



اشریشیا کولای وروتوکسی جنیک و اهمیت آن در بهداشت مواد غذایی

پوهنوال سیدعارف احمدی

دیارتمنت تکنولوژی و حفظ‌الصحه مواد غذایی، پوهنځی علوم وترنری، پوهنتون کابل، کابل، افغانستان
ایمیل: sayedarif.ahmadi@yahoo.com

چکیده

سترن‌های تولیدکننده وروتوکسین باکتری اشریشیا کولای یا تولیدکننده سم شیکا از جمله مهم‌ترین سترن‌های بیماری‌زای باکتری اشریشیا کولای می‌باشند که موجب اسهال و التهاب خون‌ریزی‌دهنده‌ی روده در انسان می‌شوند. مخزن این باکتری $H_7:O_{157}$ نشخوارکنندگان به‌خصوص گاو و گوسفند هستند. سایر حیوانات مانند خرگوش، خوک و طیور نیز ناقل می‌باشند. انسان از طریق تماس مستقیم با حیوانات یا مدفوع آن‌ها، هم‌چنین مواد غذایی آلوده به مدفوع حیوانات مانند گوشت، شیر، میوه و سبزیجات، خاک و آب آلوده این سیرواتیپ‌ها را دریافت می‌کند. مقدار عفونت‌زایی این سیرواتیپ‌ها کم بوده و به‌همین دلیل خطر مبتلا شدن به عفونت افزایش می‌یابد. پخت مناسب گوشت، پاستوریزه کردن شیر، تصفیه و سالم‌سازی آب‌های مصرفی و جلوگیری از تماس فراورده‌های خام حیوانی (گوشت، شیر) با سایر مواد غذایی آماده مصرف، مهم‌ترین راه‌های مؤثر جلوگیری از بروز عفونت با سترن‌های وروتوکسین‌زای باکتری اشریشیا کولای در انسان هستند.

اصطلاحات کلیدی: اشریشیا کولای؛ وروتوکسین؛ بهداشت غذا؛ گوشت؛ شیر

Verotoxigenic E. Coli and its Importance in Food Hygiene

Associate Prof. Prof. Sayed Arif Ahmadi

Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary, Kabul University, Kabul, Afghanistan
Email: sayedarif.ahmadi@yahoo.com

Abstract

Verotoxigenic Escherichia coli (VTEC) or Shigatoxin producing Escherichia coli (STEC) is an important pathogenic E. coli that can cause diarrhea or hemorrhagic colitis in humans. The reservoirs for STEC O157:H7 are ruminants, particularly cattle and sheep. Other animals such as rabbits, pigs and poultry can also carry this organism. Humans acquire STEC by direct contact with animal carriers, their feces, and contaminated soil or water, or via the ingestion of underdone ground beef, other animal products, and contaminated vegetables and fruits. Thorough cooking of raw meats, pasteurization of milk, treatment of private water supplies, and the avoidance of cross-contamination from raw meats or cattle feces to other foods are the most effective ways of preventing STEC infections.

Keyword: Escherichia coli; Verotoxi; Food hygiene; Meat; Milk

مقدمه

اشریشیا کولای باکتری است که در قسمت‌های انتهایی سیستم هضمی انسان و حیوانات سالم یافت می‌شود. به دلیل حضور این باکتری در مدفوع حیوانات و فاضلاب انسانی امکان حضور آن در خاک، آب‌های تصفیه نشده، فاضلاب مزارع، سبزیجات و علوفه، مناطق اطراف کارخانجات مواد غذایی و کشتارگاه‌ها وجود دارد. انواع سیروتایپ‌های مختلف این باکتری موجب بروز بیماری در انسان و حیوانات از طریق ایجاد عفونت یا ترشح سموم می‌شوند.

کودکان، افراد مسن و افرادی که به بیماری‌های مزمن مبتلا می‌باشند، نسبت به عفونتی ناشی از این باکتری حساس‌تر بوده و علائم عفونت با ویرولانسی بیشتری در آن‌ها بروز می‌کند. سترن‌های بیماری‌زای این باکتری در انسان به شش گروپ تقسیم می‌شوند که به شرح زیر نام‌گذاری می‌شوند: سترن بیماری‌زای روده‌ای، (ETEC) سترن‌های مسمومیت‌زای روده‌ای، (EPEC) سترن‌های توده‌ای، (EIEC) سترن‌های مهاجم روده‌ای سترن‌های چسپنده روده‌ای، (EAEC) روده‌های و سترن خون‌ریزی‌دهنده روده‌ای (AEEC) یا (VETEC) سترن وروتوکسی جنیک، (EHEC) عفونت. (STEC) سترن تولیدکننده سموم شیگا غذا زاد توسط سترن‌های تولیدکننده سم شیگا یا وروتوکسینزا برای اولین بار در سال ۱۹۸۲ میلادی تشخیص داده شد. اگر چه عفونت ناشی از این سترن‌ها شایع نیست ولی به دلیل عوارض مهمی که در افراد مبتلا به دنبال دارد، از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است (۲).

سیروتاتایپ از جمله مهم‌ترین سترن‌های $H_7:O_{157}$ وروتوکسی جنیک است که در بسیاری از نقاط دنیا از جمله اروپا، امریکا و آسیا موجب بروز همه‌گیری یا موارد انفرادی عفونت در انسان شده است. اما سترن‌های O_{103} ، O_{91} ، O_{21} مانند، O_{104} غیر O_{157} و O_{128} ، O_{131} ، O_{118} ، O_{117} ، O_{113} ، O_{111} نیز به‌طور گسترده موجب بروز عفونت در انسان O_{145} این عفونت به وقوع می‌پیوندد (۱). سترن‌ها باعث بروز اسهال خونی ملایم تا موارد شدید و مرگ می‌شود. سندرم اورمیک همولیتیک (HUS) مهم‌ترین مخزن سترن‌های وروتوکسینزا دستگاه گوارش گاو است ولی سایر نشخوارکنندگان نیز ممکن است به‌عنوان مخزن این سترن‌ها باشند.

چهار راه برای انتقال این سترن‌ها به انسان تعریف شده است: انتقال غذا زاد، انتقال از طریق آب، تماس با حیوانات و انتقال شخص به شخص. گوشت گاو، شیر و فراورده‌های آن، سوسیس، آب سیب و غذاهای آماده مانند انواع سالاد از جمله مهم‌ترین مواد غذایی هستند که در انتقال این سترن‌ها به انسان نقش دارند.

