عزل وتشخيص جراثيم الأشريشيا القولونية 0157:H7 من لحوم الأبقار المفرومة المحلية والمستوردة ولحم الدجاج المستورد

زهير أحمد محمد

فرع الصحة العامة البيطرية–كلية الطب البيطري– جامعة بغداد – بغداد – العراق

فادية عبد المحسن

فرع العلوم الطبية الاساسية– كلية طب الاسنان– جامعة بغداد – بغداد – العراق

الخلاصة

شملت الدراسة على جمع 143 نموذج لحم من مناطق متفرقة لمدينة بغداد وللفترة من شهر كانون الثاني ولغاية شهر أيار لعام 2006 وبواقع 67 نموذج من لحوم الأبقار المحلية المفرومة، 31 نموذج من لحوم الأبقار المستوردة المفرومة و 45 نموذج من لحم الدجاج المستورد وقد أظهرت نتائج نسبة العزل وعد مستعمرات الأشريشيا القولونية 0157:H7 في نماذج اللحوم الثلاث أختلافاً معنوياً ($P< 0.05$) حيث سجلت أعلى نسبة للعزل الجرثومي ولمعدل عدد مستعمرات الأشريشيا القولونية 0157:H7 في لحوم الأبقار المحلية المفرومة (1.6×10^7 cfu/g, 80%) تليها لحوم الأبقار المستوردة المفرومة (5.9×10^6 cfu/g, 65%) وأخيراً لحم الدجاج المستورد (2.7×10^6 cfu/g, 56%).

Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from locally minced meat and imported minced and chicken meat

Zuhair.A.Mohammed
Dept. of Vet .public health
college of Vet. Med-Baghdad
university- Baghdad-Iraq

Fadia Abd AL-MuhsinAL-Khyat
Dept.Basic Medical Sciences
Dentist College-University of
Baghdad - Baghdad-Iraq

Summary

A total of 143 samples of meat were examined in this study, these represents 67 samples of locally minced meat, 31 samples of imported minced meat and 45 samples of imported chicken meat. The samples were collected from different areas of Baghdad city during the period from January till May 2006.

Detection, isolation an enumeration of *E.coli* 0157:H7 were carried out. The result revealed that there was a significant difference ($P < 0.05$) in the isolation percentage and the microbial counts of *E.coli* 0157:H7 when comparing the three types of meat. The highest prevalence were found in the locally minced meat (80% ; 1.6 x 10^7 cfu/g) Followed by the imported minced meat (65% ;5.9x10^6cfu/g) and finally chicken meat (56%; 2.7 x 10^6 cfu/g).

المقدمة

تعتبر جراثيم الأشريشيا القولونية من الجراثيم التي توجد بصورة طبيعية في القناة المعوية للإنسان والحيوان إلا أن بعض أنماطها المصلية تكون ممرضة للإنسان ومنها النمط المصلي 0157:H7 (1) والذي بعد شكلاً متطوراً أو متحوراً للنمط المصلي الغير مرضي والمتواجدة في أمعاء الماشية، وهي تنتمي إلى مجموعة تعرف بجراثيم الأشريشيا القولونية المعوية النزفية (EHEC *Enteroheamorrhagic E.coli*) (2).

تعد جراثيم الأشريشيا القولونية 0157:H7 مشكلة تهدد الصحة العامة كونها أحد المسببات المرضية للتسمم الغذائي (3) والمسؤولة عن أحداث الكثير من حالات الإصابة بالإسهال الدموي والذي قد يؤدي إلى مضاعفات مرضية خطيرة متمثلة بالتهاب القولون النزفي (Heamorrhagic colitis HC) ومتلازمة حال الدم اليوريمي (Heamolytic Uremic Syndrome HUS) (4) خاصة في الأطفال دون سن الخامسة من العمر وكبار السن (5،6) والتي قد تؤدي في بعض الحالات إلى الوفاة (7) ، وتكمن الأهمية

الصحية لهذه الجراثيم بأحداثها الإصابة بجرع واطئة تقدر بـ cfu 10-100 (8)، هذا وقد تم عزل هذا النمط المصلي لأول مرة عام 1982 في الولايات المتحدة الأمريكية بينما سجلت المراكز الطبية المتخصصة في السنوات الأخيرة ما يقارب 500 حالة وباء سنوياً متضمنة 73000 حالة إصابة مقترنة بوفاة 60 حالة منها (4).

