

# جداسازی و شناسایی اشریشیا کولای سرو تیپ O157:H7 تولید کننده‌ی

## سم شیگا از گربه‌های سالم

شیمایا شاکری<sup>۱</sup>، فرنوش ارفعی<sup>۱\*</sup>، کیومرث امینی<sup>۲</sup>

### چکیده

باکتری اشریشیا کولای فلور طبیعی رودی حیوانات خونگرم می‌باشد. این باکتری‌های بی‌خطر می‌توانند با دریافت ژن‌های حدت از طریق پلاسمید، فاژیاترانسپوزون به سویه‌های پاتوژن تبدیل شوند. باکتری پاتوژن اشریشیا کولای می‌تواند از حیوانات ناقل بدون علامت به حیوانات دیگر و به انسان منتقل می‌شود. اشریشیا کولای O157:H7 به عنوان مهمترین عامل ایجاد سندرم همولیتیک اورمیا شناسایی شده است. با توجه به ارتباط تنگاتنگ انسان و گربه، این تحقیق به منظور بررسی وجود آلودگی با اشریشیا کولای O157:H7 در گربه‌های خانگی غیر اسهالی انجام شد.

تعداد ۱۰۱ باکتری اشریشیا کولای از مدفوع گربه‌های سالم ارجاعی به کلینیک‌های دامپزشکی تهران جدا سازی شد. جدایه‌های اشریشیا کولای با آزمایشات کشت و بیوشیمیایی مورد تایید قرار گرفتند. به منظور بررسی وجود سویه O157:H7 از محیط اختصاصی کروم آگار استفاده شد و ژن‌های توکسین زای سم شیگا نوع یک و دو با روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات به‌دست آمده از آزمایشات همراه با اطلاعات پرسشنامه‌ها مورد تحلیل آماری قرار گرفتند.

تعداد ۳ نمونه اشریشیا کولای O157:H7 که حامل ژن نوع دوم سم شیگا بودند شناسایی شد. براساس آنالیز آماری در مربع کای و آزمون کراسکال والیس رابطه‌ی معناداری بین وجود سویه O157:H7 با متغیرهای جنس، نژاد، تغذیه، تماس با سایر گربه‌ها، تردد در خارج از منزل و سن در سطح معناداری  $p < 0/05$  وجود نداشت. این نتایج نشان دهنده‌ی نقش گربه در انتشار و انتقال باکتری اشریشیا کولای O157:H7 به حیوانات دیگر و انسان است. بنابراین گربه می‌تواند مخزن این باکتری پاتوژن خطرناک باشد.

واژگان کلیدی: اشریشیا کولای، گربه، سم شیگا

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۷

### مقدمه

باکتری اشریشیا کولای از خانواده‌ی انتروباکتریاسه، به عنوان فلور میکروبی طبیعی و به صورت هم‌زیست در رودی حیوانات خونگرم وجود دارد (۵). این باکتری اولین بار توسط باکتری‌شناس آلمانی تئودور اشریش (Theodore Escherich)

زمانی که بر روی فلور مدفوع نوزادان مطالعه می‌کرد، تشخیص داده شد (۸). سویه‌های غیر پاتوژن این باکتری می‌توانند با دریافت ژن‌های حدت از طریق پلاسمید، فاژیاترانسپوزون به سویه‌های پاتوژن تبدیل شوند. در بین سویه‌های پاتوژن این باکتری سویه انتروهموژائیک اشریشیا کولای (*Enterohaemorrhagic Escherichia coli*) به دلیل ایجاد اسهال خونی و سندرم همولیتیک اورمیا (Hemolytic Uremic Syndrome) HUS حائز اهمیت است. سندروم HUS در موارد شدید ممکن است منجر به از دست دادن کلیه یا مرگ بیمار شود (۱). چند سویه‌ی سرمی این باکتری که از بیماران دارای سندروم HUS جدا شده‌اند شامل O157:H7 و O157:NM، O111:H8، O91:H21، O26:H11 می‌باشد. *Escherichiacoli* O157:H7 از مهم‌ترین و شایع‌ترین این سویه‌ها است (۱۸).

