامایسین۳۰، کاربنی سیلین۱۰۰، جنتامایسین۱۰، توبرامایسین۱۰، اریترومایسین۱۵، دوکسی سایکلین۳۰، نیتروفورانتوئین۳۰۰، انروفلوکساسین۵ ، فورازولیدون۱۰۰، تتراسایکلین۱۵، سفتکسیم۳۰، نالید یکسیک اسید۳۰، کلرامفنیکل۳۰، سولفامتوکسازول / تری متوپریم۲۵، (Oxoid) انجام شد (۲).

آنالیز آماری : نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS 12 و آزمون های مربع کای و ANOVA و دقیق فیشر انجام شد . مرز معنی داری روی $p < ۰/۰۵$ قرار داده شد.

یافته ها

در این پژوهش مناسب ترین روش غنی سازی محیط TSB با دمای ۲۲ درجه سانتی گراد تشخیص داده شد. نتایج پژوهش نشان دادکه با افزایش دما میزان جداسازی نمونه های سوربیتول منفی کاهش می‌یابد(نمودار ۱).

نمودار ۱: توزیع فراوانی نمونه های سوربیتول منفی غنی شده با استفاده از سه روش و دمای مختلف



از نظر جمعیت دامی شهرستان جهرم به سه منطقه اصلی : مرکزی (با فراوانی ۳۰٪) ، سیمکان و خفر (هرکدام با فراوانی ۳۵٪) تقسیم بندی می‌گردد . با وجود فراوانی بیشتر جمعیت گاوی منطقه سیمکان و خفر نسبت به منطقه مرکزی به دلیل تولیدشیر بیشتر در منطقه مرکزی بیشتر نمونه ها از این ناحیه تهیه گردید (جدول ۱).

جدول ۱ - توزیع فراوانی جمعیت، میزان شیرتولیدی وتعداد آزمایه های گاوهای مورد مطالعه در شهرستان جهرم

محل	جمعیت دام	میزان شیرتولیدی(تن)	تعدادآزمایه
	تعداد (٪)	تعداد (٪)	تعداد (٪)
مرکزی	۶۰۰۰ (۳۰)	۳۱ (۸۰/۵۱)	۳۱۰(۶۲)
سیمکان	۷۰۰۰(۳۵)	۳/۵(۹/۰۹)	۶۸(۱۳/۶۰)
خفر	۷۰۰۰(۳۵)	۴(۱۰/۳۸)	۱۲۲(۲۴/۴۰)
جمع کل	۲۰۰۰۰(۱۰۰)	۳۸/۵۰(۱۰۰)	۵۰۰(۱۰۰)

(اعداد داخل پرانتز به درصد است.)

از مجموع ۵۰۰ نمونه مورد بررسی، از ۲۶۸ نمونه (فراوانی ۵۳/۶۰٪) ، کلنی های سوربیتول منفی در محیطCT -SMAC جداسازی گردید که پس از کشت بر روی محیط های اختصاصی EMB، VRBA و ECCاز۴۵ نمونه (فراوانی ۹٪) آن اشریشیا کلی جداسازی شد . در مرحله بعد با استفاده از محیط کشت اختصاصی O157:H7 و سپس با استفاده از آنتی سرم اختصاصی، جداسازی ۱۷ نمونه O157:H7 E.coli (فراوانی ۳/۴۰٪) تایید گردید (جدول ۲) .با استفاده از آزمون های مربع کای و دقیق فیشر نشان داده شد که در سطح p<۰/۰۵ بین متغیرهای: محل ، نژاد ، نوع تغذیه ، منبع آب آشامیدنی و وجود باکتری E.coli O157:H7 ارتباط معنی داری مشاهده شد (در تمام موارد P < ۰/۰۰۲). همچنین با استفاده از آزمون ANOA مشخص شد که بین تعداد کل گاوهای موجود در جایگاه و سن دام با باکتری های جداشده E.coli O157:H7 ارتباط معنی داری وجود دارد (به ترتیب P < ۰/۰۱۶ و P < ۰/۰۰۱).

از بین ۱۷ آنتی بیوتیک مورد بررسی ، ۱۰۰٪ باکتری‌های جداشدهE.coli O157:H7 نسبت به سه آنتی بیوتیک ، پنی سیلین ، آمپی سیلین و نووبیوسین مقاوم و۷۲/۲٪ حداقل نسبت به یک تا دو آنتی بیوتیک نیمه مقاوم بودند .