تاریخچه

بر اساس توانایی تولید سموم سترن‌ها تحت عنوان وروتوکسین جنیک اشريشيا (STEC) یا تولیدکننده سموم شيگا (VETEC) کولای نام‌گذاری شده که همه آن‌ها جزء سترن‌های خون‌ریزی‌دهنده روده‌یی محسوب می‌شوند. این سترن‌ها دو نوع سم تولید میکنند که با سم تولید شده از باکتری (۱۰) شيگلا دیزانتری تایپ ۰ قرابت دارد، سمی است که بین يك تا (STX1) شيگا توکسین. هفت امینو اسید یا سم شيگا باکتری شيگلا دیزانتری اختلاف دارد در صورتی که سم شيگا توکسین حدود ۰.۵-۱ درصد با سم شيگلا (STX2) هم‌خوانی دارد. این سموم با سم شيگا شيگلا دیزانتری در يك خانواده قرار دارند اگر چه با یکدیگر متفاوت می‌باشند. از طرف دیگر به دلیل اثرات سمی که این سموم روی حجرات دارند آن‌ها را وروتوکسین (Vero cells) نام‌گذاری می‌کنند. بنابراین، هر دو نام یعنی وروتوکسینزا و تولیدکننده سموم شيگا برای معرفی این سترن‌های بیماری‌زا به کار برده می‌شوند. بیماری‌زایی این سترن‌ها تنها به ترشح سموم شيگا ارتباط ندارد بلکه اتصال و کالونیزه شدن این سترن‌ها در روده که توسط ژن اینتیمین (eae) کد می‌شود نیز در ایجاد عفونت دخالت دارد. علایم عفونت با این سترن‌ها در انسان بسیار متفاوت بوده، برخی افراد بدون علامت بوده ولی در عده‌یی از موارد اسهال ساده تا اسهال خونی شدید ممکن است بروز کند. در برخی افراد به‌خصوص کودکان به دنبال عفونت با این سترن‌ها عوارض خطرناک دیگری مانند کم‌خونی، (HUS) سندرم اورمیک همولیتیک، کاهش صفحات دمویه خون و لخته شدن خون که منجر (TTP) در نسج‌های مهم مانند کلیه‌ها و مغز به بروز اختلال در کار این ارگان‌ها شده و موجب نارسایی کلیه یا مرگ خواهد شد. عفونت ناشی از سترن‌های وروتوکسیک جن برای اولین بار در سال ۱۹۸۲ در انگلستان تشخیص داده شد. پس از آن در بیشتر از ۵۰ کشور از شش قاره جهان بیماری گزارش گردید. در سال ۱۹۹۶ همه‌گیری توسط سیروتایپ O₁₅₇ اسکاتلند اتفاق افتاد که به دنبال آن ۲۰ نفر کشته و حدود ۵۰۰ نفر بیمار شدند. نزدیک به ۱۱ درصد بیماران به سندرم بیماری TTP و HUS مبتلا شدند (۱۵، ۳۰). بیماری به دلیل مصرف گوشت خام و نیم‌پز آلوده به‌وجود آمده بود. نقص در آموزش کارکنان، عدم پخت مناسب گوشت و جدا نکردن مواد خام از مواد غذایی آماده مصرف از جمله دلایل بروز این همه‌گیری عنوان شد. در یکی از همه‌گیری‌های دیگر در ولز و اسکاتلند در سال ۲۰۰۵ که توسط سیروتایپ O₁₅₇، ۳۱ نفر در بیمارستان بستری و یک کودک جان خود را از دست داد (۳۱).

این همه‌گیری نیز در اثر مصرف گوشت پخته آلوده به E. Coli و سیروتایپ H₇:O₁₅₇ اتفاق افتاد. در انگلستان تعداد موارد گزارش آزمایشگاهی در ارتباط با عفونت سترن‌های وروتوکسینزا در سال ۱۹۹۱ حدود ۳۶۱ مورد بود در حالی که موارد این عفونت در سال ۲۰۱۱ به ۱۱۸۲ مورد افزایش پیدا کرد (۲۰).

در سال ۲۰۰۱ اپیدمی اسهال خونی توسط سترن H_7O_{14} در کشور آلمان گزارش شده که نیز موجب بروز همه‌گیری عفونت ناشی از سترن‌های وروتوکسین‌زا بوده است، به طوری که در سال ۲۰۰۰ میلادی در ایالت اونتاریو کانادا تعداد ۱۰۰ نفر در اثر مصرف آب آلوده به سترن‌های STEC به بیماری مبتلا شدند که ۶ نفر آن‌ها جان خود را از دست دادند (۴۲). در رخ داد دیگری که در سال ۲۰۰۱ در امریکا، بیماری ناشی از سیروتاتیپ H_7O_{15v} در ۱۹ کودک که از یک باغ وحش در اوهایو بازدید کرده بودند اتفاق افتاد. محققان در مطالعات بعدی آلودگی به این سیروتاتیپ در مکان‌های نگهداری حیوانات در این باغ وحش را اثبات کرده و احتمال انتقال از طریق هوا را رد نکردند (۴۰) تاکنون موارد متعدد از بروز عفونت توسط سترن‌های وروتوکسین باکتری به خصوص سیروتاتیپ H_7O_{15v} اشریشیا کولای در امریکای شمالی، امریکای جنوبی، اروپا، آفریقا، خاور میانه، آسیای جنوب شرقی و اقیانوسی گزارش شده است. مرکز کنترل بیماری‌ها در امریکا تعداد ۱۷۵۹۰۵ مورد عفونت ناشی از سیروتاتیپ‌های وروتوکسین‌زا را در سال ۳۶ در صد توسط سیروتاتیپ H_7O_{15v} و ۶۴ در صد موارد عفونت توسط سترن‌های غیر O_{15v} در اثر مصرف سبزیجات آلوده اتفاق افتاد. به دنبال این اپیدمی مواردی از بیماری در برخی مناطق فرانسه توسط همین سیروتاتیپ بروز نمود. در مجموع به دنبال این همه‌گیری در اروپا تعداد ۳۹۱۱ مورد بیماری ۵۱ مورد مرگ رخ داد. (۱۶) مصرف آب آلوده نیز موجب بروز همه‌گیری عفونت ناشی از سترن‌های وروتوکسین‌زا بوده است به طوری که در سال ۲۰۰۰ میلادی در ایالت اونتاریو کانادا تعداد ۱۰۰ نفر در اثر مصرف آب آلوده به سترن‌های STEC به بیماری مبتلا شدند که ۶ نفر آن‌ها جان خود را از دست دادند (۴۲) بیش از ۲۰۰ سیروتاتیپ باکتری اشریشیا کولای که توانایی تولید سم شیکا را دارند شناسایی شده است که نیمی از آن‌ها در ارتباط با عفونت‌های انسانی می‌باشند. بر همین اساس این سیروتاتیپ‌ها را بر اساس بیماری‌زایی به گروپ همه‌گیر و یا سپوردیک و ایجاد سندرم HUS گزارش نموده است به ۵ گروپ تقسیم نموده اند گروپ A شامل سیروتاتیپ H_7O_{15v} بوده که انتشار گسترده داشته و باعث بروز همه‌گیری و ایجاد سندرم HUS در انسان‌ها می‌شود. سیروتاتیپ‌های O_{145} و O_{121} O_{111} O_{10} O_{13} در گروپ B قرار دارند. این سیروتاتیپ‌ها بروز متوسطی داشته و کم‌تر موجب اپیدمی می‌شوند ولی سندرم HUS ایجاد می‌کند گروپ C شامل سیروتاتیپ‌های O_{104} O_{91} و O_{113} است. این سیروتاتیپ‌ها بروز کمی داشته و به ندرت باعث اپیدمی شده‌اند ولی قادر به ایجاد سندرم HUS می‌باشند گروه D و E شامل سیروتاتیپ‌هایی است که سندرم HUS ایجاد نکرده و عامل عفونت در انسان نمی‌باشند. ولی ممکن است در حیوانات موجب عفونت شوند (۲۳، ۴۱).

