JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی/ دوره شانزدهم، شماره دوم، ۱۳۹۹، پیاپی ۴۱: ۱۰۹-۹۹

مقاله پژوهشی

تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های *اشریشیا کلی* O157:H7 از همبرگر در استان مازندران

مهدی کریم پور[۱]، ودود رضویلر[۲*]، نوردهر رکنی[۲]، محمد احمدی[۳]

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه بهد اشت مواد غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- استاد، گروه بهد اشت مواد غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۲۶

چکیده

اشریشیا کلی O157:H7 یکی از عوامل بالقوه در بروز بیماری های غذازاد است. نقش گوشت گاو به عنوان منبع سویه های *اشریشیا کلی* O157:H7 شناخته شده است. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی میزان شیوع و مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های *اشریشیا کلی* O157:H7 جدا شده از نمونه های همبرگر جمع آوری شده از استان مازندران انجام پذیرفت. دویست نمونه همبرگر به صورت تصادفی از مراکز فروش استان مازندران جمع آوری شد. تایید ایزوله های *اشریشیا کلی* O157:H7 رشد یافته در محیط کشت میکروبی با استفاده از آزمون های بیوشیمیایی و واکنش PCR انجام پذیرفت. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه ها با استفاده از روش دیسک انتشاری آنتی بیوتیک ارزیابی شد. بر طبق نتایج، ۱۹ نمونه از کل ۲۰۰ نمونه (۹/۵۰ درصد) همبرگر جمع آوری شده از استان مازندران، آلوده به *اشریشیا کلی* O157:H7 بودند. سوش های *اشریشیا کلی* O157:H7 بیشترین میزان مقاومت را بر علیه آنتی بیوتیک های تتراسایکلین (۱۰۰ درصد)، آمپی سیلین (۱۰۰ درصد)، جنتامایسین (۸۹/۴۷ درصد)، سولفامتوکسازول (۷۳/۶۸ درصد) و سیپروفلوکسازین (۷۳/۶۸ درصد) داشتند. کمترین میزان مقاومت بر علیه آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل (۱۵/۷۸ درصد) و سفوتاکسیم (۴۲/۱۰ درصد) بدست آمد. همبرگر به عنوان منبع انتقال سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک *اشریشیا کلی* O157:H7 در نظر گرفته شد.

کلمات کلیدی: *اشریشیا کلی* O157:H7، مقاومت آنتی بیوتیکی، همبرگر، مازندران.

*نویسنده مسئول: ودود رضویلر

آدرس: گروه بهد اشت مواد غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

پست الکترونیک: Vrazavi@ut.ac.ir

مقدمه

همبرگر یکی از انواع محصولات گوشتی پرمصرف در ایران و سایر نقاط جهان است. سهولت طبخ، طعم دلپذیر و قیمت مناسب این فراورده سبب شده است تا اکثر آحاد جامعه گرایش زیادی به مصرف آن داشته باشند. گوشت گاو پایه اصلی تولید اکثر برند های همبرگر در جهان است. تولید کنندگان این فراورده گوشتی به منظور کسب سود بیشتر، معمولا از گوشت های با کیفیت بهداشتی پایین استفاده می کنند که بعضا می تواند منجر به بروز آلودگی های میکروبی و همچنین بیماری های غذا زاد شود (۱، ۲).

متأسفانه با وجود کنترل‌های دقیقی که روی بهداشت مواد غذایی انجام می‌پذیرد، امروزه گزارشات فراوانی از وقوع بیماری های غذازاد، در دسترس است (۳). در این ارتباط، گزارشات فراوانی از وقوع بیماری های غذا زاد در اثر مصرف همبرگرهای آلوده، در وجود دارد (۴، ۵). در اکثر این گزارشات، آلودگی نمونه های همبرگر با باکتری *اشریشیا کلی* O157:H7، دلیل اصلی همه گیری بوده است (۴، ۵).

اشریشیا کلی یک باکتری گرم منفی، میله ای شکل، بدون اسپور و بی هوازی اختیاری است که جزء باکتری های روده ای بوده و موجب عفونت های غذایی مهلک در انسان می گردد (۱). چندین سویه از باکتری *اشریشیا کلی* به عنوان بیماری زاهای بالقوه در اثر مصرف مواد غذایی آلوده، معرفی شده اند. یکی از سویه های مهم این باکتری، *اشریشیا کلی* O157:H7 می باشد که جز تیپ های تولید کننده شیگاتوکسین (STEC) است و معمولا به عنوان عامل ایجاد کننده بیماری های مهم و خطرناک کولیت خونریزی دهنده، اسهال خونی و غیرخونی، ترومبوسیتوپنی، آنمی همولیتیک، اختلالات کلیوی و سندرم همولیتیک اورمیک در انسان است (۲).

