مطالعه میزان آلودگی پنیرهای سنتی شهرستان مراغه به باکتری *اشریشیا کلی* $O_{157}:H_7$

سامان مهدوی

گروه میکروبیولوژی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران.

***نویسنده مسئول:** *s.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۹/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۵

چکیده

این مطالعه جهت ارزیابی آلودگی پنیرهای سنتی تولید شده در روستاهای شهرستان مراغه به *اشریشیا کلی* $O_{157}:H_7$ که بعنوان یکی از مهمترین سروتیپ‌های بیماری‌زای انسان در سالهای اخیر معرفی شده است طراحی و با اخذ نمونه‌های تصادفی از روستاهای تولید و توزیع این فراورده به اجرا گذارده شد. ابتدا نمونه های پنیر(۱۰۰ نمونه) در محیط کشت Tryptic Soy Broth حاوی آنتی بیوتیک سفکسیم و سپس در محیط مک‌کانکی سوربیتول آگار حاوی آنتی بیوتیک سفکسیم و تلوریت پتاسیم کشت داده شدند. کلنی‌های مشکوک رنگ آمیزی گرم شده و بر روی آنها آزمون IMVC و سایر آزمون‌ها انجام شد و واکنش آنها با *اشریشیا کلی*، جهت تشخیص سروتیپ O و H به روش آگلوتیناسیون مستقیم مورد آزمایش قرار گرفتند. pH و میزان نمک پنیر نیز اندازه‌گیری شد. از باکتری‌های *اشریشیا کلی* جدا شده از نمونه‌های پنیر، آزمایش آنتی بیوگرام به روش کربی بوئر به‌عمل آمد. هیچ موردی از *اشریشیا کلی* $O_{157}:H_7$ در نمونه‌های مطالعه شده مشاهده نگردید. در این مطالعه سایر سروتیپهای *اشریشیا کلی* تشخیص داده شدند که شامل ۳۲ مورد سروتیپ‌های *Non* O_{157} بود. در بین این سروتیپ‌ها، سویه‌های انتروپاتوژن (O_{125}،O_{126}، O_{44}،O_{114}،O_{86}،O_{127}،O_{55})، انتروتوکسیژن (O_{20}، O_{128}) و وروتوکسیژن (O_{111}،O_{26}) وجود داشتند. تمام سویه‌های جدا شده نسبت به دوآنتی بیوتیک آمپی سیلین و پلی میکسین B مقاوم بودند. تأثیر نسبت شیوع سروتیپ‌های *اشریشیا کلی* از میزان pH و نمک پنیر از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). نتایج این مطالعه نشان داد که پنیرهای سنتی تولید شده می‌توانند بعنوان حامل بالقوه برای سروتیپ‌های مختلف *اشریشیا کلی* عمل نموده و منجر به بروز بیماری در انسان شود.

واژگان کلیدی: *اشریشیا کلی* $O_{157}:H_7$ ، پنیر سنتی، مقاومت آنتی بیوتیکی.