مطالعات متفاوت در کشورهای متعدد بر روی جمعیت انسانی نشان داده اند که شیوع سیرواتایپ $H_7:O_{157}$ نسبت به سایر سیرواتایپ‌های وروتوکسیجن کم‌تر است (۶) هم‌چنان مطالعه روی مواد غذایی منشای حیوانی مانند گوشت و شیر نیز نشان‌گر این مطلب بوده است که سیرواتایپ‌های غیر O_{157} در مواد بیشتر بوده است (۷، ۸، ۹)

مخازن و راه انتقال باکتری

مخزن اشیریشیا کولای توکسیجن بر حسب نوع سیرواتایپ متفاوت است، ولی مهم‌ترین مخزن سیرواتایپ $H_7:O_{157}$ نشخوارکنندگان به‌خصوص گاو و گوسفنداند. میزان آلودگی مدفوع گاو در دنیا بین کم‌تر از یک در صد تا بیش از ۷۰ در صد ذکر شده است (۲۲). باکتری در راست روده این حیوانات استقرار یافته و به دنبال تکثیر در روده از طریق دفع مدفوع موجب آلودگی محیط می‌گردد. آلودگی در گاو به سن و فصل نیز بستگی دارد، مطالعات نشان داده است که گوساله‌ها بیشتر آلوده هستند و این آلودگی را برای مدت طولانی‌تر حفظ می‌کنند. هم‌چنین دیده شده است که در فصل تابستان میزان آلودگی به باکتری بیش از سایر فصول است (۱۱).

برخی از گاوها میزان بیشتری باکتری را به محیط دفع می‌کنند که به آن‌ها فوق دفع‌کننده (Super shedder) گفته می‌شود و این‌ها نقش مهمی در بقای آلودگی در گله و محیط دارند (۲۵). مخزن سایر سیرواتایپ‌های وروتوکسیجن، حیوانات از جمله گاو، گوسفند، بز، خوک، خرگوش، مرغ و نشخوارکنندگان وحشی مانند گوزن می‌باشند. انتقال باکتری از طریق مدفوعی دهانی است. باکتری در بین حیوانات از طریق تماس با مدفوع یک‌دیگر و مواد غذایی آلوده به باکتری منتقل می‌شود. مواد غذایی و آب به‌عنوان مهم‌ترین حاملان باکتری در بین حیوانات و انسان نقش دارند. حشرات و پرندگان می‌توانند ناقل باکتری بوده و باکتری را از یک منطقه به منطقه دیگری انتقال دهند. در مطالعات انجام شده به‌صورت آزمایشی انتقال باکتری از طریق ذرات معلق در هوا در بین خوک‌ها به اثبات رسیده است. نتایج این مطالعه نشان داد که در هنگام شستشوی محل با فشار بالای آب، باکتری به‌صورت ذرات معلق در هوا تبدیل شده و تا فاصله ۳ متر می‌تواند در هوا انتشار پیدا کند (۱۹). انتقال انسان به انسان در شرایط عادی متداول نیست ولی در موارد اپیدمی عفونت ممکن است باکتری از فردی به فرد دیگر منتقل شود. باکتری به تعداد کم نیز باعث بیماری در انسان می‌شود به‌طوری‌که ذکر شده است تعداد ۱۰ تا ۱۰۰ باکتری قادر به ایجاد عفونت در انسان می‌شود. مواد غذایی با منشأ حیوانی مانند گوشت، فراورده‌های غیر پاستوریزه شیر، سوسیس از جمله مهم‌ترین مواد غذایی در انتقال باکتری به انسان محسوب می‌شوند. در برخی موارد سبزیجات آلوده به‌خصوص کاهو، سبزی، سبزی‌های خوراکی، بادرنگ و آب میوه‌های غیر پاستوریزه نیز در انتقال باکتری به انسان نقش

داشته‌اند (۳). آب‌های آلوده به مدفوع که برای آبیاری مزارع مورد استفاده قرار می‌گیرند منبع مهم آلودگی مواد غذایی گیاهی می‌باشند. باکتری بر روی برگ گیاهان و یا میوه‌ی آن‌ها چسبیده و برای مدتی بقای خود را حفظ می‌کند. مطالعات نشان‌دهنده‌ی این است که سیروتایپ $H_7:O_{157}$ قادر است در نسج گیاهان نفوذ کرده و به دنبال شستشوی سبزیجات به آسانی حذف نشده و در گیاه باقی می‌ماند. این سیروتایپ در مواد غذایی نیز برای مدت طولانی زنده می‌ماند. به‌طوری‌که در گوشت کوفته‌شده نگه‌داری شده در حرارت منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت حداقل ۹ ماه بقای خود را حفظ می‌کند. هم‌چنین نسبت به شرایط اسیدی مقاوم بوده و در غذاهای اسیدی مانند سس مایونز، سوسیس‌های تخمیری، آب میوه‌ها و پنیر چدار برای چند هفته تا چند ماه زنده می‌ماند حداقل pH قابل تحمل برای باکتری ۴ می‌باشد ولی مطالعات نشان داده است که برخی از سترن‌های باکتری در مواد غذایی اسیدی قادر به تحمل pH ۳ تا ۴ نیز هستند (۴۴).