یکی از چالش های اصلی در مورد درمان موارد عفونت های غذایی و بیماری های ایجاد شده توسط *اشریشیا کلی* O157:H7، بروز مقاومت های آنتی بیوتیکی در سویه های این باکتری برعلیه طیف وسیعی از آنتی بیوتیک هاست. مطالعات نشان داده اند که سویه های *اشریشیا کلی* O157:H7 مقاومت زیادی نسبت به گروه های آنتی بیوتیکی خصوصا پنی سیلین ها، تتراسایکلین ها، فلوروکوئینولون ها، سفالوسپورین ها و ماکرولید ها دارند (۳, ۴). میزان مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های این باکتری در برخی از گزارشات در حدی زیاد است که درمان های آنتی بیوتیکی معمولا بی اثر هستند (۵, ۶).

از آنجایی که بررسی های بسیار محدودی در زمینه شیوع و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی *اشریشیا کلی* O157:H7 جدا شده از همبرگز، وجود دارد لذا بررسی حاضر به منظور مطالعه میزان شیوع و الگوی فنوتیپی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های *اشریشیا کلی* O157:H7 از نمونه های همبرگر جمع آوری شده در استان مازندران انجام پذیرفت.

مواد و روش ها

نمونه گیری

بررسی حاضر یک مطالعه توصیفی-مقطعی بود که در فصول تابستان و پاییز سال ۱۳۹۵ روی نمونه‌های همبرگر یک برند مشخص در استان مازندران انجام پذیرفت. در کل ۲۰۰ نمونه همبرگر از یک برند مشخص از مراکز فروش واقع در مناطق مختلف استان مازندران به صورت تصادفی خریداری و در اسرع وقت و در شرایط دمای ۴ درجه سانتی گراد به آزمایشگاه

منتقل شد. نمونه های همبرگر از نظر ظاهری سالم بودند.

جداسازی اشریشیا کلی و تایید حضور سویه های اشریشیا کلی O157:H7

ابتدا ۲۵ گرم از نمونه های همبرگر در ۲۲۵ میلی لیتر محیط تریپتیک سوی براث (مرک، آلمان) تلقیح و بعد از هموژن کردن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شد، سپس یک میلی لیتر از محیط مذکور روی محیط سوربیتول مک کانکی حاوی سفیکسیم و تلوریت پتاسیم (مرک، آلمان) کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شد. در مرحله بعدی، ۱ تا ۲ کلنی سوربیتول منفی از محیط کشت سوربیتول مک کانکی انتخاب و به منظور تایید سویه های *اشریشیا کلی* O157:H7 با استفاده از تست های بیوشیمیایی تولید H_2S، MR، VP، اندول و سیترات، مورد ارزیابی قرار گرفتند (۱۶). به منظور تایید قطعی جدایه های *اشریشیا کلی* O157:H7 از تکنیک PCR استفاده شد. برای این منظور ابتدا جدایه های مشکوک به *اشریشیا کلی* O157:H7 در محیط کشت تریپتیک سوی براث به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شدند. سپس DNA ژنومی از جدایه های *اشریشیا کلی* O157:H7 با استفاده از کیت استخراج DNA (سیناژن، ایران) و با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده، استخراج شد. جدول ۱ لیست پرایمر ها و شرایط واکنش PCR مورد استفاده جهت ردیابی *اشریشیا کلی* O157:H7 را نشان می دهد. در تمام واکنش های PCR از دستگاه ترموسایکلر (PCR Thermocycler, Flexcycler^2, Germany) استفاده شد. از PCR-grade water (Thermoscientific, Germany) و *اشریشیا کلی* O157:H7 (ATCC 43895) به ترتیب به عنوان کنترل منفی و مثبت در آزمون های PCR، استفاده شد. محصولات PCR در ژل آگارز ۱/۵ درصد رنگ آمیزی شده با اتیدیوم برماید (Thermoscientific, Germany) در ولتاژ ۹۰ ولت به مدت ۳۰ تا ۴۰ دقیقه الکتروفورز و نتایج آن با استفاده از UV (UVdoc, UK) مورد ارزیابی قرار گرفت.

جدول ۱. لیست پرایمر ها و شرایط واکنش PCR مورد استفاده جهت ردیابی سویه های *اشریشیا کلی* O157:H7 در نمونه های همبرگر (۱۱، ۱۷).