سویه‌ی *E. coli* O157:H7 اولین بار در سال ۱۹۸۲ در شیوع اسهال خونی در آمریکا به عنوان عامل بیماری‌زای انسانی شناسایی شد. پس از آن در سال ۱۹۸۳ به عنوان عامل ایجاد سندرم HUS شناسایی شد (۲۲). هر ساله موارد متعددی از همه‌گیری با این باکتری گزارش می‌شود (۱۹). این باکتری از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای منتقل شونده با غذا است. گاوها اصلی‌ترین مخزن این سویه هستند. حیوانات دیگر مانند گوسفند، بز، خوک و بوقلمون هم به عنوان مخزن این باکتری مطرح هستند (۲). انتقال از طریق هوا نیز در محل‌هایی که حیوانات آلوده وجود دارند به اثبات رسیده است (۲۶). این باکتری توانایی زیادی در زنده ماندن در خاک، آب و غذا دارد.

\* ۱- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

farfaee@yahoo.com

۲- کیومرث امینی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

است. احتمال بروز سندروم HUS در افراد درگیر با سویه‌هایی که فقط سم STX<sub>2</sub> را تولید می‌کنند؛ بیشتر است (۷ و ۱۰). مکانیسم بیماری‌زایی توسط مهار پروتئین‌سازی با فعالیت اختصاصی بر روی زیر واحد ۶۰S ریبوزوم پستانداران صورت می‌گیرد. STX فعالیت آنزیمی و پروتئولیزی دارد؛ سبب غیر فعال شدن زیر واحد ۶۰S ریبوزومی شده و فرآیند طولی‌سازی با فاکتور طولی‌سازی EF (Elongation factor) ریبوزوم‌ها را مسدود می‌کند (۲۷ و ۲۵).

با توجه به اهمیت باکتری *E. coli* O157:H7 در ایجاد بیماری و شیوع مسمومیت‌های ناشی از آن از یک سو و ضرورت شناسایی مخازن این باکتری جهت اقدامات بهداشتی و پیشگیرانه از سوی دیگر، و از طرفی ارتباط نزدیک انسان با گربه‌های خانگی و احتمال انتقال باکتری بین این دو، ضرورت دارد که وضعیت وجود پاتوتیپ‌های تولیدکننده‌ی توکسین *E. coli* O157:H7 در این حیوان مورد بررسی قرار گیرد تا از اطلاعات به‌دست آمده جهت پیشگیری، درمان و همچنین جلوگیری از شیوع عفونت استفاده شود (۱۷ و ۱۳، ۱۱). در این مطالعه، به سبب اهمیت وجود باکتری *اشریشیا کولای* *E. coli* O157:H7 در حیوانات به ظاهر سالم و نظر به این که تاکنون تحقیقی در این زمینه روی گربه‌های خانگی در ایران صورت نگرفته است، نقش گربه‌ها را به عنوان مخزن این پاتوتیپ توکسین‌زای مهم *اشریشیا کولای* بررسی شده است.

### مواد و روش‌ها

تعداد ۱۱۰ نمونه مدفوع توسط سواپ استریل از گربه‌های غیر اسهالی ارجاعی به کلینیک‌های دامپزشکی شهر تهران اخذ و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند (جدول ۱ و ۲).

تحقیقات نشان داده که *اشریشیا* تا ۲۱ ماه در مدفوع زنده می‌ماند (۱۵).

*اشریشیا کولای*‌های پاتوژن جدا شده از انسان و حیوانات دارای منشاء ژنتیکی مشترکی هستند (۶). با توجه به بروز همه‌گیری‌های متعدد عفونت با سروتیپ O157:H7، *اشریشیا کولای* تهدیدکننده‌ی سلامت عمومی جامعه است. به دلیل عواقب وخیم عفونت با این باکتری مانند بستری شدن و حتی مرگ بیمار، وقوع این بیماری بسیار حائز اهمیت است.

مهم‌ترین فاکتور بیماری‌زایی این باکتری تولید سم شیگا (Shiga toxin (STX) است. این سم توسط باکتری‌های شینگلادیس آنتری و برخی از سویه‌های *اشریشیا کولای* تولید می‌شود (۴) و با تاثیر بر روی ریبوزوم‌میوکاریوتی مانع از سنتز پروتئین سلولی می‌شود (۲۵ و ۲۴). این سم از گروه‌های مختلف گوساله‌ها نیز جداسازی شده است (۱۴ و ۱۳).