جدول۲- توزیع فراوانی ویژگی های نمونه های مورد بررسی بر اساس میزان جداسازی باکتری E.coliO157:H7 در نواحی مورد پژوهش

ویژگی	ویژگی	نمونه مورد بررسی	باکتری جدا شده
		تعداد (٪)	تعداد (٪)
نژاد	اصیل	۳۵۳ (۷۰/۶۰)	۳(۱۷/۶۵)
	بومی	۱۴۷(۲۹/۴۰)	۱۴(۸۲/۳۵)
محل	مرکزی	۳۱۰(۶۲)	۳(۱۷/۶۵)
	سیمکان	۶۸(۱۳/۶۰)	۱۳(۷۶/۴۷)
	خفر	۱۲۲(۲۴/۴۰)	۱(۵/۸۸)
گروه های سنی	۳-۵	۲۹۰(۵۸)	۱(۵/۸۸)
	۵-۷	۹۱(۱۸/۲۰)	۳(۱۷/۶۵)
	۷-۹	۶۶(۱۳/۲۰)	۶(۴۱/۱۸)
	۹-۱۱	۵۳(۱۰/۶۰)	۷(۴۱/۱۸)
نحوه تغذیه	دستی	۲۹۰(۵۸)	۴(۲۳/۵۳)
	چرا	۲۱۰(۴۲)	۱۳ (۷۶/۴۷)
منبع آب	آب شهر	۱۰۶(۲۱/۲۰)	۱(۵/۸۸)
	آب چاه	۳۱۴(۶۲/۸۰)	۳(۱۷/۶۵)
	رودخانه	۸۰(۱۶)	۱۳(۷۶/۴۷)
تعداد گاو در هر جایگاه	کمتر از ۵۰	۴۳۵(۸۷)	۱۷(۱۰۰)
	۵۰-۱۰۰	۲۴(۴/۸۰)	۰(۰)
	۱۰۰-۱۵۰	۱۰(۲)	۰(۰)
	۱۵۰-۲۰۰	۰(۰)	۰(۰)
	بیشتر از ۲۰۰	۳۱(۶/۲)	۰(۰)
ماه نمونه گیری	اردیبهشت	۵۰(۱۰)	۱(۵/۸۸)
	خرداد	۸۴(۱۶/۸۰)	۴(۲۳/۵۳)
	تیر	۱۱۴(۲۲/۸۰)	۵(۲۹/۴۱)
	مرداد	۲۴(۲۴/۸۰)	۳(۱۷/۶۵)
	شهریور	۸۴(۱۶/۸۰)	۴(۲۳/۵۳)
	مهر	۴۴(۸/۸۰)	۰(۰)

بحث

نتایج اغلب پژوهش های انجام شده نشان می دهد که O157:H7 E.coli شیوع گسترده ای را در اغلب نقاط دنیا به ویژه در مواد غذایی لبنی دارد(۱۲).Rauf وهمکاران درسال ۱۹۹۶ در مصر،Alleberger وهمکاران در سال ۱۹۹۷ دراسترالیا ، Klie وهمکاران درسال ۱۹۹۷ درآلمان ، میزان شیوع این باکتری را در شیر خام گاو به ترتیب: ۶٪ ، ۳٪ و۰/۳۰٪ گزارش کردند(۱۲).

Brashear وGalyean در سال ۱۹۹۵ ، در آمریکا نشان دادند که در صورت تهیه نمونه به میزان کافی تقریبا تمامی جایگاه های جمع آوری شیر مورد بررسی با باکتریE.coli O157:H7 آلودگی دارند(۱۶). Murphy و همکاران درسال ۲۰۰۲ و۲۰۰۳ با بررسی ۵۳۶ فیلتر شیر در ۹۷ گاوداری میزان آلودگی آنها را ۱۲ ٪ گزارش نمودند(۸). Brashears و همکاران در سال ۲۰۰۲ در آمریکا نشان دادند که از میان ۹۱ مرکز نگهداری گاوهای شیری ۲۴/۲۰٪ و از ۹۷ محل فرآوری محصولات لبنی در ۱۹ ایالت مختلف ، میزان آلودگی با باکتریE.coli O157:H7، ۳۰/۹۰٪ می باشد. محققین یاد شده ، نشان دادند که با وجود دفع مقادیر کم باکتری از گاوهای شیری، میزان شیوع در اغلب مناطق مورد بررسی، به ویژه در فصول گرم تر وگاوهای جوان تازه از شیر گرفته شده قابل توجه است (۱۶).