سترن‌های وروتوکسیجن باکتری اشیریشیا کولای نسبت به حرارت حساس بوده و در حرارتی که سایر باکتری‌های بیماری‌زا مانند سالمونیلایز بین می‌روند، غیر فعال می‌گردند. در انگلستان توصیه شده است که قسمت میاتی همبرگر حتما باید حرارت ۷۰ درجه سانتی‌گراد را برای مدت ۲ دقیقه دریافت کند. سازمان غذا و داروی امریکا حرارت دادن گوشت کوفته شده را در حرارت ۶۸،۳ درجه‌ی سانتی‌گراد برای حداقل ۱۵ ثانیه جهت از بین رفتن باکتری لازم دانسته است. پاستوریزاسیون شیر در حرارت ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۱۶ ثانیه باکتری را غیر فعال می‌کند. سترن‌های وروتوکسیجنیک در حرارت کم‌تر از ۸ درجه سانتی‌گراد قادر به رشد نمی‌باشند بنابراین، نگه‌داری مواد غذایی در یخچال از ازدیاد باکتری جلوگیری می‌کند (۱۷).

در برخی موارد عفونت ناشی از سیروتایپ‌های وروتوکسیجن در اثر تماس با خاک و آب‌های آلوده ایجاد شده است. شنا کردن در آب‌های آلوده و تماس زیاد با خاک موجب آلودگی افراد و ایجاد عفونت شده است. مطالعه روی سیروتایپ $H_7:O_{157}$ نشان داده است که این سیروتایپ نسبت به خشکی مقاوم است و برای مدتی در محیط خشک قادر است زنده بماند. باکتری برای مدت بیشتر از ۷ ماه در خاک، حدود دو ماه در آب‌های شیرین سرد و دو هفته در آب‌های دریا زندگی خود را حفظ می‌نماید (۲۱). انتقال باکتری از طریق آلودگی متقاطع بین مواد غذایی خام آلوده و مواد غذایی آماده مصرف، آلودگی شیر و فراورده‌های آن پس از پاستوریزاسیون، هم‌چنین انتقال انسان به انسان به‌خصوص در بیمارستان‌ها و مراکز نگه‌داری سال‌مندان، کودکان و مدارس نیز از جمله راه‌های انتقال سترن‌های توکسیجن باکتری اشیریشیا کولای می‌باشند (۲۸).

عفونت در انسان

عفونت حاصل از سترن‌های وروتوکسیجن باکتری اش‌ریشیا کولای در انسان به‌طور انفرادی و در مواردی به‌طور اپیدیمی‌های کوچک بروز میکند. عفونت ناشی از سیروتایپ $H_7:O_{157}$ در امریکای شمالی اغلب در فصول تابستان و زمستان بروز می‌کند ولی در کشورهای اروپایی در اواخر بهار تا اواخر تابستان اتفاق می‌فتد. علت فصلی بودن بیماری احتمالاً مربوط دفع بیشتر باکتری از حیوانات و مصرف بیشتر فراورده‌های گوشتی که به‌طور کامل پخته نشده‌اند، کباب‌ها ذکر شده است. عفونت ناشی از سایر سیروتایپ‌ها وروتوکسیجنیک بیشتر در فصل زمستان گزارش شده‌اند (۳۰، ۳۷). میزان بروز عفونت حاصل از این سترن‌ها قابل محاسبه نیست زیرا در بسیاری از موارد که بیمار بدون عارضه شدید است، آزمایش‌ها برای تشخیص باکتری انجام نمی‌شود. گزارشات اخیر نشان‌دهنده‌ی این است که میزان بروز عفونت حاصل از سیروتایپ $H_7:O_{157}$ ، در امریکا انگلستان، آلمان، استرالیا، و جمهوری کوریا بین ۰۸-۴۱ در هر ۱۰۰ هزار نفر می‌باشد که بیشترین آن مربوط به انگلستان است. به گزارش مرکز کنترل بیماری‌های امریکا (CDC) تعداد موارد عفونت ناشی از این سیروتایپ حدود ۷۳۰۰۰ نفر در سال است که ۲۰۰۰ نفر در بیمارستان بستری می‌شوند و در ۵۰ تا ۶۰ نفر موجب مرگ می‌شود. میزان بروز عفونت حاصل از سترن‌های غیر O_{157} به دلیل عدم انجام آزمایش روزمره جهت تشخیص آن‌ها نامشخص است. مرکز کنترل بیماری‌ها در امریکا میزان بروز عفونت ناشی از سیروتایپ‌های غیر O_{157} را احتمالاً برابر سیروتایپ‌های $H_7:O_{157}$ تخمین زده است. شواهد نشان‌دهنده‌ی این است که بروز عفونت حاصل از سیروتایپ‌های غیر $H_7:O_{157}$ در کشورهای اروپای شرقی، امریکای لاتین و استرالیا بیشتر از سیروتایپ مذکور است. میزان مرگ و میر ناشی از عفونت سترن‌های وروتوکسیجنیک بسته به شکل عفونت متفاوت است. در شکل کولیک خون‌ریزی‌دهنده‌ی اغلب موارد بهبودی حاصل می‌شود ولی امکان مرگ هم وجود دارد. در شکل سندروم اورمییک همولیتیک (HUS) میزان مرگ در کودکان و افراد با نقص ایمنی ۳ تا ۱۰ درصد در افراد مسن، شکل پورپورای ترومبوتیک ترومبوسایتوپنیک (TTP) به ۵۰ درصد هم می‌رسد علایم عفونت ناشی از سترن‌های وروتوکسیجن باکتری اش‌ریشیا کولای پس از یک دوره مخفی یک تا ۶ روز بروز می‌کند. در اغلب موارد دوره‌ی مخفی ۳ تا ۴ روز بوده ولی به‌طور اوسط دوره‌ی مخفی ۸ روز را برای عفونت ذکر کرده‌اند. در برخی موارد عفونت بدون نشانه بوده ولی در مواقعی اسهال آبکی، کولیک خون‌ریزی‌دهنده و سندروم اورمییک همولیتیک اتفاق می‌افتد. کولیک خون‌ریزی‌دهنده همراه با اسهال خونی و درد شدید شکم است که چند روز پس از بروز بیماری اتفاق می‌افتد. این شکل از بیماری با تب خفیف و گاهی اوقات بدون بروز تب است. تهوع و استفراغ از دیگر چهره‌های کلینیکی این عفونت است که می‌تواند به کم‌آب شدن بدن بینجامد. در بسیاری از موارد بیمار بهبود