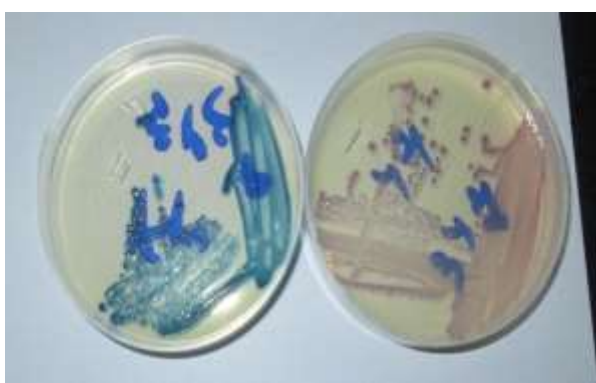
خانواده‌ی شیگا توکسین یا وروتوکسین‌ها، محصولات محلولاتی هستند که با بیماری‌زایی در روده‌ها ارتباط دارند. وروتوکسین‌ها برای اولین بار در عصاره سلول‌هایی که دارای فعالیت کشنده‌ی سلولی بر روی سلول‌های ورو (سلول‌های کلیه‌ی میمون سبز افریقایی) بودند کشف و به نام وروتوکسین شناخته شد (۵). وروتوکسین از بسیاری جهات، مشابه توکسین تولید شده توسط باکتری شینگلا دیسانتری است، اما از نظر آنتی‌ژنی و ژنتیکی این دو توکسین متفاوت هستند. این سم از کمپلکس چند ساب یونیتی AB<sub>5</sub> تشکیل شده است. هر پنج بخش دارای یک بخش کوچک است و باعث مهار سنتز پروتئین می‌شود (۲۰).

سم شیگا در سویه‌های *اشریشیا کولای* O157:H7 به دو شکل نوع یک (STX<sub>1</sub>) و نوع دو (STX<sub>2</sub>) وجود دارد. این سویه‌ها می‌توانند هر دو سم و یا فقط یکی از آنها را تولید کنند. شدت بیماری‌زایی سویه‌های تولیدکننده‌ی سم STX<sub>2</sub> بیشتر

جدول ۱- مشخصات جمعیت آماری نمونه‌گیری شده

تماس با سایر گربه‌ها		نژاد		جنس		غذا		تردد در خارج از خانه		
بله	خیر	پرشین	سایر	نر	ماده	تجاری	خانگی	هر دو	بله	خیر
۱۹/۸	۸۰/۲	۶۲/۴	۱	۵۳/۵	۴۶/۵	۵۲/۵	۲۲/۸	۲۴/۸	۲۲/۸	۷۷/۲

محیط کشت رنگ‌آفرین (Chromogenic culture media)، طبق دستور العمل کارخانه (Chromeagar) بدون انجام اتوکلاو تهیه و در پلیت‌های استریل تقسیم شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت از کشت باکتری ایجاد کلنی‌های قرمز رنگ نشان دهنده‌ی باکتری اشریشیا کولای O157:H7 است. در این محیط کشت، کلنی سایر سویه‌های اشریشیا کولای آبی است (نگاره ۱).



نگاره ۱: کشت ۲۴ ساعته‌ی باکتری اشریشیا کولای در محیط کروم آگار سمت راست اشریشیا کولای O157:H7، سمت چپ غیر O157:H7

#### آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR)

ایزوله‌های تایید شده در محیط Luria Bertani Agar کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری، DNA باکتری‌ها توسط کیت استخراج شرکت Gene Transfer (Pioneers طبقه دستورالعمل کارخانه استخراج شد. تمام سویه‌های جدا شده همراه با کنترل مثبت و منفی مورد آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (Polymerase Change Reaction) قرار گرفتند. توالی پرایمرها در جدول ۳ نشان داده شده‌اند. برنامه‌ی PCR شامل دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه سپس ۳۵ سیکل ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۴۵ ثانیه، ۵۴ درجه ۶۰ ثانیه، ۷۲ درجه ۶۰ ثانیه بود. مرحله‌ی طویل سازی نهایی یک سیکل ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه تعیین گردید (جدول ۴).