ژن هدف	توالی پرایمر ('5-'3)	اندازه محصول (bp)	حجم واکنش (۵۰ میکرولیتر)	فرایند دمایی
O157	F: CGGACATCCATGTGATATGG R: TTGCCTATGTACAGCTAATCC	۲۵۹	5 µL PCR buffer 10X 2 mM $Mgcl_2$ 150 µM dNTP (Fermentas) 0.75 µM of each primers F & R 1.5 U Taq DNA polymerase (Fermentas) 3 µL DNA template	1 cycle: 95 ^{0C} ---------- 3 min. 32 cycle: 95 ^{0C} ---------- 20 s 58 ^{0C} ---------- 40 s 72 ^{0C} ---------- 30 s 1 cycle: 72 ^{0C} ---------- 8 min
H7	F: GCGCTGTCGAGTTCTATCGAG R: CAACGGTGACTTTATCGCCATTCC	۶۲۵	5 µL PCR buffer 10X 2 mM $Mgcl_2$ 150 µM dNTP (Fermentas) 0.75 µM of each primers F & R 1.5 U Taq DNA polymerase (Fermentas) 3 µL DNA template	1 cycle: 94 ^{0C} ---------- 2 min. 35 cycle: 94 ^{0C} ---------- 20 s 54 ^{0C} ---------- 60 s 72 ^{0C} ---------- 60 s 1 cycle: 72 ^{0C} ---------- 10 min

مطالعه الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های اشریشیا کلی O157:H7

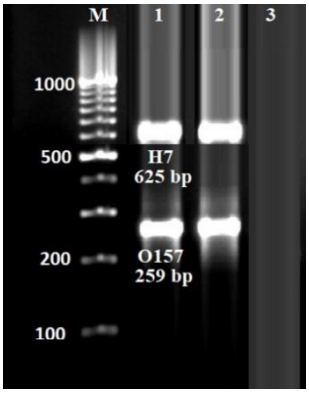
به منظور ارزیابی الگوی فنوتیپی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های *اشریشیا کلی* O157:H7 از نمونه های همبرگر، از آزمون آنتی بیوگرام به روش دیسک انتشاری روی محیط مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) و با توجه به دستورالعمل انستیتو استاندارد آزمایشگاهی و بالینی (CLSI)، استفاده شد (۱۸). برای این منظور از دیسک های آنتی بیوتیکی تری متوپریم (۵ میکرولیتر)، سفوتاکسیم (۳۰ میکرولیتر)، انروفلوکسازین (۵ میکرولیتر)، سیپروفلوکسازین (۵ میکرولیتر)، کلرامفنیکل (۳۰ میکرولیتر)، سولفاکتوکسازول (۲۵ میکرولیتر)، تتراسایکلین (۳۰ میکرولیتر)، آمپی سیلین (۱۰ میکرولیتر) و جنتامایسین (۱۰ میکرولیتر) (Himedia, India)، استفاده شد. تفسیر نتایج حاصل از قطر هاله عدم رشد با توجه به دستورالعمل CLSI انجام پذیرفت. از باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 6538 به عنوان کنترل در آزمون آنتی بیوگرام استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده از انجام آزمون ها، از نرم افزار SPSS شماره ۲۱ و تست های آماری مربع کای و فیشر به منظور ارزیابی های آماری بین شیوع و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه ها استفاده شد. P value <۰/۰۵ به عنوان حد معنی داری در نظر گرفته شد.

نتایج

در این تحقیق کلنی های سوربیتول منفی (بی رنگ) *اشریشیا کلی* در محیط سوربیتول مک کانکی حاوی سفیکسیم و تلوریت پتاسیم با استفاده از آزمون های بیوشیمیایی تولید H_2S، MR، VP، اندول و سیترات (به ترتیب با نتایج –، +، –، + و –) ارزیابی شدند. سپس واکنش PCR به منظور ردیابی ژن های *O157* و *H7* در جدایه های مشکوک به *اشریشیا کلی* O157:H7 استفاده شد. شکل ۱ تصویر الکتروفورز محصولات PCR برای ردیابی همزمان ژن های *O157* و *H7* در جدایه های مشکوک به *اشریشیا کلی* O157:H7 را نشان می دهد. جدایه هایی که به صورت همزمان واجد هر دو ژن *O157* و *H7* بودند، به عنوان *اشریشیا کلی* O157:H7 در نظر گرفته شدند.