می‌باید ولی در برخی از موارد کولیک خون‌ریزی‌دهنده‌ی شدید همراه با نکروز و پاره شدن روده همراه است. در ۱۶ درصد موارد کولیک خون‌ریزی‌دهنده منجر به سندروم اورمییک همولیتی (HUS) می‌شود. سندروم در کودکان، افراد مسن و افرادی که دچار نقص سیستم ایمنی هستند، بیشتر بروز می‌کند. علایم این سندروم یک هفته پس از بروز اسهال خود را نشان داده که شامل نارسایی کلیه، کم‌خونی هیمولیتیک و کاهش صفحات دمویه خون است. این علایم در افراد بیمار متفاوت بوده به‌طوری که ممکن است در یک بیمار کم‌خونی به همراه کاهش صفحات دمویه به شکل شدید بوده ولی نارسایی کلیه خفیف و یا وجود نداشته باشد و برعکس در بیماران دیگر نارسایی کلیه بدون کم‌خونی و کاهش صفحات دمویه اتفاق می‌افتد. علایم عصبی مانند ضعف، تشنج و تحریک‌پذیری نیز در برخی از موارد اتفاق می‌افتد. در موارد شدید ادیمای مغزی، فلجی، حمله و کوما بروز می‌کند. در برخی بیماران اختلالات تنفسی به شکل افزایش مایعات در قفسه صدری و تورم پانقراس نیز بروز می‌کند. این شکل از بیماری را در افراد مسن بنام پورپورای ترومبوتیک ترومبوسیتوپنیک (TTP) می‌نامند. در این مورد علائم کلیوی کم‌تر ولی علایم عصبی شدید می‌باشند و مرگ اغلب به دلیل ضایعات عصبی اتفاق می‌افتد حدود ۶۵ تا ۸۵ درصد کودکان مبتلا به سندروم اورمییک همولیتیک بهبود می‌ابند ولی در سایر موارد به نارسایی دایم کلیه‌ها ختم می‌گردد. بیماران برای مدت ۷ تا ۹ روز باکتری را از طریق مدفوع دفع کرده و باعث انتقال باکتری به دیگران می‌شوند. دفع باکتری در برخی افراد برای ماه‌ها به طول می‌انجامد و در کودکان برای مدت بیشتری ادامه می‌یابد (۲۴).

عفونت در حیوانات

نشخوارکنندگان، به‌خصوص گاو و گوسفند از مهم‌ترین گوزن و آهو نیز مخازن سیروتاپی $H_v:O_{15v}$ هستند. در بین حیوانات وحشی از اهمیت برخوردار هستند. این سیروتاپی از خوک، خرگوش، اسب، سگ، پشک، راکون و در پرندگان از مرغ، فیل مرغ، قاز، کبوتر و بسیاری از پرندگان وحشی جدا شده است. این نکته تاکنون مشخص نشده است که آیا این حیوانات مخزن یا میزبان موقت این سیروتاپی هستند. در مورد سترن‌های غیر O_{15v} اطلاعات روشنی در دست نیست. برخی از اعضای سیروتاپی O_{1v} از گاو، خوک، گوسفند، بز و مرغ جدا شده‌اند. سیروتاپی O_{1v} در گاو، گوسفند و بز پیدا شده است؛ هم‌چنین سیروتاپی O_{14v} از گاو جدا شده است. سیروتاپی $H:O_{14v}$ از پشک‌های که مجاور کودک مبتلا به عفونت بوده است جدا شده ولی مشخص نشده است که کودک از پشک عفونت را دریافت کرده یا کودک موجب آلودگی پشک شده است. مطالعات نشان داده است که خرگوش‌های اهلی شده مخزن سیروتاپی‌های $H_v:O_{15v}$ و $H:O_{15v}$ هستند. سیروتاپی $H_v:O_{15v}$ به‌طور معمول در حیوانات موجب بیماری نمی‌شود ولی آلودگی تجربی در برخی از حیوانات مانند گوساله‌های با سن کم‌تر از دو روزه، چوپه خوک‌ها و سگ موجب بروز، (اسهال، بی‌اشتهایی و

استفراغ شده است (۱۳). عفونت سیروتاپی‌های غیر O_{157} در سگ موجب اسهال شدید، استفراغ، کاهش وزن و علائم عصبی مانند تشنج و کوما شده است. حیوانات مبتلا ۵ تا ۶ روز بعد از بروز علائم کلینیکی تلف شدند. برخی از سترن‌های غیر O_{157} از جمله O_{111} ، O_{24} ، O_{103} و O_{118} ممکن است در حیوانات جوان موجب تورم سیستم هضمی و اسهال شوند. سیروتاپی $H_{16}:O_{118}$ اغلب از گوساله‌های اسهالی جدا شده است. هم‌چنین سیروتاتیپ $H:O_{153}$ در خرگوش موجب اسهال و بروز HUS می‌شود.