جدول ۲: فراوانی سن گربه‌های نمونه‌گیری شده

سن بر حسب ماه		
۱ الی ۵ ماه	۶ الی ۱۲ ماه	۱۳ ماه و بیشتر
۳۶٪	۲۰٪	۴۲٪

نمونه‌ها در محیط مک‌کانکی آگار تلقیح شدند (۵) و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. یک کلنی دارای مشخصه‌ی اشریشیا کولای (کلنی صورتی رنگ) به صورت تصادفی از هر پلیت انتخاب و در محیط Eosin-methylene blue (EMB) agar کشت داده شد. در صورتی که کلنی‌ها به خوبی ایزوله نبودند یک ساب کالچر تهیه شد تا از برداشت یک کلنی اطمینان حاصل شود. پس از ۲۴ ساعت محیط از نظر رشد و ایجاد جلای فلزی بررسی شد. بررسی میکروسکوپی باکتری‌ها توسط روش رنگ‌آمیزی گرم با استفاده از کیت رنگ‌آمیزی شرکت فن‌آوری روز آزمون انجام شد.

#### آزمایش‌های تاییدی

جهت تایید باکتری جدا شده از روش کشت در محیط Triple Sugar Iron Agar (TSI) و آزمایش Indole, Methyl red and Voges-Proskauer (IMViC) استفاده شد. آزمایش IMViC به وسیله‌ی کشت در محیط‌های سیمون سیترات، Sulfide indole motility (SIM) و متیل رد (MR) و Voges-Proskauer (VP) برند مرک انجام شد.

پس از گذشت ۲۴ ساعت از کشت نمونه‌ها در محیط‌های کشت، عدم رشد در محیط سیمون سیترات، ایجاد رنگ قرمز در سطح لوله SIM پس از افزودن معرف کواکس و مثبت بودن واکنش MR و منفی بودن واکنش VP تایید کننده باکتری اشریشیا کولای بود. از تعداد ۱۱۰ سوپ مدفوعی اخذ شده در نهایت ۱۰۱ نمونه اشریشیا کولای از مدفوع ۱۰۱ گربه جهت انجام مراحل بعدی تحقیق به دست آمد.

جدول ۳- توالی پرایمرهای استفاده شده جهت شناسایی ژن STX<sub>1</sub> و STX<sub>2</sub> (۱۶)

اندازه توالی	توالی پرایمر	ژن هدف
۳۷۰	F: AAATCGCCATTCGTTGACTACTTCT R: CAGTCGTCCTCACTGGTTTCATCA	STX <sub>1</sub>
۲۸۳	F: TGCCATTCTGGCAACTCGCGATGCA R: GGATCTTCTCCCCACTCTGACACC	STX <sub>2</sub>

جدول ۴- محتویات تیوب واکنش با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر

حجم	محلول	حجم	محلول
۱ μl	Each primer	۲ μl	Taq buffer 10×
۵ μl	DNA template	۱ μl	MgCl <sub>2</sub> 25mM
۰.۳ μl	Taq DNA polymerase	۱ μl	dNTPs (each 2.5 mM)

### تحلیل آماری

تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲، آزمون های آماری مربع کای و کراسکالوالیس در سطح معناداری ۰/۰۵ < p در نظر گرفته شد.

نمونه ها را شامل می شد. نتایج PCR نشان داد که هر سه نمونه دارای ژن توکسین زائی سم شیگا نوع دوم هستند اما ژن سم شیگا نوع اول در هیچکدام از جدایه ها وجود نداشت (نگاره ۲). تحلیل آماری نشان داد که ارتباط معناداری بین وجود سروتیپ O157:H7 و متغیرهای جنس، نژاد، تردد، تغذیه و تماس با سایر گربه ها در سطح معناداری ۰/۰۵ < p وجود نداشت (جدول ۵ و ۶).

### نتایج

نتایج مثبت کشت در محیط کروم آگار اشریشیا کولای O157:H7 شامل سه مورد بود که نزدیک ۳٪ مجموع

جدول ۵- تحلیل آماری رابطه شیوع باکتری اشریشیا کولای O157:H7 با متغیرهای ثبت شده در پرسشنامه (Chi-Square Tests)

متغیر	وجود پاتوژن	ارزش K2	df (درجه آزادی)	ارزش p
جنس	<i>E. coli</i> O157:H7	۱/۰۷۰	۲	۰/۵۸۶
نژاد	<i>E. coli</i> O157:H7	۱/۹۳۶	۴	۰/۷۴۸
تردد در خارج از منزل	<i>E. coli</i> O157:H7	۰/۷۹۱	۲	۰/۴۶۹
تغذیه	<i>E. coli</i> O157:H7	۱/۸۴۶	۴	۰/۷۶۴
تماس با سایر گربه ها	<i>E. coli</i> O157:H7	۱/۰۶۹	۲	۰/۵۸۶