مقدمه

اشریشیا کلی فلور طبیعی روده بزرگ و به میزان کمتر روده کوچک تمام حیوانات خونگرم می‌باشد. این باکتری در مدفوع، گرد و غبار و همچنین آب، هفته‌ها تا ماه‌ها باقی می‌ماند. اهمیت *اشریشیا کلی* بدلیل وجود سویه‌های بیماریزایی است که عامل بیماری‌های روده‌ای و مسمومیت‌های غذایی انسان به ویژه نوزادان می‌باشد (Tabatabayi and Firouzi, 2001). *اشریشیا کلی* دارای نقش مهمی در کیفیت مواد غذایی از جمله پنیر است و حضور آن در این ماده غذایی بعنوان شاخص آلودگی مدفوعی در نظر گرفته می‌شود. تحقیقات مختلف نشان داده که ۵-۱ درصد عفونت‌های ناشی از مواد غذایی با مصرف شیر و محصولات لبنی مرتبط است که ۵۳٪ موارد عفونت‌های ناشی از مواد غذایی بعلت پنیرهای آلوده می‌باشد. (Mansuri Najand and Ghanbarpour, 2006). *اشریشیا کلی* $O_{157}:H_7$ بعنوان باکتری خونریزی دهنده روده‌ای در گروه *اشریشیا کلی* تولید کننده وروتوکسین قرار گرفته و اولین بار در ۴۷ نفر که همبرگر آلوده خورده بودند مشاهده شد (Oksuz et al., 2004). تاکنون دو نوع از این سموم تشخیص داده شده‌اند که وروتوکسین ۱و۲ نامیده می‌شوندکه به باکتری امکان بیماری‌زایی می‌دهند (بنیادیان و همکاران، ۱۳۸۷). *اشریشیا کلی* O157:H7 بعنوان یکی از عمده‌ترین سویه‌های بیماری‌زای انسان معرفی شده است که ایجاد کولیت هموراژیک، سندرم همولیتیک اورمیک و پورپورای ترومبوتیک ترومبوسیتوپنیک کرده (Jamshidi et al., 2008) و سالانه باعث بروز چندین مورد مرگ و میر می‌شود. این باکتری از طریق مواد غذایی بخصوص مواد غذایی با منشاء دامی از جمله شیر و فرآورده‌های آن، گوشت چرخ کرده و همبرگر به انسان منتقل می‌شود

(بنیادیان و همکاران، ۱۳۸۷). در سال ۱۹۹۶ در کشور اسکاتلند ۵۰۶ مورد عفونت انسان با باکتری *اشریشیا کلی* O_{157} گزارش شد (Coia et al., 2001). غیر از گاو، مهم‌ترین مخازن طبیعی *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$، گوسفند و بز هستند. این باکتری از مدفوع گاوهای سالم نیز جداسازی شده است، بنابراین شیر و فرآورده‌های لبنی تولید شده از شیر این دام‌ها در صورتی‌که به طور مناسب پاستوریزه نشده باشد ممکن است باعث عفونت شود. آنالیز مواد غذایی که عامل شیوع بیماری شناخته شده‌اند ثابت کرده است که دوز عفونی *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ ۱۰-۲۰ cfu/gr می‌باشد (Oksuz et al., 2004). تشخیص این باکتری در غذا در عین حال که عامل خطر برای ایجاد بیماری است ولی دلیلی بر ایجاد بیماری در صورت مصرف غذا نمی‌باشد. *اشریشیا کلی* حتی اگر به تعداد کم در غذا موجود باشد دارای قدرت بیماری‌زایی است و در صورت مهیا شدن شرایط، تکثیر می‌یابد (بنیادیان و همکاران، ۱۳۸۶). این باکتری در شیر خام در دمای ۸-۵ درجه سانتی‌گراد حداقل بمدت ۱۴ روز می‌تواند زنده بماند ولی تعداد آن در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد بعد از ۴ روز بسرعت کاهش می‌یابد (Chapman, 2000). با توجه به اینکه این باکتری در بهداشت انسان اهمیت دارد و با توجه به اینکه تاکنون مطالعه جامعی در خصوص میزان آلودگی پنیر محلی به این سویه باکتری در منطقه مراغه صورت نگرفته است، مطالعه حاضر طراحی گردید تا میزان آلودگی پنیر محلی به این سویه مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش کار