پیش‌گیری و کنترل

با توجه به این‌که مخزن سترن‌های وروتوکسین‌زای باکتری اشریشیا کولای اغلب حیوانات به‌خصوص گاو است، بنابراین، کنترل عفونت در این حیوانات به میزان زیادی در کنترل عفونت انسانی مؤثر است. اقدامات متعددی برای این منظور پیشنهاد شده است. شناسایی و درمان یا حذف حیوانات که به میزان زیاد باکتری را در محیط دفع (Super shedder) می‌کنند از جمله راه‌های مؤثر در کاهش میزان آلودگی محیط ذکر شده است. جمع‌آوری مناسب مدفوع حیوانات و پروسس آن و جلوگیری از نفوذ فاضلاب حیوانات در زمین جهت ممانعت از آلوده شدن آب‌های زیرزمینی از دیگر راه‌های کنترل و پیش‌گیری از آلودگی انسان محسوب می‌شود. برخی از سترن‌ها برای مدت طولانی در کودهای فراوری نشده‌ی بقای خود را حفظ می‌کنند. بنابراین، استفاده از این کودها یا فاضلاب آن‌ها برای مزارع سبزیجات و یا گیاهان منجر به آلودگی تولیدات آماده مصرف شده و موجب آلودگی انسان خواهد شد. بر این اساس توصیه می‌گردد فاضلاب حیوانات قبل از استفاده در مزارع به عنوان کود حتماً توسط روش‌های هوازی یا غیرهوازی، حرارت دادن و خشک کردن و یا مواد کیمیایی فراوری شده تا آلودگی حذف گردد (۱۲، ۱۴، ۱۵).

استفاده از واکسن برای سیروتاتیپ $H_v:O_{157}$ در گله‌های گاو و ضد عفونی مناسب با ترکیبات کلور نیز از دیگر راه‌کارهای پیش‌گیری از عفونت است. امروزه روش‌های دیگر، مانند استفاده از باکتریوفاژها و یا باکتری‌های پروبیوتیک جهت جلوگیری از استقرار باکتری در رکتوم گاو مورد بررسی و تحقیق است. برای جلوگیری از آلودگی انسان بهترین راه رعایت بهداشت فردی و مواد غذایی است. شستن مرتب دست‌ها به‌خصوص افرادی که به نوعی با حیوانات و تولیدات آن‌ها (گوشت، شیر و...) در ارتباط هستند، راه‌کار مؤثری است. محافظت از کودکان در هنگام بازدید از باغ وحش یا مزارع پرورش حیوانات، دور نگه داشتن لباس، بوت‌ها و ابزار مورد استفاده در فارم‌داری از افراد و به‌خصوص کودکان از دیگر راه‌های جلوگیری از انتقال باکتری ذکر شده است. کاهش میزان آلودگی لاشه‌ی حیوانات کشتار شده در کشتارگاه و یا شیرهای دوشیده شده از دیگر راه‌کارهای مؤثر در

کاهش آلودگی انسان است. برای جلوگیری از آلودگی متقاطع بین مواد غذایی خام و مواد غذایی آماده مصرف باید آموزش‌های لازم به افراد به خصوص کارکنان آشپزخانه‌ها و افراد توزیع‌کننده مواد غذایی داده شود. شستشوی داوم‌دار دست‌ها، چاقو، میز کار و سایر وسایل در کاهش انتقال باکتری به سایر مواد غذایی بسیار مؤثر است. پخت مناسب و یا پاستوریزاسیون گوشت و شیر موجب مرگ باکتری و جلوگیری از انتقال به انسان خواهد شد. ضد عفونی و تصفیه مناسب آب برای مصرف انسان و یا استفاده در کارخانجات فرآوری مواد غذایی کشتارگاه، فرآورده‌های لبنی و غیره از انتقال سترن‌های و روتوکسیجن باکتری اشریشیا کولای به انسان جلوگیری می‌کند (۳۳، ۳۴، ۳۶). علاوه بر این باید از نگهداری حیوانات در نزدیکی منابع آب انسان خودداری کرد. از خوردن میوه و سبزیجات ناشسته و ضد عفونی نشده خودداری کرد. میوه‌ها و سبزیجات را می‌توان با ترکیبات کلور رقیق ضد عفونی کرد. این کار تراکم باکتری را کاهش می‌دهد ولی مطالعات نشان داده است که برخی از سیروتایپ‌ها ممکن است در نسج میوه‌ها نفوذ کرده و به دنبال شستشو یا ضد عفونی کردن از بین نروند. بنابراین، توصیه می‌شود که میوه‌های آسیب‌رسیده به‌خوبی اصلاح شده و مصرف شوند. در مورد سبزیجات توصیه می‌شود ابتدا آن‌ها را پخته و سپس مصرف کرد. استفاده از اشعه‌های آیونیزه (گاما) نیز برای ضد عفونی کردن سبزیجات و میوه‌ها توصیه شده است (۲۷، ۲۸، ۳۸).

شستن مناسب دست‌ها با آب و صابون پس از رفع حاجت به‌خصوص در افرادی که با مواد غذایی در ارتباط هستند به میزان زیادی از انتقال باکتری از انسان به انسان جلوگیری می‌کند. تعویض و شستشوی مداوم لباس‌ها و سایر وسایل شخصی بیماران مبتلا به سندروم کولیک خون‌ریزی‌دهنده به‌طور جداگانه از دیگر راه‌های انتقال فرد به فرد است. در کارخانجات مواد غذایی و در مراحل مختلف مراقبت‌های لازم از مواد خام از مزرع تا تولید محصول نهایی باید صورت گیرد و کلیه دستورالعمل‌های مربوط به سیستم HACCP در ارتباط با محیط تولید محصول رعایت گردد. در کشتارگاه‌ها رعایت بهداشت حیوان به‌خصوص رعایت بهداشت پوست حیوانات در جهت کاهش مقدار مدفوع چسبیده به پوست گاو به میزان زیاد از آلودگی متقاطع گوشت جلوگیری HACCP می‌کند. استقرار سیستم در کارخانه‌های فرآورده‌های لبنی و تولید آب‌میوه‌ها و پاستوریزاسیون مناسب این مواد غذایی از انتقال سیروتایپ‌های و روتوکسیجن به مصرف‌کنندگان جلوگیری خواهد کرد. استقرار و توسعه‌ی سیستم تولید محصول خوب بهداشتی (Good Hygiene Practice) از طریق کنترل میکروبیولوژیک می‌تواند سلامت فرآورده‌های تولیدی را تضمین نموده و از به‌خطر افتادن بهداشت عمومی ممانعت کرد (۱۸).