شکل ۱. تصویر الکتروفورز محصولات PCR برای ردیابی همزمان ژن های *O157* و *H7* در جدایه های مشکوک به *اشریشیا کلی* O157:H7. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ۱ نمونه مثبت برای ژن های *O157* (۲۵۹ جفت باز) و *H7* (۶۲۵ جفت باز)، ۲: کنترل مثبت ژن ها و ۳: کنترل منفی.

بر طبق نتایج، ۱۹ نمونه از کل ۲۰۰ نمونه (۹/۵۰ درصد) همبرگر جمع آوری شده از استان مازندران، آلوده به *اشریشیا کلی* O157:H7 بودند.

جدول ۲ الگوی فنوتیپی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های *اشریشیا کلی* O157:H7 جدا شده از نمونه های همبرگر جمع آوری شده از استان مازندران را نشان می دهد. سوش های *اشریشیا کلی* O157:H7 بیشترین میزان مقاومت را بر علیه آنتی بیوتیک های تتراسایکلین (۱۰۰ درصد)، آمپی سیلین (۱۰۰ درصد)، جنتامایسین (۸۹/۴۷ درصد)، سولفامتوکسازول (۷۳/۶۸ درصد) و سیپروفلوکسازین (۷۳/۶۸ درصد) داشتند. کمترین میزان مقاومت بر علیه آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل (۱۵/۷۸ درصد) و سفوتاکسیم (۴۲/۱۰ درصد) دیده شد.

جدول ۲. الگوی فنوتیپی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های *اشریشیا کلی* O157:H7 جدا شده از نمونه های همبرگر جمع آوری شده از استان مازندران.

باکتری	شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی (درصد)									
	Cft*	Cip	Tet	Amp	Sul	Gen	Trt	Enr	C30	
اشریشیا کلی O157:H7 (۱۹)	۸ (۴۲/۱۰)	۱۴ (۷۳/۶۸)	۱۹ (۱۰۰)	۱۹ (۱۰۰)	۱۴ (۷۳/۶۸)	۱۷ (۸۹/۴۷)	۱۳ (۶۸/۴۲)	۱۲ (۶۳/۱۵)	۳ (۱۵/۷۸)	

*Cft: cefotaxime (30 µg/disk), cip: ciprofloxacin (5 µg/disk), tet: tetracycline (30 u/disk), amp: ampicillin (10 u/disk), sul: sulfamethoxazole (25 µg/disk), gen: gentamicin (10 µg/disk), trt: trimethoprim (5 µg/disk), enr: enrofloxacin (5 µg/disk), c30: chloramphenicol (30 µg/disk).

بحث

بررسی حاضر یکی از گسترده ترین مطالعات انجام پذیرفته در زمینه *اشریشیا کلی* O157:H7 در نمونه های همبرگر یک برند تجاری است. نتایج بررسی حاضر که روی ۲۰۰ نمونه همبرگر انجام پذیرفت نشان داد که همبرگر می توانند به عنوان یک منبع بالقوه برای انتقال سویه های مقاوم به آنتی بیوتیکی *اشریشیا کلی* O157:H7 به جوامع انسانی باشد. بر طبق نتایج ۹/۵۰ درصد از نمونه ها آلوده به سویه های *اشریشیا کلی* O157:H7 بودند که بسیار قابل توجه است. آلودگی نمونه های گوشت گاو مورد استفاده در تهیه نمونه های همبرگر و انتقال آلودگی در مراحل تولید، دلایل احتمالی شیوع بالای *اشریشیا کلی* O157:H7 در نمونه های همبرگر هستند. نتایج مطالعه حاضر همچنین نشان داد که جدایه های *اشریشیا کلی* O157:H7 مقاومت بالای نسبت به آنتی بیوتیکی های تتراسایکلین، آمپی سیلین، جنتامایسین، سولفامتوکسازول و سیپروفلوکسازین داشتند. بنابراین مصرف نمونه های

همبرگر آلوده به *اشریشیا کلی* O157:H7 مقاوم به آنتی بیوتیک می تواند انتقال دهنده سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک به جوامع انسانی و در نتیجه بروز مقاومت های شدید آنتی بیوتیکی نسبت به دارو ها، باشد.