این تحقیق از اسفند ماه سال ۱۳۹۱ تا مهر ماه سال ۱۳۹۲ بر روی ۱۰۰ نمونه پنیر سنتی اخذ شده از روستاهای شهرستان مراغه انجام شد. میزان ۱۰۰ گرم نمونه پنیر سنتی از هر خانوار روستایی در ظروف استریل گرفته شد در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال یافت. نمونه‌ها پس از همگن شدن، به میزان ۱۰ gr در ۹۰ml محیط Tryptic Soy Broth به همراه ۰/۰۵ mg/lit آنتی بیوتیک سفکسیم کشت و در دمای ۳۲° c بمدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شدند. سپس یک لوپ از آن به محیط مکانکی سوربیتول آگار به همراه ۰/۰۵ mg/lit آنتی بیوتیک سفکسیم و ۲/۵ mg/lit تلوریت پتاسیم منتقل شده و در دمای ۳۵° c بمدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شدند. برای جداسازی باکتری *اشریشیا کلی* $O_{157}:H_7$ کلنی‌های بی رنگ و برای جداسازی سایر گروه‌های سرمی *اشریشیا کلی*، کلنی های قرمز رنگ جداسازی شدند که پس از رنگ آمیزی گرم، تک کلنی‌ها به محیط نوترینت آگار منتقل و در دمای ۳۷° c بمدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شدند. سپس آزمون IMVC به همراه کشت در محیط های EMB و TSI بر روی نمونه‌ها انجام شد و در صورت تائید باکتری *اشریشیا کلی*، برای تعیین گروه‌های سرمی از آنتی‌سرم اختصاصی O استفاده شد (AOAC, 2002). همزمان با کشت نمونه‌های پنیر، pH پنیر توسط دستگاه pH سنج HORIBA (مدل F۱۲) اندازه‌گیری شد و همچنین میزان نمک پنیر با روش تیتراسیون Mohr اندازه‌گیری شد (Majedi, 1997). از باکتری‌های *اشریشیا کلی* جدا شده از نمونه‌های پنیر، آزمایش آنتی بیوگرام به روش کربی بوئر در محیط مولر هینتون آگارانجام شد. از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی آمیکاسین، نالیدیکسیک اسید، آمپی‌سیلین، سفالوتین، کلرامفنیکل، سولفامتاکسازول، استرپتومایسین، جنتامایسین، نیتروفورانتوئین، پلی‌میکسینB، تتراسایکلین، توبرامایسین (شرکت پادتن طب) جهت بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جدا شده *اشریشیا کلی* استفاده شد. از سوش استاندارد باکتری *اشریشیا کلی* (PTCC ۱۲۷۰) بعنوان شاهد استفاده شد. پس از مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری، قطر هاله ممانعت از رشد نمونه‌ها پس از اندازه‌گیری و مراجعه به جدول شرکت سازنده آنتی‌بیوتیکی ثبت شد.

نتایج

نتایج این بررسی نشانگر این بود که از ۱۰۰ نمونه پنیر محلی مورد آزمایش، پس از انجام آزمایشات میکروبی، هیچ مورد مثبتی از *اشریشیا کلی* $O_{157}:H_7$ دیده نشد. در این مطالعه سایر سروتیپ‌های *اشریشیا کلی* جداسازی شدند که شامل ۳۲ مورد سروتیپ‌های *Non* O_{157} بود. در میان این سروتیپ‌ها دو مورد مربوط به سروتیپ‌های گروه ۱ (O_{111}، O_{55}،O_{26})، ۵ مورد مربوط به سروتیپ‌های گروه ۲ (O_{127}،O_{86})، ۴ مورد مربوط به سروتیپ‌های گروه۳ (O_{128}،O_{126}،O_{125}،O_{44}) و یک مورد مربوط به سروتیپ‌های گروه۴ (O_{114}،O_{20}) بودند. ۲۰ سویه جدا شده نیز در هیچ کدام از گروه‌های سرمی فوق نبودند (جدول۱).

جدول ۱- گروه‌های سرمی *اشریشیا کلی*‌های جدا شده از پنیرهای سنتی

گروه سرمی	سروتیپ	تعداد جدایه
I	O_{111}، O_{55}،O_{26}	۲
II	O_{127}،O_{86}	۵
III	O_{128}،O_{126}،O_{125}،O_{44}	۴
IV	O_{114}،O_{20}	۱
غیر قابل طبقه بندی	۲۰	۲۰
تعداد کل	—	۳۲

تمام سویه‌های جدا شده نسبت به دوآنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین و پلی‌میکسینB مقاوم بودند. بیشترین حساسیت سویه‌های *اشریشیا کلی* جدا شده بترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین، نیتروفورانتوئین، توبرامایسین و نالیدیکسیک اسید مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۲- نتایج آنتی‌بیوگرام بدست آمده از پنیرهای سنتی روستاهای شهرستان مراغه