Khan و همکاران در سال ۲۰۰۲ در شهر کلکته در کشور هندوستان، میزان شیوع این باکتری را درنمونه‌های مدفوع گاو ۱۸٪ ودرگوشت خام کشتارگاه‌ها۵۰٪ گزارش نمودند(۱۷). گزارش های متفاوتی در مورد میزان جداسازی باکتری یاد شده در کشورهای مختلف منتشر شده است. دربعضی از مناطق میزان شیوع آن مشابه با شیگلا و در برخی کمتر و یا بیشتر از آن نیزگزارش شده است(۱۸). در ایالت متحده تخمین زده می شود که سالیانه ۷۳۰۰۰ مورد عفونت و۶۱ مورد مرگ به علت عفونت با E.coli O157:H7 روی دهد(۱۹). همچنین بیماری اورمی همولیتیک(HUS) ناشی از این باکتری عامل بیشتر نارسایی های حاد کلیوی در کودکان این کشور می باشد(۳).

پژوهش های انجام شده در کشورما در مورد این باکتری بیشتر محدود به نمونه های کلینیکی بوده است. اصلانی وهمکاران درسال۱۹۹۸ و۲۰۰۳ با بررسی ۲۰۰۸ نمونه مدفوع انسان در غرب (ایلام) و شمال ایران(مازندران و گلستان) میزان شیوع اشریشیاکلی تولیدکننده و روتوکسین را به ترتیب ۴/۹۰٪ و۰/۷۰٪ گزارش کردند. اما هیچ کدام از نمونه‌ها سروتیپ O157:H7 نبودند(۲۰). برای اولین بار سالک مقدم وهمکاران درسال ۱۹۹۹ درایران با بررسی ۲۰۰۰ نمونه ماده غذایی مختلف تنها از یک نمونه سبزی موفق به جداسازی E.coli O157:H7 شدند(۱۸). همچنین بری و همکاران درسال ۱۳۷۹ با بررسی ۹۷ نمونه شیرخام گاو در استان مازندران تنها از ۳ نمونه (۳/۰۶٪) اشریشیاکلی O157:H7 تولیدکننده وروتوکسین جداسازی نمودند(۲۱).

نتایج پژوهش ما نشان دادکه میزان آلودگی شیر خام گاوهای شهرستان جهرم، ۳/۴۰٪ می باشد. با آنالیزآماری ارتباط معنی داری درسطح $p<0/05$ بین نمونه های مثبت و استفاده ازآب رودخانه به عنوان منبع آب آشامیدنی تشخیص داده شد. با توجه به بقای بیش از ۵۰ روز این باکتری در مخازن آب شهری، رودخانه و نیز در بدن ناقلین بدون علامت (گوساله) خطرانتقال این باکتری ازگوساله های ناقل به حیوانات سالم ، از گوساله به شیر و سایر مواد لبنی و غذایی وجود دارد(۱۳). همچنین ضرورت کنترل و نظارت دقیق محصولات لبنی درهنگام تولید با توجه به توانایی رشد این باکتری در طول تخمیرلاکتیک و بقای آن در نوشیدنی‌های حاوی شیر برای بیش از ۱۰روز در یخچال وجود دارد (۱۳).

به دلیل تهیه پنیر از شیر غیرپاستوریزه و همچنین به دلیل طی نشدن مدت لازم قبل ازعرضه ، امکان شیوع این باکتری ازراه مصرف آن نیز وجود دارد.

Meng و همکاران درسال ۱۹۹۸ نشان دادند که از میان ۱۲۵ باکتری E.coli O157:H7 جداشده از حیوانات ، غذا و انسان ، حداقل ۲۴٪ از آنها نسبت به یک آنتی‌بیوتیک مقاوم هستند. همچنین سایر محققین، بیشترین فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی را در مورد استرپتومایسین ، سولفامتوکسازول و تتراسایکلین گزارش نمودند (۱۲). Murphy. و همکاران درسال۲۰۰۵ در ایرلند مقاومت آنتی بیوتیکی ۱۶ باکتری E.coli O157:H7 جداشده از ۹۷ فیلترشیرخام نسبت به ۱۴ آنتی بیوتیک مورد بررسی قرار دادند و متوجه شدند که تمامی باکتری ها نسبت به استرپتومایسین مقاومت دارند (۸).

در این پژوهش ، تمامی باکتری های تایید شده اشریشیاکلیO157:H7 ، به سه آنتی بیوتیک آمپی‌سیلین ،نووبیوسین و پنی سیلین مقاومت داشتند و همچنین ۷۲/۲٪ از آنها نیز حداقل نسبت به یک یا دو آنتی بیوتیک نیمه مقاوم بودند . به طورکلی با توجه به مخاطرات ناشی از این باکتری به ویژه درصنایع لبنی ضرورت بررسی شیوع اتیولوژیکی این باکتری در مواد غذایی و راه های انتقال آن به انسان وجود دارد و بررسی های بیشتر در سایر مناطق کشور پیشنهاد می گردد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله از جناب آقای دکتر تهمتن به دلیل مشاوره علمی و همچنین شبکه دامپزشکی شهرستان جهرم و پرسنل آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی جهرم به دلیل حمایت های اجرایی صمیمانه سپاسگزاری می نمایند.