علاوه بر همبرگر (۱۹)، تا کنون *اشریشیا کلی* O157:H7 از سایر محصولات غذایی مانند شیر (۲۰)، گوشت پرندگان (۲۱)، گوشت قرمز (۲۲)، سبزیجات (۲۳)، غذاهای آماده مصرف (۲۴) و حتی اغذیه دریایی (۲۵)، نیز جداسازی شده است. Miri و همکاران (۲۰۱۴) (۲۶) میزان شیوع *اشریشیا کلی* O157:H7 در نمونه های همبرگر عرضه شده در شهر اصفهان را ۳/۳۰ درصد گزارش نمودند و نشان دادند که جدایه های جدا شده از همبرگر بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی را نسبت به تتراسایکلین، اریترومایسین، جنتامایسین و کانامایسین داشتند. همچنین، Hosseini و همکاران (۲۰۱۱) (۲۷) میزان شیوع *اشریشیا کلی* O157:H7 را در نمونه های همبرگر عرضه شده در شهر شیراز، ۸ تا ۱۸ درصد برآورد نمودند. در مطالعه دیگری در ایتالیا (۲۸) میزان شیوع *اشریشیا کلی* O157:H7 در نمونه های همبرگر و همبرگر مخلوط با سبزیجات به ترتیب ۳/۳۰ و ۸/۳۰ درصد برآورد گردید. در مطالعه دیگری در یونان (۲۹)، میزان شیوع *اشریشیا کلی* O157:H7 در نمونه های همبرگر، ۱/۳۰ درصد برآورد شد. از جمله دلایل احتمالی اختلاف در میزان شیوع *اشریشیا کلی* O157:H7 در مطالعات مختلف می توان به اختلاف در نوع نمونه ها، روش تولید نمونه ها، روش نمونه گیری، دقت در انجام آزمایشات تاییدی، آب و هوا و منطقه جغرافیایی، اشاره نمود.

متاسفانه مطالعات بسیار محدودی در زمینه شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های *اشریشیا کلی* O157:H7 جدا شده از نمونه های همبرگر انجام شده است.در یک مطالعه مشابه، Abbasi و همکاران (۲۰۱۲) (۳۰)، نشان دادند که جدایه های *اشریشیا کلی* O157:H7 بیشترین میزان مقاومت را نسبت به آنتی بیوتیک های ونکومایسین و سولفامتوکسازول داشتند. مطالعه دیگری توسط Adzitey (۲۰۲۰) (۳۱) در کشور غنا نشان داد که میزان مقاومت جدایه های *اشریشیا کلی* O157:H7 نسبت به آنتی بیوتیک های آموکسی سیلین، آزیترومایسین، سفتریاکسون، کلرامفنیکل، سیپروفلوکسازین، جنتامایسین، تتراسایکلین و سولفامتوکسازول به ترتیب ۲/۲۲ درصد، ۲۴/۴۴ درصد، ۴/۴۴ درصد، ۴/۴۴ درصد، ۲/۲۲ درصد، ۰ درصد، ۴/۴۴ درصد، ۱۷/۷۸ درصد، ۲/۲۲ درصد و ۲/۲۲ درصد بود. در مطالعه Seo و Lee (۲۰۱۸) (۳۲)، شیوع مقاومت جدایه های *اشریشیا کلی* O157:H7 جدا شده از فراورده های گوشتی برعلیه آنتی بیوتیک های سفازولین، سفالکسین، سفوکسیتین، سفوروکسیم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفپیم، آمپی سیلین، آموکسی سیلین، نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکسازین، کلرامفنیکل، جنتامایسین، تتراسایکلین، تری متوپریم و ایمین پنم به ترتیب ۲۳/۹۰، ۵۲/۱۰، ۹/۹۰، ۵/۶۰، ۳/۵۰، ۷/۷۰، ۱/۴۰، ۶۱/۳۰، ۳۶/۶۰، ۷۱/۸۰، ۴۵/۱۰، ۴۷/۲۰، ۱۴/۱۰، ۵۳/۵۰، ۵۲/۸۰ و ۲۸/۲۰ درصد بود. به شکل مشابه، مقاومت بالای جدایه های *اشریشیا کلی* O157:H7 نسبت به آنتی بیوتیک های تتراسیکلین، آمپی سیلین، پنی سیلین و جنتامایسین در مطالعات انجام پذیرفته در سایر کشور ها نیز گزارش شده است (۳۳-۳۵). از جمله دلایل احتمالی اختلاف دی میزان و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *اشریشیا کلی* O157:H7 جدا شده در مطالعات مختلف می توان به اختلاف در میزان دسترسی به آنتی بیوتیک ها، دوز

آنتی بیوتیک های مورد استفاده، نظر پزشکان و دامپزشکان در تجویز آنتی بیوتیک ها، استفاده از روش هایی همچون انتشار دیسکی آنتی بیوتیک برای یافتن بهترین انتخاب درمانی و در نهایت قیمت آنتی بیوتیک‌ها، اشاره نمود. به هر جهت احتمالا تجویز بی رویه و غیراصولی آنتی بیوتیک ها، عدم تکمیل دوره درمانی با آنتی بیوتیک، مصرف بیش از حد از مواد ضدعفونی کننده و استفاده از درمان های تک دارویی برای بیماری های عفونی، دلایل بروز مقاومت های شدید آنتی بیوتیکی در سویه های *اشریشیا کلی* O157:H7 می باشند.

نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که نمونه های همبرگر به عنوان یک ماده غذایی مهم در بقا و انتقال سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک *اشریشیا کلی* O157:H7 و ایجاد بیماری در انسان محسوب می‌شود. بنابراین کنترل و بازرسی دقیق تر گوشت موردِ استفاده برای تولید همبرگر و جلوگیری از آلودگی آن در کشتارگاه و نهایتاً جلوگیری از آلودگی نمونه های همبرگر تولید شده در اثر تماس با محیط آلوده و همچنین دستکاری هایی که از طرف کارکنان می شود، می تواند شیوع آلودگی به *اشریشیا کلی* O157:H7 را در این مواد غذایی کاهش دهد. پخت کامل همبرگر، استفاده از برند های معتبر همبرگر و تجویز آنتی بیوتیک ها به شکل قانونمند و با توجه به نتایج آزمون های ساده ای مانند انتشار دیسکی می تواند از بروز مسمومیت های غذایی بوسیله سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک به *اشریشیا کلی* O157:H7 جلوگیری کند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این تحقیق، کمال تشکر را از اداره کل دامپزشکی استان مازندران برای همکاری های انجام پذیرفته در طول انجام این مطالعه، دارند.

منابع

1. Tamminga, S.K., Beumer, R.R., Kampelmacher, E.H. (1982). Microbiological studies on hamburgers. *Epidemiology & Infection*, **88**: 125-142.
2. Schaffner, D.W., Schaffner, K.M. (2007). Management of risk of microbial cross-contamination from uncooked frozen hamburgers by alcohol-based hand sanitizer. *Journal of Food Protection*, **70**: 109-113.
3. Angulo, F.J., Jones, T.F., Angulo, F.J. (2006). Eating in restaurants: a risk factor for foodborne disease?. *Clinical Infectious Diseases*, **43**: 1324-1328.
4. Bell, B.P., Goldoft, M., Griffin, P.M., Davis, M.A., Gordon, D.C., Tarr, P.I., Bartleson, C.A., Lewis, J.H., Barrett, T.J., Wells, J.G. Baron, R. (1994). A multistate outbreak of *Escherichia coli* o157: h7—associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers: the washington experience. *Journal of American Medical Association*, **272**: 1349-1353.
5. Strachan, N.J., Dunn, G.M., Locking, M.E., Reid, T.M., Ogden, I.D. (2006). *Escherichia coli* O157: burger bug or environmental pathogen?. *International Journal of Food Microbiology*, **112**: 129-137.
6. Ranjbar, R., Dehkordi, F.S., Shahreza, M.H.S., Rahimi, E. (2018). Prevalence, identification of virulence factors, O-serogroups and antibiotic resistance properties of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* strains isolated from raw milk and traditional dairy products. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, **7**: 53.