نام آنتی‌بیوتیک	علامت اختصاری	غلظت دارو بر حسب میکروگرم	سویه‌های اشریشیاکلی		
			حساس (درصد)	مقاوم (درصد)	نیمه حساس (درصد)
آمیکاسین	AN	۳۰	(۹۰/۶)۲۹	(۰)۰	(۹/۴)۳
نالیدیکسیک اسید	NA	۳۰	(۸۱/۲۵)۲۶	(۶/۲۵)۲	(۱۲/۵)۴
آمپی‌سیلین	AM	۱۰	(۰)۰	(۱۰۰)۳۲	(۰)۰
سفالوتین	CF	۳۰	(۰)۰	(۹۳/۷۵)۳۰	(۶/۲۵)۲
کلرامفنیکل	C	۳۰	(۸۴/۳۵)۲۷	(۹/۴)۳	(۶/۲۵)۲
تری‌متوپریم- سولفامتوکسازول	SXT	۲۳/۷۵	(۵۶/۲۵)۱۸	(۳۷/۵)۱۲	(۶/۲۵)۲
استرپتومایسین	S	۱۰	(۳۱/۲)۱۰	(۳۴/۴)۱۱	(۳۴/۴)۱۱
جنتامایسین	GM	۳۰	(۸۷/۵)۲۸	(۹/۴)۳	(۳/۱)۱
نیتروفورانتوئین	FM	۳۰۰	(۸۷/۵)۲۸	(۳/۱)۱	(۹/۴)۳
پلی‌میکسینB	PB	۳۰۰	(۰)۰	(۱۰۰)۳۲	(۰)۰
تتراسایکلین	TE	۳۰	(۰)۰	(۷۸/۲)۲۵	(۲۱/۸)۷
توبرامایسین	ToB	۱۰	(۹۰/۶)۲۹	(۶/۲۵)۲	(۳/۱)۱

برآورد تاثیرپذیری نسبت شیوع *اشریشیا کلی* از میزان pH و نمک پنیر با استفاده از روش مدل لجستیک (Eghbal Saeed et al., 1997) نشان داد که به ازای هر یک درصد افزایش pH پنیر و نمک آن، بترتیب ۵/۳ و ۰/۰۲۷ درصد به شیوع *اشریشیا کلی* در پنیرها افزوده می‌گردد، ولی بر اساس مقدار عددی کای مربع بدست

آمده از مدل لجستیک، این مقدار تاثیرپذیری از لحاظ آماری معنی‌دار نبود($p>0/05$). با وجود اینکه نسبت پیش‌بینی شدهٔ شیوع به *اشریشیا کلی* در نمونه‌های تازه و کهنه پنیر بر اساس مدل لجستیک به ترتیب ۰/۳۰۸ و ۰/۲۵۷ درصد بوده و پنیرهای تازه آلودگی بیشتری داشتند، ولی این میزان تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p>0/05$). آماره‌های توصیفی متغیرهای تحقیق در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳- آماره‌های توصیفی متغیرهای تحقیق

متغیر	تعداد نمونه	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
pH	۱۰۰	۴/۷۲۸	۰/۵۳۳	۳/۳۵	۶/۶۴
درصد نمک	۱۰۰	۵/۳۵۶	۱/۸۷	۱/۲	۱۱/۶
درصد شیوع *اشریشیا کلی*	۱۰۰	۰/۳۲	۰/۴۵۶	۰	۱