أشارت الدراسات الميدانية أنه وبالرغم من تعدد وسائل الإصابة لهذه الجرثومة إلا أن النواقل الغذائية الملوثة وخاصة اللحوم ذات المنشأ البقري ومنتجاتها تعد المصدر الرئيسي لإصابة الإنسان(9).

ومن أجل تسليط الضوء على مستوى تلوث اللحوم بصورة عامة واللحوم الحمراء بصورة خاصة بهذه الجراثيم في قطرنا وعلاقتهما بصحة المستهلك أقترح إجراء هذه الدراسة.

المواد وطرائق العمل

تم جمع 143 نموذج لحم من مناطق متفرقة لمدينة بغداد وللفترة من شهر كانون الثاني– أيار 2006 حيث تضمنت النماذج 67 نموذج من لحوم الأبقار المحلية المفرومة وبوزن 250غرام لكل نموذج و31 نموذج من لحوم الأبقار المستوردة المفرومة وبوزن 500 غم لكل نموذج و 45 نموذج من لحم الدجاج المستورد (أفخاذ) هذا وقد حفظت النماذج في أكياس البولي أثلين وفي حاويات مبردة لحين إجراء الاختبارات حيث يتم وزن (25) غم لحم من كل نموذج ومجانسته مع 225 مل من وسط ماء الببتون الاغنائي (Buffer peptone water)(10) ثم الحضن عند درجة حرارة 41م^{o} لمدة 24 ساعة (11)، ثم يتم الزرع على الوسط الزرعي المتخصص لعزل جراثيم الأشريشيا القولونية 0157:H7 Cefixim Tellurite-Sorbitol MacConky agar ، إذ تظهر المستعمرات أن وجدت عديمة اللون إلى شبه رمادية مع مركز ضبابي وبقطر 1–2ملم (12) أما لحساب أعداد المستعمرات الجرثومية فقد تم أتباع طريقة (13) وبعدها يتم انتقاء مستعمرة مشخصة مظهرياً وزرعها على وسط الإكار المغذي (Nutrient agar) لغرض إجراء الاختبار المصلي باستخدام عدة التشخيص 0157 Latex[I] (14) و اخيراً يتم إجراء الاختبارات الكيموحياتية التفريقية والتأكيدية والمتضمنة فحص الأندول والحركة وفحص وسط سيانيد البوتاسيوم KCN (16,15).

[I] المنتجة من قبل شركة OXOID

النتائج

1-نسبة العزل ومعدل العد الجرثومي لمستعمرات الاشريشيا القولونيةO157في نماذج لحم البقر المحلي المفروم

اظهرت نتائج هذة الدراسة (جدول 1)ان عدد النماذج التي سجلت نتيجة موجبة لتواجد جراثيم الاشريشيا القولونيةO157في نماذج لحم البقر المحلي المفروم خلال اشهر الدراسة قد بلغ54 نموذجا من مجموع67 نموذج بينما سجلت نسبة العزل الجرثومي64% لشهر كانون الثاني كحد ادنى و90%لشهر نيسان كحد اعلى وبمعدل كلي بلغ80%هذا وسجل معدل اعداد المستعمرات الجرثومية/غم اقل مستوى في شهر شباط (6.8×10^6 وحدة تكوين المستعمرات/غم)بينما بلغ اعلى مستوى في شهر آيار(3.2×10^7وحدة تكوين المستعمرات/غم) وبمعدل كلي بلغ 1.6×10^7 وحدة تكوين المستعمرات/غم.