جدول ۶- تحلیل آماری رابطه سن با شیوع باکتری اشریشیا کولای O157:H7 (Kruskal-Wallis Test)

متغیر	وجود پاتوژن	ارزش K2	df (درجه آزادی)	ارزش p
سن	<i>E. coli</i> O157:H7	۷/۳۷	۲۲	۰/۹۹۸

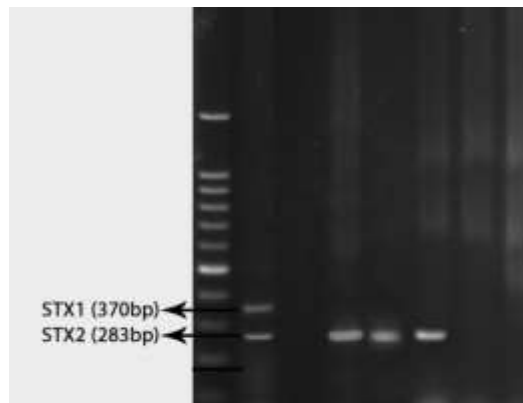
همه‌گیری‌های ایجاد شده توسط این ارگانیزم معمولاً با مصرف آب و غذای آلوده با مدفوع گاو و همچنین شیر غیر پاستوریزه، آبمیوه و سبزیجات تازه شیوع پیدا می‌کند. انتقال از فرد به فرد نیز در مشاهده شده است (۹ و ۲). تظاهرات بالینی آلودگی با باکتری اشریشیا کولای پاتوژن روده‌ای در گربه‌ها و بسیاری از حیوانات دیگر می‌تواند از یک بیماری فاقد علائم بالینی تا بروز اسهال خونی شدید کشنده را شامل شود (۲۳ و ۳).

انتقال سویه‌های پاتوژن از انسان به حیوان و برعکس آن به اثبات رسیده است (۳). با توجه به تحقیق حاضر نزدیک به ۳ درصد گربه‌ها حامل باکتری اشریشیا کولای O157:H7 هستند. در این تحقیق که در گربه‌های به ظاهر سالم غیر اسهالی صورت گرفته است اشریشیا کولای پاتوژن O157:H7 دارای ژن  $STX_2$  بودند.

در بررسی Bentancor میزان شیوع سویه O157:H7 در سگ‌ها را حدود ۳/۶ درصد اعلام شد (۳).

در بررسی حاضر تمام سویه‌های O157:H7 جدا شده از گربه‌ها دارای ژن تولید سم  $STX_2$  بود، اما در تحقیق کوچک زاده و همکاران سویه‌های جدا شده تولید کننده سم شیگا از حیوانات وحشی (سگ سانان و اسب سانان) دارای ژن سم  $STX_1$  بودند (۱۷). که این نتایج با نتایج تحقیق ما و سایرین تفاوت داشت که به عقیده آنها این تفاوت ناشی از تفاوت جغرافیایی منطقه‌ی مورد تحقیق و گونه‌ی حیوانی است.

Paton و همکاران نشان دادند باکترهای اشریشیا کولای O157:H7 که فقط ژن  $STX_2$  را دارند توانایی ایجاد بیماری HUS را دارند (۱۲). در تحقیق ما سویه‌های اشریشیا کولای O157:H7 نیز فقط سم  $STX_2$  تولید می‌کردند. Rumi و همکاران در برزیل پس از یک همه‌گیری پاتوتیپ تولید کننده سم شیگا را از گربه‌ها جدا کردند. این جدایه‌ها دارای ژن  $STX_2$  بود (۲۳). در تحقیق ما نیز سویه‌های جدا شده فقط دارای ژن  $STX_2$  بودند.



نگاره ۲- آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ردیف اول ladder DNA (شاخص وزن ملکولی)، ردیف دوم کنترل مثبت ژن‌های سم شیگا نوع اول ( $STX_1$ ) و سم شیگا نوع دوم ( $STX_2$ )، ردیف سوم کنترل منفی، ردیف ۴-۶ نمونه‌های مورد آزمایش که ژن سم شیگا نوع دوم در آنها آشکار شده است.