بحث

اشریشیا کلی یک باکتری بیماری‌زای فرصت طلب بوده و در مواد غذایی بعنوان یک میکروب شاخص بهداشتی حائز اهمیت است. در سال‌های اخیر *اشریشیا کلی* $O_{157}:H_7$ باعث بروز همه‌گیری‌هایی در برخی نقاط جهان شده است و به این دلیل توجه محققین و دست اندرکاران امور بهداشتی را به خود جلب کرده است. وقوع بیماری *اشریشیا کلی* خونریزی دهنده در سال ۱۹۸۲ در یک خانه سالمندان واقع در کشور کانادا اتفاق افتاد و غذای آلوده بعنوان عامل بیماری گزارش گردید. جداسازی فزاینده *اشریشیا کلی* $O_{157}:H_7$ از کشورکانادا بیانگر این است که در بین سالهای ۱۹۸۶-۱۹۸۲، هر ساله میزان جداسازی این میکروب بیش از دو برابر افزایش پیدا می‌کند و در این کشور هم اکنون سروتیپ $O_{157}:H_7$ اکثریت *اشریشیا کلی* را تشکیل می‌دهد (Razavilar, 2003). اکثر گزارشات موجود در خصوص ردیابی *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ نشان می‌دهد گوشت گاو به عنوان مهم‌ترین فرآورده دامی در انتقال این عامل پاتوژن به انسان نقش بازی می‌کند و میزان آلودگی گوشت گاو به این باکتری در کشورهای مختلف بسیار متفاوت و بین ۴۲-۰ درصد نمونه‌ها متغیر بوده است. آلودگی سایر مواد غذایی و فرآورده‌های لبنی به این عامل پاتوژن بسیار پایین‌تر گزارش شده است (صفرپور دهکردی و همکاران، ۱۳۹۳). تحقیقات محققین نشانگر این است که پنیر حامل مناسبی برای سروتیپ‌های بیماری‌زا و مهاجم باکتری *اشریشیا کلی* می‌باشد (بنیادیان و همکاران، ۱۳۸۷). بر اساس نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر، میزان آلودگی پنیرهای سنتی تولید شده در روستاهای شهرستان مراغه به باکتری *اشریشیا کلی* $O_{157}:H_7$ صفر می‌باشد که این گزارش با نتایج اکثر محققین مطابقت دارد. در مطالعه‌ای در کشور اسپانیا که در مورد وقوع *اشریشیا کلی* تولید کننده شیگاتوکسین در پنیرهای گوسفندی انجام شد هیچ باکتری *اشریشیا کلی* $O_{157}:H_7$ از نمونه‌های پنیر جداسازی نشد (Caro and Garcia Armesto, 2007). در تحقیقی در کشور ترکیه که بر روی شیوع پاتوژن‌های با منشاء مواد غذایی بر روی پنیر Van otlu صورت گرفت، شیوع صفر درصد باکتری *اشریشیا کلی* $O_{157}:H_7$ از نمونه‌های پنیر گزارش شد (Tekinsen and Ozdemir, 2005). Coia et al. (2001) در تحقیقی در کشور اسکاتلند میزان آلودگی شیر خام گاو و پنیرهای حاصله از شیر خام به باکتری *اشریشیا کلی* O_{157} را صفر درصد گزارش کردند. صفرپوردهکردی و همکاران (۱۳۹۳) از ۱۱۰ نمونه پنیر گوسفندی در شهر اصفهان، ۲۳ مورد باکتری اشریشیاکلی شناسایی کردند که هیچ کدام از آنها *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ نبودند. بنیادیان و همکاران (۱۳۸۷) در ارزیابی وضعیت آلودگی پنیرهای سنتی به