نتیجه‌گیری

سیروتایپ‌های وروتوکسیجن باکتری اشریشیا کولای (STEC)؛ در انسان بیماری‌های وخیمی ایجاد می‌کنند. اگر چه تعداد موارد بروز عفونت با این سترن‌ها کم است ولی به دلیل وخامت عوارض، این عفونت‌ها مورد توجه بسیاری از پژوهش‌گران و سیستم‌های بهداشتی قرار گرفته‌اند. منبع اصلی این سیروتایپ‌ها مدفوع حیوانات به‌خصوص گاو است و نمی‌توان به‌طور قطع تعداد این سیروتایپ‌ها را در گوشت یا شیر این حیوانات کاهش داد. بنابراین، کارکنان کارخانجات مواد غذایی و مصرف‌کنندگان باید به‌خوبی با خطرات و راه‌های جلوگیری از انتقال این سیروتایپ‌ها به انسان آگاه باشند. پخت مناسب گوشت و فراورده‌های آن، پاستوریزیشن شیر، تصفیه مناسب فاضلاب انسانی و حیوانی و جلوگیری از آلودگی فراورده‌های غذایی آماده مصرف با مواد خام حیوانی و به‌خصوص مدفوع آن‌ها از جمله مهم‌ترین راه کارهای پیش‌گیری از انتقال این سترن‌ها به انسان است.

به‌طور کلی شناسایی آلودگی مواد غذایی به این سیروتایپ‌ها آسان نبوده و تاکنون روش‌های آسان و ارزان جهت تشخیص این سترن‌ها در مواد غذایی معرفی نشده است. لذا کنترل میکروبیولوژیک از طریق شناسایی باکتری‌های رودهای (Enterobacteriaceae) و به‌طور شاخص باکتری اشریشیا کولای در مواد غذایی تولیدشده در کارخانجات به‌طور مؤثری در کاهش خطر انتقال این سترن‌ها به انسان مؤثر است. رعایت کلیه موازین بهداشتی در کارخانجات مواد غذایی و آشپزخانه‌ها و اعمال صحیح نکات بهداشت فردی و محیط در تولید و آماده‌سازی مواد غذایی در کاهش موارد عفونت انسان تأثیر زیادی خواهد داشت.

منابع

- (1) Adak, G.K., Long, S.M., and O'Brien, S.J. Trends in indigenous foodborne disease and deaths in England and Wales: 1992 to 2000. *Gut*. 2002; 51, pp. 832-841.
- (2) Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food. Report on Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* HMSO. ISBN 0113219091. 1995.
- (3) Anon. Ongoing multistate outbreak of *Escherichia coli* serotype O157:H7 infections associated with consumption of fresh spinach – United States. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2006, pp. 1045-1046.
- (4) Aslani, M. M., and Bouzari, S. An epidemiological study on verotoxin-producing *E. coli* infection among population of northern region of Iran. *Eur J Epidemiol.* 2003, pp. 349-354.
- (5) Aslani, M. M., Badami, N., Mahmoodi, M., and Bouzari, S. Verotoxin producing *E. coli* infection in randomly selected population of Ilam Province (Iran). *Scand J Infect Dis*. 1998; 30, pp. 473-476.
- (6) Bonyadian, M., H. Momtaz, E. Rahimi, R. Habibian, A. Yazdani, and M. Zamani. Identification & characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from patients with diarrhea in Iran. *Indian J Med Res*. 2010; 132, pp. 328-331.
- (7) Bonyadian, M., Zahraei Salehi, T., Mahzounieh, M.R., and Akhavan Taheri. F. Virulence genes of verotoxigenic *E. coli* isolated from raw milk and unpasteurized cheese. *J Vet Res*. 2011; 66, 3, pp. 223-228.
- (8) Bonyadian, M. Evaluation of sheep meat contamination to *Escherichia coli* and *Escherichia coli* O157, O26 and O128 serotypes in Shahrekord by PCR. *Vet J. (Pajouhesh & Sazandegi)* 2013; 97, pp. 38-41
- (9) Bonyadian, M. Identifying verotoxigenic *Escherichia coli* isolated from cold water fishes by Multiplex PCR in Chaharmahal Va Bakhtiary Province. *Biol J Micro*. 2014, pp. 53- 58.
- (10) Blattner, F.R. Genome sequence of enterohaemorrhagic *E. coli* O157:H7. *Nature*. 2001; 409, pp. 529-533.
- (11) Caprioli, A. Morabito S. Brugere, H. and Oswald, E. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet Res*. 2005, pp. 289-311.
- (12) Chapman, P. A. Wright, D. J. and Siddons, C. A. A comparison of immunomagnetic separation and direct culture for the isolation of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from bovine feces. *J Med Microbiol*. 1994, pp. 424-427.
- (13) Callaway, T. R., Anderson, R.C., Edrington, T. S., Genovese, K. J., Bischoff, K. M., Poole, T.L., Harvey, R.B., and Nisbet, D. J. What are we doing about *Escherichia coli* O157: H7 in cattle? *J Anim Sci*. 2004, pp. 93-99.
- (14) Doyle, M. P., and Schoeni, J. L. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Appl Environ Microbiol*. 1987, pp. 2394-2396.
- (15) Dundas, S., Murphy, J., Soutar, R.L., Jones, G.A., Hutchinson, S.J., and Todd, W.T.A. Effectiveness of therapeutic plasma exchange in the Lanarkshire *Escherichia coli* O157:H7 outbreak. *Lancet*. 1999; 354, pp. 1327-1330.