7. Momtaz, H., Dehkordi, F.S., Hosseini, M.J., Sarshar, M., Heidari, M. (2013). Serogroups, virulence genes and antibiotic resistance in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from diarrheic and non-diarrheic pediatric patients in Iran. *Gut Pathogens*, **5**: 39.
8. Momtaz, H., Dehkordi, F.S., Rahimi, E., Ezadi, H., Arab, R. (2013). Incidence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroups in ruminant's meat. *Meat Science*, **95**: 381-388.
9. Momtaz, H., Dehkordi, F. S., Taktaz, T., Rezvani, A., Yarali, S. (2012). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from bovine mastitic milk: serogroups, virulence factors, and antibiotic resistance properties. *The Scientific World Journal*, **2012**: 1-9.
10. Momtaz, H., Farzan, R., Rahimi, E., Safarpoor Dehkordi, F., Souod, N. (2012). Molecular characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from ruminant and donkey raw milk samples and traditional dairy products in Iran. *The Scientific World Journal*, **2012**: 1-13.
11. Ranjbar, R., Masoudimanesh, M., Dehkordi, F.S., Jonaidi-Jafari, N., Rahimi, E. (2017). Shiga (Vero)-toxin producing *Escherichia coli* isolated from the hospital foods; virulence factors, o-serogroups and antimicrobial resistance properties. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, **6**: 4.
12. Shahrani, M., Dehkordi, F.S., Momtaz, H. (2014). Characterization of *Escherichia coli* virulence genes, pathotypes and antibiotic resistance properties in diarrheic calves in Iran. *Biological Research*, **47**: 28.
13. Dehkordi, F.S., Yazdani, F., Mozafari, J., Valizadeh, Y. (2014). Virulence factors, serogroups and antimicrobial resistance properties of *Escherichia coli* strains in fermented dairy products. *BMC Research Notes*, **7**: 217.
14. Ranjbar, R., Seyf, A., Dehkordi, F.S. (2019). Prevalence of antibiotic resistance and distribution of virulence factors in the shiga Toxigenic *Escherichia coli* recovered from hospital food. *Jundishapur Journal of Microbiology*, **12**: e82659.
15. Hemmatinezhad, B., Khamesipour, F., Mohammadi, M., Safarpoor Dehkordi, F., Mashak, Z. (2015). Microbiological investigation of o-serogroups, virulence factors and antimicrobial resistance properties of shiga toxin- producing *Escherichia Coli* isolated from ostrich, turkey and quail meats. *Journal of Food Safety*, **35**: 491-500.
16. Hessain, A.M., Al-Arfaj, A.A., Zakri, A.M., El-Jakee, J.K., Al-Zogibi, O.G., Hemeg, H.A., Ibrahim, I.M. (2015). Molecular characterization of *Escherichia coli* O157: H7 recovered from meat and meat products relevant to human health in Riyadh, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **22**: 725-729.
17. Fratamico, P.M., Bagi, L.K., Pepe, T. (2000). A multiplex polymerase chain reaction assay for rapid detection and identification of *Escherichia coli* O157: H7 in foods and bovine feces. *Journal of Food Protection*, **63**: 1032-1037.
18. CLSI. (2015). CLSI document M100-S25. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement.
19. Cieslak, P.R., Noble, S. J., Maxson, D.J., Empey, L.C., Ravenholt, O., Legarza, G., Tuttle, J., Doyle, M.P., Barrett, T.J., Wells, J.G. McNamara, A.M. (1997). Hamburger-associated *Escherichia coli* O157: H7 infection in Las Vegas: a hidden

nugget. *International Journal of Environmental Health Engineering*, **3**: 20.
27. Hosseini, S., Ezzatpanah, H., Aminlari, M., Mazaheri, A.M. (2011). Investigating the contamination of *E. coli* O157:H7 in processed meat products produced in two factories at Shiraz and Tehran. *Journal of Food Technology and Nutrition*, **8**: 37-45.
28. Stampi, S., Caprioli, A., De Luca, G., Quaglio, P., Sacchetti, R., Zanetti, F. (2004). Detection of *Escherichia coli* O157 in bovine meat products in northern Italy. *International Journal of Food Microbiology*, **90**: 257-262.
29. Dontorou, C., Papadopoulou, C., Filioussis, G., Economou, V., Apostolou, I., Zakkas, G., Salamoura, A., Kansouzidou, A. Levidiotou, S., (2003). Isolation of *Escherichia coli* O157: H7 from foods in Greece. *International Journal of Food Microbiology*, **82**: 273-279.
30. Abbasi, S., Momtaz, H., Rahimi, E., Momeni, M., Riahi, M. (2012). Detection and assessment of antimicrobial resistance properties in *Escherichia coli* O157 isolated from pheasant, partridge, duck and goose meat. *Pajoohandeh Journal*, **17**: 210-214.
31. Adzitey, F. (2020). Incidence and antimicrobial susceptibility of Escherichia coli isolated from beef (meat muscle, liver and kidney) samples in Wa Abattoir, Ghana. *Cogent Food & Agriculture*, **6**:1718269.
32. Seo, K.W., Lee Y.J. (2018). Prevalence of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from poultry in Korea. *The Preventive Veterinary Medicine*, **42**: 120-123.
33. Naser A, Al-Wabel. (2007). Antibiotic susceptibility of *E. coli* O157:H7 isolated from beefburger. Bulletin of Pharmaceutical Sciences. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences Assiut*, **30**: 1s31-134.
epidemic. *American Journal of Public Health*, **87**: 176-180.
20. Ivbade, A., Ojo, O.E., Dipeolu, M.A. (2014). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: H7 in milk and milk products in Ogun State, Nigeria. *Veterinary Italiana*, **50**: 185-191.
21. Shecho, M., Thomas, N., Kemal, J., Muktar, Y. (2017). Cloacael carriage and multidrug resistance *Escherichia coli* O157: H7 from poultry farms, eastern Ethiopia. *Journal of Veterinary Medicine*, **2017**: 1-9.
22. Currie, A., Honish, L., Cutler, J., Locas, A., Lavoie, M.C., Gaulin, C., Galanis, E., Tschetter, L., Chui, L., Taylor, M. Jamieson, F. (2019). Outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 infections linked to mechanically tenderized beef and the largest beef recall in Canada, 2012. *Journal of Food Protection*, **82**: 1532-1538.
23. de Oliveira Elias, S., Noronha, T.B., Tondo, E. C. (2019). Salmonella spp. and *Escherichia coli* O157: H7 prevalence and levels on lettuce: A systematic review and meta-analysis. *Food Microbiology*, **84**: 103217.
24. Ramires, T., Iglesias, M.A., Vitola, H.S., Núncio, A.S.P., Kroning, I.S., Kleinubing, N.R., Fiorentini, Â.M. da Silva, W.P. (2020). First report of *Escherichia coli* O157: H7 in ready-to- eat sushi. *Journal of Applied Microbiology*, **128**: 301-309.
25. Assefa, A., Regassa, F., Ayana, D., Amenu, K., Abunna, F. (2019). Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of *Escherichia coli* O157: H7 isolated from harvested fish at Lake Hayq and Tekeze dam, Northern Ethiopia. *Heliyon*, **5**: e02996.
26. Miri, A., Rahimi, E., Mirlohi, M., Mahaki, B., Jalali, M., Safaei, H. G. (2014). Isolation of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: H7/NM from hamburger and chicken