## بحث

سویه‌های پاتوژن اشریشیا کولای سبب بروز بیماری‌های مهمی در انسان و برخی از حیوانات می‌شوند. باکتری روده‌ای اشریشیا کولای باسیل گرم منفی از خانواده‌ی انتروباکتریاسه، گرم منفی، کروی شکل، معمولاً متحرک، فاقد اسپور، بی‌هوازی اختیاری و تولیدکننده گاز در اثر کربوکسیلاسیون هستند (۱۲). این باکتری به صورت طبیعی به عنوان فلور میکروبی طبیعی به صورت هم‌زیست در روده‌ی حیوانات خونگرم وجود دارد. انتقال این باکتری به سادگی از طریق آب یا غذای آلوده رخ می‌دهد. سروتیپ O157:H7 از مهم‌ترین سروتیپ‌های این گونه است. وجود سروتیپ خطرناک O157:H7 که در بسیاری از همه‌گیری‌ها جدا سازی شده است، قابل توجه است. جدایه‌ی O157:H7 مهم‌ترین علت اسهال در افرادی است که از طریق آب و غذا دچار بیماری شده‌اند؛ بیماری همراه با کولیت خونریزی دهنده و سندرم اورمی همولیتیک است. این سویه برخلاف سایر سویه‌های اشریشیا کولای قادر به استفاده از سوربیتول نیست (۱۶). سویه‌های O157:H7 با دوز عفونی بسیار کم ۱۰-۱۰۰ میکروارگانیسم؛ می‌توانند بیماری ایجاد کنند.

7. Dobrindt, U., Reidl, J. (2000): Pathogenicity islands and phage conversion: evolutionary aspects of bacterial pathogenesis. *Int. J. Med. Microbiol.* 290(6):519-527.
8. Escherich, T.(1886): Enterobacteria of infants and their relation to digestion physiology. *J. Med.* 3:515-520.
9. Franz, E., Klerks, M. M., De. Vos, O. J., Termorshuizen, A. J., Van Bruggen, A. H. (2007): Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* stx1, stx2, eaeA, and rfbE genes and survival of *E. coli* O157: H7 in manure from organic and low-input conventional dairy farms. *Appl. Environ. Microbiol.* 73(7):2180-90.
10. Friedman, D. I., Court, D. L. (2001): Bacteriophage lambda: alive and well and still doing its thing. *Curr. Opin. Mic.* 4(2):201-207.
11. Herrera-Luna, C., Klein, D., Lapan, G., Revilla-Fernandez, S., Haschek, B., Sommerfeld-Stur, I., Moestl, K., Baumgartner, W. (2009): Characterization of virulence factors in *Escherichia coli* isolated from diarrheic and healthy calves in Austria shedding various enteropathogenic agents. *Vet. Med.* 54:1-11.
12. Houser, B. A., Donaldson, S. C., Padte, R., Sawant, A. A., Deb. Roy, C., Jayarao, B. M. (2008): Assessment of phenotypic and genotypic diversity of *Escherichia coli* shed by healthy lactating dairy cattle. *Foodborne Pathog. Dis.* 5(1):41-51.
13. Huasai, S., Chen, A., Wang, C. j., Li. Y., Tongrige, B. (2012): Occurrence and characteristics of virulence genes of *Escherichia coli* strains isolated from healthy dairy cows in Inner Mongolia, China. *Braz. J. Microbiol.* 43(2):528-34.
14. Hussein, H. (2007): Prevalence and pathogenicity of Shiga toxin-producing in beef cattle and their products. *J. Anim. Sci.* 85(13):63-72.
15. Jiang, X., Morgan, J., Doyle, MP. (2002): Fate of *Escherichia coli* O157:H7 in manure-amended soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(5):2605-9.

با استناد به نتایج بدست آمده از این تحقیق، گربه‌ها مخزن مهمی از باکتری‌های پاتوژن اشریشیا کولای O157:H7 هستند. با توجه به نزدیکی و مجاورت گربه‌ها و انسان، این جانوران می‌توانند بهداشت عمومی را به خطر بیندازند. بنابراین باید اقدامات لازم جهت درمان این گونه حیوانات صورت پذیرد.