REFERENCES

1. Reinders R D, Barama A . Comparison of the sensitivity of manual and automated immunomagnetic separation method for detection of shiga toxin – producing E.coli O157:H7 in milk . Journal of Applied Microbiology .2002 ; 92 : 1015-1020.

2. Kasrazadeh M,Genigeorgis C. Potential growth and control of Escherichia coliO157:H7 in soft Hispanic type cheese . International Journal of Food Microbiology. 1995 June;25:289-300.

3. Widiasih D A , Ido N , Omoe K . Duration and magnitude of faecal shedding of shiga toxin – producing Escherichia coli from naturally infected Cattle . Epidemiol . Infect . 2003 ; 132 : 67-75.

4. Kenneth J, Ryan M D , Cray M D . Sherries Medical Microbiology. 4th ed . Mc Graw Hill; 2004:354-357.

5. Conedera G , Dalvit P, Martini M . Verocytotoxin – Producing Escherichia coli O157:H7 minced beef and dariy products in Italy . Iternational Journal of Food Microbiology;2004 March : 67-73.

6. Goodridge L , Chen J , Griffiths M . The ues of a fluorescent bacteriophage assay for beef detection of Escherichia coli O157:H7 in inoculated ground beef and raw milk . International Journal of Food Microbiology. 1999 ;47 : 43-50.

7. Seo K H , Brackett R E, FRANK J F . Rapid detection of Escherichia coli O157:H7 using immunomagnetic flow cytometry in ground beef , apple juice , and milk . International Journal of Food Microbiology . 1998 August : 115-123.

8. Murphy B P , Murphy M , Buckley J F . In –Line milk filter analysis : Escherichia coli O157:H7 surveillance of milk production holding . Int J Hyg Environ – Healthy . 2005: 4521-4528.

9. Chang J H , Chou C. Growth and survival of Escherichia coli O157:H7 during the fermentation and storage of diluted cultured milk drink . Food Microbiology . 2000; 17: 579-587.

10. Cheng H Y , Cheng Chun C . Acid adaptation and in acidic fruit juice and lactic fermented milk product . International Journal of Food Microbiology . 2001 May; 70 :189-195.

11. Ogwaro BA,Gibson H .Survival of Escherichia coli O157:H7 in traditional African yoghurt fermentation, International Journal of Food Microbiology . 2002 April;79: 105-112.

12. Dontorou C , Papado P , Filioussis G, Isolation of Escherichia coli O157:H7 from foods in Greece . International Journal of Food Microbiology . 2003 June; 82 : 273-279.

13. Oksuz O , Arici M , Kurultay S, Gumus T . Incidence of Escherichia coli O157:H7 in raw milk and white pickled cheese manufactured from raw milk in turkey. Food Control . 2004 July ; 15: 453-456.

14. Alam M J , Zurek L . Association of Escherichia coli O157:H7 with house flies on a cattle farm . Applied and Environmental Microbiology . 2004 Dec: P : 7578 -7580.

15. Voitoux E , Lafarge V , Collette C , Lombard B. Applicability of the draft standard method for detection of Escherichia coli O157:H7 in dairy products . International Journal of Food Microbiology . 2002;77: 213-221.

16. Brashears M , Galyean M . E.coliO157:H7 in live cattle by 50 percent . 2002 April;24:3-6 .

17. Khan A, Yamasaki S . Prevalence and genetic profiling of virulence determinates of Non-O157 STEC isolate from cattle , beef and humans Calcutta India . Emerg Inf Dis .2002 Jan ; 8 (1): 54-62.

18. Salek Moghaddam A , Forouhesh Tehrani M , Davoodian P. Survey of the bacterial contaminants of Iranian foods in searches of E.coliO157:H7 in medical laboratory sciences researches center . Iranian J of Inf Dis and Trop Medicine . 2003 ; 18(21) : 5 – 8.

19. Baffone W,Ciaschini G,Pianetti A . Detection of Escherichia coli O157:H7and other intestinal pathogens in pationswith diarrheal disease Eur Epidemiol. 2001;17:97-99.

20. Aslani M B, .Bourzari S . An epidemiological study on VTEC infection among population of northern region of Iran (Mazandaran and Golestan provinces). Eur J Epidemiol.2003;18 : 345-349.

۲۱- بررسی شیوع اشریشیاکلی های تولید کننده وروتوکسین در شیر گاوهای استان مازندران. پایان نامه کارشناسی ارشد ، قم : .بری حسین دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم ؛ ۱۳۷۹