جدول (1):.نسبة العزل ومعدل العد الجرثومي لمستعمرات الأشريشيا القولونيةO157:H7 من نماذج لحم البقر المحلي خلال فترة الدراسة

الشهر	عدد العينات الكلي/ عدد العينات الموجبة	نسبة العزل %	معدل العد الجرثومي لمستعمرات O157 /غم CFU/g
كانون الثاني	7/11	64	$7.5\ x10^{6}$
شباط	6/8	75	$.8\ x10^{6}6$
آذار	24/29	83	$1.9\ x10^{7}$
نيسان	9/10	90	$2.7\ x10^{7}$
آيار	8/9	89	$3.2\ x10^{7}$
الكلي	54/67	80	$1.6\ x10^{7}$

2-نسبة العزل ومعدل العد الجرثومي لمستعمرات الاشريشيا القولونيةO157في نماذج لحم البقر المستورد المفروم

يبين الجدول (جدول2) ومن خلال فحص31 نموذجا للحم البقر المستورد المفروم قد اظهر 20 نموذجا نتيجة موجبه لتواجد جراثيم الاشريشيا القولونيهO157وتراوحت نسبة العزل الجرثومي بين43%.100% خلال اشهر الدراسه وبلغت نسبة العزل الكليه 65%,.هذا وقد سجل شهر كانون الثاني انخفاضا بمعدل اعداد المستعمرات الجرثوميه/غم ($9.5x10^{5}$ وحدة تكوين المستعمرات/غم) عما تم تسجيله في شهر آيار ($9.1x10^{6}$ وحدة تكوين المستعمرات/غم) هذا وقد بلغ معدل العد الجرثومي الكلي $5.9x10^{6}$ وحدة تكوين المستعمرات/غم.

جدول(2): نسبةالعزل ومعدل العد الجرثومي لمستعمرات الاشريشيا القولونية O157 من نماذج لحم البقرالمستوردالمفروم

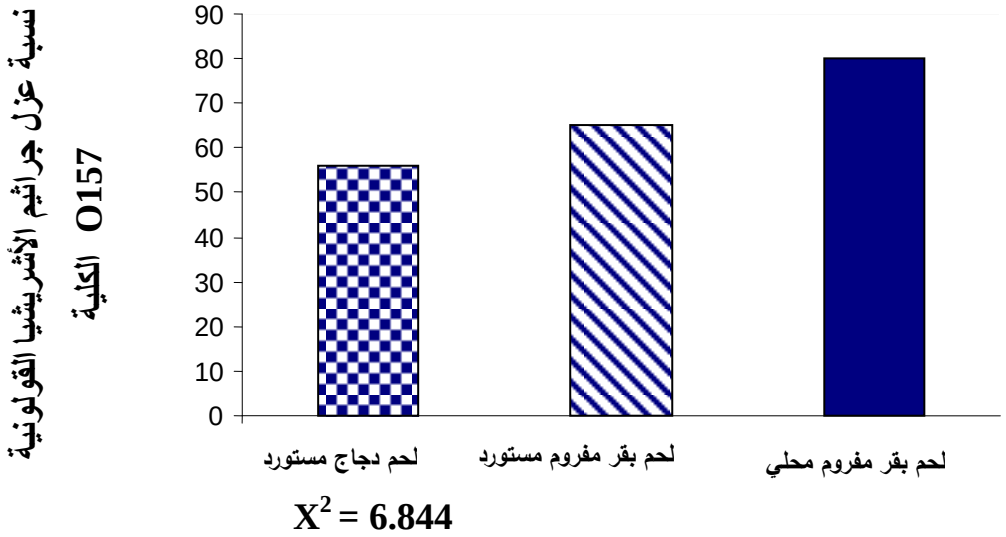
الشهر	عدد العينات الكلي / عدد العينات الموجبة	نسبة العزل %	معدل العد الجرثومي للمستعمرات / غمCFU/g
كانون الثاني	2 / 2	100	$9.5x10^5$
شباط	6/ 11	55	$3.4\ x10^6$
أذار	2 / 4	50	$3x10^6$
نيسان	3 / 7	43	$8.3x10^6$
آيار	7/ 7	100	$9.1x10^6$
الكلي	20/ 31	65	$5.9x10^6$