### فهرست منابع

1. Banatvala, N., Griffin, P.M., Greene, K.D., Barrett, T.J., Bibb, W.F., Green, J.H., Wells, J.G. (2001): The united states national prospective hemolytic uremic syndrome study microbiologic, serologic, clinical, and epidemiologic findings. *J. Infect. Dis.* 183(7):1063-1070
2. Belanger, L., Garenaux, A., Harel, J., Boulianne, M., Nadeau, E., Dozois, C. M. (2011): *Escherichia coli* from animal reservoirs as a potential source of human extraintestinal pathogenic *E. coli*. *Fems. Immunol. Med. Mic.* 62(1):1-10.
3. Bentancor, A., Rumi, M., Carbonari, C., Gerhardt, E., Larzabal, M., Vilte, D., Pistone-Creydt, V., Chinen, I., Ibarra C, Cataldi A. (2012): Profile of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from dogs and cats and genetic relationships with isolates from cattle, meat and humans. *Vet. Microbiol.* 156(3):336-342.
4. Beutin, L. (2006): Emerging enterohaemorrhagic *Escherichia coli*, causes and effects of the rise of a human pathogen. *J. Vet. Med.* 53(7):299-305.
5. Brooks, G.F., Caren, C., Janet, S., Staphen, A., Timothy, A. (2008): Jawetz, Melnick, Adelberg's Medical Microbiology, 25-th edition. The McGraw-hill companies: United State; 414-435
6. Clermont, O., Olier, M., Hoede, C., Diancourt, L., Brisse, S., Keroudean, M., Glodt, J., Picard, B., Oswald, E., Denamur, E. (2011): Animal and human pathogenic *Escherichia coli* strains share common genetic backgrounds. *Infect. Genet. Evol.* 11(3):654-662.



16. Kaper, J. B., Nataro, J. P., Mobley, H. L. (2004): Pathogenic escherichia coli. *Nat. Rev. Microbiol.* 2(2):123-14017.
17. Koochakzadeh, A., Salehi, T., Fasaei, B., Badouei, M. (2014): Detection of verotoxin (Shiga-like toxin)-producing and eae harboring *Escherichia coli* in some wild captive and domestic Equidae and Canidae. *Arch. Razi Inst.* 69(2):157-163.
18. Lim, J. Y., Yoon, J. W., Hovde, C. J. (2010): A brief overview of *Escherichia coli* O157: H7 and its plasmid O157. *J. Microb. Biot.* 20(1):5-12.
19. Michino, H., Araki, K., Minami, S., Takaya, S., Sakai, N., Miyazaki, M., Ono, A., Yanagawa, H. (1999): Massive outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. *Am. J. Epidemiol.* 150(8):787-96.
20. Montenegro, M. A., Bülte, M., Trumpf, T., Aleksić, S., Reuter, G., Bulling, E., Helmuth, R. (1990): Detection and characterization of fecal verotoxin-producing *Escherichia coli* from healthy cattle. *J. Clin. Microbiol.* 28(6):1417-21.
21. Paton, A. W., Paton, J. C. (1998): Detection and characterization of Shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for stx1, stx2, eaeA, enterohemorrhagic *E. coli* hlyA, rfbO111, and rfbO157. *J. Clin. Microbiol.* 36(2):598-602.
22. Riley, L. W., Remis, R. S., Helgerson, S. D., McGee, H. B., Wells, J. G., Davis, B. R., Hebert, R. J., Olcott, E. S., Johnson, L. M., Hargrett, N. T., Blake, P. A., Cohen, M. L. (1983): Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *The New N. Engl. J. Med.* 308(12):681-685.
23. Rumi, M. V., Irino, K., Deza, N., Huguet, M. J., Bentancor, A. B. (2012): First isolation in Argentina of a highly virulent Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O145: N. M. from a domestic cat. *J. Infect. Dev. Countr.* 6(04):358-363.
24. Sandvig, K., Bergan, J., Dyve, A-B., Skotland, T., Torgersen, M. L. (2010): Endocytosis and retrograde transport of Shiga toxin. *Toxicon.* 56(7):1181-1185.
25. Tesh, V., O'brien, A. (1991): The pathogenic mechanisms of Shiga toxin and the Shiga-like toxins. *Mol. Microbiol.* 5(8):1817-22.
26. Varma, J. K., Greene, K. D., Reller, M. E., De Long, S. M., Trottier, J., Nowicki, S. F., DiOrio, M., Koch, E. M., Bannerman, T. L., York, S. T., Lambert-Fair, M.A., Wells, J. G., Mead, P. S. (2003): An outbreak of *Escherichia coli* O157 infection following exposure to a contaminated building. *Jama.* 290(20):2709-2712.
27. Zhang, W., Bielaszewska, M., Kuczius, T., Karch, H. (2002): Identification, characterization, and distribution of a Shigatoxin 1 gene variant (stx1c) in *Escherichia coli* strains isolated from humans. *J. Clin. Microbiol.* 40(4):1441-1446.