- (16) EFSA. Scientific Report of EFSA. Shiga Toxin-Producing *E. coli* (STEC) O104:H4 2011 Outbreaks In Europe: Taking Stock. European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy. 2011.
- (17) Food Standards Agency. "Food Handlers: Fitness to Work Regulatory Guidance and Best Practice Advice for Food Business Operators" <http://www.food.gov.uk/sites/default/files/multimedia/pdfs/publication>. 2009.
- (18) Food Safety Inspection Service (FSIS) Draft Compliance Guidelines for Ready-to-Eat Meat and Poultry Products. http://www.fsis.usda.gov/OPPE/rdad/FR_Pubs. 1997, pp. 97-130
- (19) International Society for Infectious Diseases. ProMED Report "E. coli: Aerosol Route suspected - USA (Ohio) 2001.
- (20) HPA. *E. coli* O157 Annual Totals. <https://www.gov.uk/government/publications/escherichia-coli-E-coli-O157>. 2012.
- (21) HPA. Epidemiology of VTEC in England & Wales <http://webarchive.nationalarchives.gov.uk/20140714084352/http://www.hpa>. 2012.
- (22) Hussein, H. S., and Bollinger, L. M. Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle. *J Food Prot.* 2005, pp. 2224-2241.
- (23) Karmali, M. A. The medical significance of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. An overview. *Methods Mol Med.* 2003; 73, pp. 1-7.
- (24) Locking, M., Allison, L., Rae, L., Pollack, K.G., and Hanson, M.F. VTEC infections and livestock related exposures in Scotland. *Eurosurveillance*; 11: available from <http://www.eurosurveillance.org/ew/2006/060223>. 2004.
- (25) Low, J. C., McKendrick, I. J., McKechnie, I.J., Fenlon, D., Naylor, S.W., Currie, C., Smith, D.G.E., Allison, L., and Gally, D.L. Rectal carriage of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 in slaughtered cattle. *Appl Environ Microbiol.* 2005, pp. 93-97.
- (26) March, S. B., and Ratnam, S. Sorbitol-MacConkey medium for detection of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol.* 1986; 23 (5), pp. 869-872.
- (27) MacRae, M., Rebate, T., Johnston, M., and Ogden, I.D. The sensitivity of *Escherichia coli* O157 to some antimicrobials by conventional and conductance assays. *Lett Appl Microbiol.* 1997, pp. 135-137.
- (28) Microbiological Safety of Food Funders Group. 2010. Publicly Funded Research relating to enterovirulent *Escherichia coli*: Update 2010: research covered from 2000 to 2008.
- (29) The Pennington Group. "Report on the circumstances leading to the 1996 outbreak of infection with *E. coli* O157 in Central Scotland, the implications for food safety and the lessons to be learned", Stationery Office Books. 1997.
- (30) Pennington, T.H. VTEC: lessons learned from British outbreaks. *J Appl Bact.* 2000; 88, pp. 90-98
- (31) Pennington, T.H. The Public Inquiry into the September 2005 Outbreak of *E. coli* O157 in South Wales. <http://gov.wales/splash?orig=/ecolidocs/3008707/reporten>. 2009.

- (32) Perna, N.T., Plunkett, G., Burland, V., Mau, R., Glasner, J.D., Rose, D.J., Mayhew, G.F., Evans, P.S., Gregor, J., Kirkpatrick, H.A., Posfai, G., Hackett, J., Klink, S., Boutin, A., Shao, Y., Miller, L., Grotbeck, E.J., Davis, N.W., Lim, A., Dimlanta, E.T., Potamiosis, K.D., Apodaca, J., Anantharaman, T.S., Lin, J., Yen, G., Schwartz, D.C., and Welch, R.A. Genome sequence of enterohaemorrhagic *E. coli* O157:H7, *Nature*. 2001; 409, pp. 529-533.
- (33) Ratnam, S., March, S. B., Ahmed, R., Bezanson, G.S., and Kasatiya, S. Haracterization of *Escherichia coli* serotype O157:H7. *J Clin Microbiol*. 26 (10), 2006-2012.
- (34) Salmanzade-Ahrabi, S., Habibi, E., Jaafari, F., and Zali, M.R. Molecula epidemiology of *E. coli* diarrhea in children in Tehran. *AnnTrop Paediatr*. 2005; 25, pp. 35-39.
- (35) SANCO. 2013. Commission Regulation (EU) No amending Regulation (EC) No 2073/2005 as regards microbiological criteria for sprouts and the sampling rules for poultry carcasses and fresh poultry meat. <http://faolex.fao.org/docs/pdf/eur121462.pdf> (11). 2013.
- (36) Scallan, E., Hoekstra, R.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M.-A., Roy, S.L., Jones, J.L., and Griffin, P.M. Foodborne illness acquired in the United States – major pathogens. *Emerg Infect Dis*. 2011; 17 (1), pp.7-15.
- (37) Thompson, J. S., Hodge, D. S., and Borczyk, A. A. Rapid biochemical test to identify verocytotoxin-positive strains of *Escherichia coli* serotype O157. *J Clin Microbiol*. 1990; 28 (10), pp. 2165-2168.
- (38) USDA. FSIS Verification Testing for Non-O157 Shiga Toxin- Producing *Escherichia coli* (Non-O157 *Stec*) Under Mt60, Mt52, and Mt53 Sampling Programs <http://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/data-collection-andrepo>. 2012.
- (39) US FDA. “Guidance for Industry: Juice HACCP Hazards and Controls Guidance, FirstEdition: Final Guidance” [http://www.fda.gov/Food/Guidance Regulation /Guidance DocumentsRegulatory](http://www.fda.gov/Food/Guidance%20Regulation/Guidance%20Documents/Regulatory). 2004.
- (40) Varma, J. K., Greene, K.D., Reller, M.E., De Long, S.M., Nowicki, S.F., Di Orio, M., Koch, E.M., Bannerman, T.L., York, S.T., Lambert-Fair, M.A..., Wells, J.G., and Mead, P.S. An outbreak of *Escherichia coli* O157 infection following exposure to a contaminated building. *JAMA*, 2003; 290, pp. 2709-12.
- (41) Wickham, M. E., Lupp, C., Mascarenhas, M., Vazquez, A, Coombs, B.K., Brown, N.F., Coburn, B.A., Deng, W., Puente, J.L.Karmali, M.A., and Finlay, B.B. Bacterial genetic determinantsof non-O157 STEC outbreaks and hemolytic-uremic syndrome after infection. *J Infect Dis*. 2006; 194 (6), pp. 819-827.
- (42) Woodward, D. L., Clark, C.A., Caldeira, R.A., Ahmed, R., and Rodgers, F.G. Verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC): a major public health threat in Canada. *Can J Infect Dis*. 2002; 13, pp. 321-330.
- (43) Zadik, P. M., Chapman, P. A., and Siddons, C. A. Use of tellurite for the selection of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157. *J Med Microbiol*. 1993; 39 (2). Pp. 155-158.
- (44) Zhao, T., Doyle, P., and Besser, E.R. Fate of enterohaemorrhagic *Escherichia Coli* O157:H7 in apple cider with and without preservatives. *Appl Environ Microbiol*. 1993. pp. 2526- 2530.