3-نسبة العزل ومعدل العد الجرثومي لمستعمرات الاشريشيا القولونيه O157 في نماذج لحم الدجاج المستورد: تم فحص45 نموذجا للحم الدجاج المستورد اظهر25 نموذجا منها تواجدا لجراثيم الاشريشيا القولونيهO157 اي بنسبة عزل جرثومي بلغت56% ومن الملاحظ ان نسبة العزل الجرثومي قد سجلت تقاربا خلال اشهر الدراسه وكذلك معدل العد الجرثومي للمستعمرات /غم حيث تراوح ما بين 1.7×10^6 وحدة تكوين المستعمرات/غملشهر نيسان كاقل معدل و4×10^6 وحدة تكوين المستعمرات/غملشهر شباط كاعلى معدل ,هذا وبلغ المعدل الكلي لاعداد المستعمرات الجرثوميه 2.7×10^6 وحدة تكوين المستعمرات/غم (جدول 3).

جدول (3): نسبة العزل ومعدل العد الجرثومي لمستعمرات للأشريشيا القولونية O157 في نماذج لحم الدجاج المستورد خلال فترة الدراسة

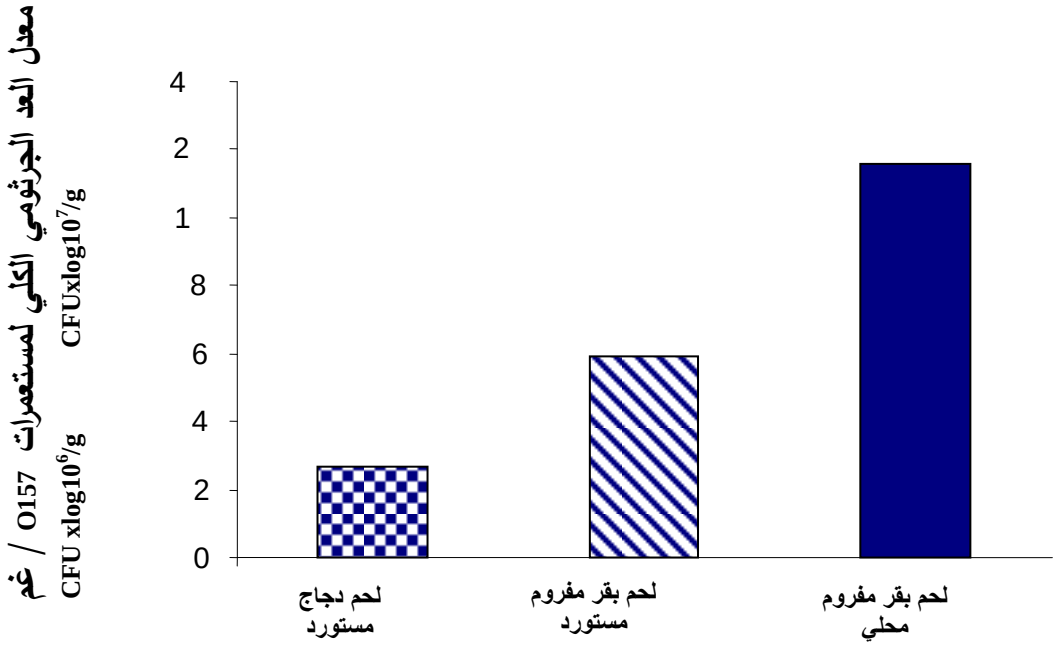
الشهر	عدد العينات الكلي / عدد العينات الموجبة	نسبة العزل %	معدل العد الجرثومي للمستعمرات / غم/CFU
شباط	1/ 2	50	4×10^6
أذار	4 / 7	57	2×10^6
نيسان	7 / 14	50	$.7 \times 10^6 1$
آيار	13/ 22	59	3×10^6
الكلي	25/ 45	56	2.7×10^6