سروتیپ‌های *اشریشیا کلی* دراستان چهارمحال و بختیاری، از ۲ درصد نمونه‌های بررسی شده سروتیپ O_{157} را جدا کردند ولی هیچ کدام از سروتیپ‌های جدا شده دارای آنتی ژن H_7 نبودند. در تحقیقی که توسط Oksuz et al. (2004) در کشور ترکیه صورت گرفت *اشریشیا کلی* $O_{157}:H_7$ در ۴ درصد از پنیرهای سفید گزارش شد. مطالعات اپیدمیولوژیک نشانگر تغییرات جغرافیایی شیوع عفونت با این باکتری است. همچنین فراوانی حیوانات مخزن نیز عامل دیگری برای افزایش موارد آلودگی محسوب می‌شود. چون اکثر سویه های *اشریشیاکلی*، پاتوژن نیستند و برخی از سویه‌ها، انواع گوناگونی از بیماری‌ها را ایجاد می‌کنند، بنابراین تمایز بین سویه‌ها و گروه‌های مختلف برای شناسایی سویه‌های مسئول شیوع بیماری از اهمیت خاصی برخوردار است (Kargar et al., 2013). در مطالعه اخیر ۳۲ سویه باکتری *اشریشیا کلی*(۳۲٪) از نمونه‌های پنیر محلی شناسایی شد. در بین سروتیپ‌های جدا شده در هر گروه، برخی انتروپاتوژن (O_{125}،O_{126}،O_{44}،O_{114}،O_{86}،O_{127}،O_{55}) و برخی انتروتوکسیژن (O_{20}،O_{128}) و سویه‌هایی وروتوکسیژن (O_{26}،O_{111}) بودند که از نظر تعدد سروتیپ‌های جدا شده در پنیرهای سنتی با نتایج تحقیق بنیادیان و همکاران (۱۳۸۷) مطابقت دارد. سویه‌های جدا شده (۲۰سویه) نیز در هیچکدام از گروه‌های سرمی فوق نبودند. با توجه به اینکه در مطالعه حاضر سویه‌های دیگری بجز O_{157} از پنیرهای محلی جدا شده است بدرستی نمی‌توان در خصوص بیماری‌زا بودن این سویه‌ها اظهار نظر کرد. در این مطالعه تمام سویه‌های *اشریشیا کلی* جدا شده از نمونه‌های پنیر به بیش از دو آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین و پلی‌میکسینB مقاوم بودند. همچنین سویه‌های باکتریایی جدا شده، مقاومت بالایی نسبت به دو آنتی‌بیوتیک سفالوتین و تتراسایکلین نشان دادند که با نتایج تحقیق Prendergast et al. (2009) و کارگر و همکاران (۲۰۱۳) همخوانی دارد. با مصرف پنیرهای حاوی این گونه باکتری‌ها علاوه بر خطر بیماری‌زایی، انتقال باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک به بدن انسان وجود دارد که با رعایت اصول بهداشتی در زمان دوشش دام‌ها و پاستوریزاسیون شیر قبل از تهیه پنیر می توان بطور چشم‌گیری از پیامدهای ناشی از آن جلوگیری کرد. بر اساس استاندارد ملی ایران، در هر گرم از مواد غذایی تا ۱۰ کلی‌فرم قابل قبول است مشروط به اینکه هیچ یک از آنها *اشریشیاکلی* نباشند لذا این مطالعه نشان می‌دهد که تقریباً یک سوم از پنیرهای محلی تولیدی در روستاهای شهرستان مراغه غیر قابل مصرف می‌باشد. بطور طبیعی، باکتری *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ در گاوسانان وجود دارد که در صورت آلودگی فرآورده‌های حاصل از آن به ویژه شیر و فرآورده‌های غیر پاستوریزه آن، امکان انتقال آن به انسان وجود دارد. سازمان جهانی بهداشت به تمامی کشورهای جهان به ویژه کشورهای درحال توسعه (به علت نبود اطلاعات کافی در مورد شیوع باکتری) پایش آن را به عنوان یک اولویت تحقیقاتی پیشنهاد نموده است. بر همین اساس و با توجه به دوز عفونی اندک این باکتری، پایش مستمر و همزمان انواع نمونه‌های مواد غذایی و کلینیکی در سایر مناطق کشور توصیه می‌شود.

منابع

۱. بنیادیان، مجتبی.، زهرایی صالحی، تقی.، مشتاقی، حمداله.، زایر زاده، احسان. (۱۳۸۷). ارزیابی وضعیت آلودگی پنیرهای سنتی به سروتیپهای *اشریشیاکلی* دراستان چهارمحال و بختیاری. مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره۶۳، شماره ۵، صفحه ۳۰۴-۳۰۱.