34. Davis, G.S., Waits, K., Nordstrom, L., Grande, H., Weaver, B., Papp, K., Horwinski, J., Koch, B., Hungate, B.A., Liu, C.M. Price, L.B. (2018). Antibiotic-resistant *Escherichia coli* from retail poultry meat with different antibiotic use claims. *BMC Microbiology*, **18**: 174.
35. Jaja, I.F., Oguttu, J., Jaja, C.J.I., Green, E. (2020). Prevalence and distribution of antimicrobial resistance determinants of *Escherichia coli* isolates obtained from meat in South Africa. *Plos One*, **15**: e0216914.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 16, Issue 2, 2020

Determination of antibiotic resistance pattern of *Escherichia coli* O157:H7 isolates from hamburger in Mazandaran province

Mehdi Karimpour[1], Vadood Razavilar[2*], Nordahr Rokni[2], Mohammad Ahmadi[3]

1. *PhD Student, Department of Food Hygiene, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.*
2. *Professor, Department of Food Hygiene, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.*
3. *Asistant Professor, Department of Food Science and Technology, Savadkooh Branch, Islamic Azad University, Savadkooh, Iran.*

Received: 23 October2020 *Accepted: 14 February2021*

Abstract

Escherichia coli O157:H7 is one of the potential causes of foodborne diseases. The role of cattle meat is known as the source of Escherichia coli strains O157:H7. The present study was performed to evaluate the prevalence and antibiotic resistance of Escherichia coli O157:H7 strains isolated from hamburger samples collected from Mazandaran province. Two-hundred samples of hamburgers were randomly collected from the shopping centers of Mazandaran province. Confirmation of Escherichia coli O157:H7 isolates grown in microbial culture medium was performed using biochemical tests and PCR reaction. The pattern of antibiotic resistance of the isolates was evaluated using the antibiotic disk diffusion method. According to the results, 19 out of 200 samples (9.50%) of hamburger collected from Mazandaran province were contaminated with Escherichia coli O157:H7. Escherichia coli O157:H7 strains had the highest resistance to tetracycline (100%), ampicillin (100%), gentamicin (89.47%), sulfamethoxazole (73.68%) and ciprofloxacin (73.68%) antibiotics. The lowest resistance was obtained against chloramphenicol (15.78%) and cefotaxime (42.10%) antibiotics. Hamburger was considered as a source of transmission of antibiotic- resistant Escherichia coli O157:H7 strains.

Keywords: Escherichia coli O157:H7, Antibiotic resistance, Hamburger, Mazandaran.

**Corresponding author: Vadood Razavilar*
Address: Department of Food Hygiene, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
Email: Vrazavi@ut.ac.ir