۲. بنیادیان، مجتبی.، مشتاقی، حمداله.، شمس اسفندآبادی، ناصر.، زهرایی صالحی، ت.، فردیپور، آ. (۱۳۸۶). مطالعه میزان آلودگی شیرهای خام استان چهارمحال و بختیاری به باکتری *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$. مجله دامپزشکی ایران، سال سوم، شماره ۲، صفحه ۱۱-۵.

۳. صفرپور دهکردی، فرهاد.، رحیمی، ابراهیم.، قبادی، محمد.، یاحقی، عماد. (۱۳۹۳). اشریشیاکلی‌های تولیدکننده شیگاتوکسین در پنیرهای گوسفندی. فصلنامه بیماریهای عفونی و گرمسیری ایران، سال نوزدهم، شماره۶۶، صفحه ۲۹-۲۵.

4. Association of Official Analytical Chemists. 2002. FDA Bacteriological analytical manual. 8th ed, AOAC International, Gaithersburg M.D.
5. Caro, I and Garcia Armesto, M.R. 2007. Occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in a Spanish raw ewe's milk cheese. Int J Food Microbiol. 116: 410- 413.
6. Chapman, P.A. 2000. Methods available for the detection of *Escherichia coli O157* in clinical, Food and environmental samples. J Microbiol Biotechn. 16: 733-740.
7. Coia, J.E., Johnston, Y., Steers, N.J., and Hanson, M.F. 2001. A survey of the prevalence of *Escherichia coli* O_{157} in raw meats, raw cow's milk and raw-milk cheeses in south-east Scotland. Int J Food Microbiol. 66: 63– 69.
8. Eghbal Saeed, S., Gorbani, A., and Mehmannavaz, Y. 1997. Biostatistics for Animal Science. Amidi Publication, Tehran, Iran.
9. Gillespie, I.A., and Obrien, S.J. 2005. Food borne general outbreaks of shigatoxin-producing *E. coli* O_{157} in England and Wales. Epidemiol Infect. 133: 803-808.
10. Jamshidi, A., Bassami, M.R., and Rasooli, M. 2008. Isolation of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 from ground beef samples collected from beef markets, using conventional culture and polymerase chain reaction in Mashhad, northeastern Iran. Ir J Vet Res. 9: 72-76.
11. Kargar, M., Dianati, P., Homayoon, M., and Jamali, H. 2013. Isolation, Characterization and Antibiotic Resistance of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* in Hamburger and Evolution of Virulence Genes *stx1*, *stx2*, *eaeA* and *hly* by Multiplex PCR. J Fasa Univ Med Sci. 3: 208-214.
12. Majedi, M. 1997. Methods of chemical test in food. Nashre Danesh Institute, Tehran, Iran.
13. Mansuri Najand, L., and Ghanbarpour, R. 2006. A study on enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from domestic Iranian soft cheese. Veterinarski Arch. 76: 531-536.
14. Oksuz, O., Arici, M., Kurultay, S., and Gumus, T. 2004. Incidence of *Escherichia coli O157* in raw milk and white pickled cheese manufactured from raw milk in Turkey. Food Control. 15: 453–456.
15. Prendergast, D.M., Lendrum, L., Pearce, R., Ball, C., McLernon, J., O'Grady, D., Scott, L., Fanning, S., Egan, J., and Gutierrez, M. 2011. Verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157 in beef and sheep abattoirs in Ireland and characterization of isolates by Pulsed-Field Gel Electrophoresis and Multi-Locus Variable Number of Tandem Repeat Analysis. Int J Food Microbiol. 144: 519-527.
16. Razavilar, R. 2003. Pathogenic microorganisms in foods and epidemiology of food poisoning. Tehran University Press, Tehran, Iran.
17. Tabatabayi, A.H., and Firouzi, R. 2001. Diseases of animals due to bacteria. Tehran University Press, Tehran, Iran.
18. Tekinsen, K., and Ozdemir, Z. 2005. Prevalence of food borne pathogens in Turkish Van Otlu (Herb) cheese. Food Control. 17: 707-711.