وعند اجراء مقارنه لنسبة العزل الجرثومي للاشريشيا القولونيه O157بين انواع اللحوم الثلاثه (شكل1) ان اعلى نسبة قد سجلت في نماذج لحم البقر المحلي المفروم (80%) تليها نماذج لحم البقر المستورد المفروم(65%) واخيرا لحم الدجاج المستورد(56%) بينما يوضح الشكل (2) مقارنة لمعدل العد الجرثومي الكلي في نماذج اللحوم المدروسه حيث نلاحظ ان اعلى معدل قد سجل في نماذج لحم البقر المحلي المفروم 1.6×10^7 وحدة تكوين المستعمرات/غم ثم نماذج لحم البقر المستورد المفروم5.9×10^6 وحدة تكوين المستعمرات/غم وفي المرتبه الثالثه جاءت نماذج لحم الدجاج المستورد 2.7×10^6 وحدة تكوين المستعمرات/غم.



$X^2 = 6.844$

شكل (1): مقارنة نسبة عزل جراثيم الأشريشيا القولونية O157 الكلية لنماذج أنواع اللحوم الثلاثة خلال فترة الدراسة



شكل(2): مقارنة معدل العد الجرثومي لمستعمرات الأشريشيا القولونية O157 الكلي لنماذج أنواع اللحوم الثلاثة خلال فترة الدراسة

المناقشة

أوضحت نتائج المسح الجرثومي لـ 67 نموذج لحم بقر محلي مفروم أنه تم عزل جراثيم الأشريشيا القولونية 0157 من 54 نموذج أي أن نسبة العزل الكلية قد سجلت80% (جدول1) وهذه النسبة تعتبر عالية مقارنة بنسب العزل الموثقة عالمياً فقد أشار(17) أن نسبة العزل بلغت 1.1% بينما أشارت دراسة أجريت في أيرلندا أن نسبة العزل بلغت 2.8% (18) في حين أشار(19) أن نسبة العزل بلغت 9% أما في تركيا فقد بلغت نسبة العزل الكلية 6% (20) هذا وقد أجريت دراسة في قطرنا لعزل هذا النمط المصلي من لحوم الأبقار المفرومة في عام 1999 وقد سجلت نسبة العزل الكلية 3.3% (21). وبحسب نتائج هذه الدراسة يمكن القول أن ما قد تم تسجيله من نسب عالية للعزل الجرثومي والتي تمثل مؤشر مهم في الدراسات الوبائية، دليل على المستوى الصحي الذي أنتجت فيه لحوم الأبقار المحلية والذي لا ينطبق مع الشروط الصحية الموصى بها من قبل المنظمات الصحية الدولية ويعزى أيضاً إلى التنوع في مصادر اللحوم المباعة في محال الجزارة خلال فترة إجراء البحث بالإضافة لسوء الطرق المتبعة في حفظ وعرض هذه اللحوم وأثر تدني مستويات النظافة لهذه المحال في زيادة مستوى تلوث اللحوم.

وفي مجال احتساب معدل أعداد مستعمرات الأشريشيا القولونية O157 / غم كمؤشر معتمد في التقييم الصحي للحوم تم التوصل من خلال النتائج (جدول1) أن المعدل الكلي قد بلغ 1.6×10^7 cuf/g والذي يعتبر عالي مقارنة مع نتائج الدراسات التي أجريت فقد أشارت منظمة فحص وسلامة الغذاء (FSIS)(22) في عام 2002إلى أن عدد جراثيم الـ *E.coli* O157:H7 تتراوح بين 1-10000 جرثومة لكل غرام بينما في ايرلندا سجل معدل أعداد المستعمرات الجرثومية 4.03 Log 10/g (18) وإشار (23) أن المعدل الكلي لأعداد المستعمرات بلغ 2×10^2 cfu/g، ومن خلال ما تم التوصل إليه في هذه الدراسة يمكن الاستنتاج من أن المستوى العالي لأعداد المستعمرات الجرثومية/غم يعزى إلى مصدر تلوث اللحوم خلال عملية الذبح ومعاملة اللحوم و/أو الظروف التي تعرضت لها اللحوم خلال حفظها أو عرضها في محال الجزارة.

كما بينت نتائج الدراسة ومن خلال فحص 31 نموذج للحوم الأبقار المستوردة المفرومة أنه تم عزل جراثيم الأشريشيا القولونية 0157 من 20 نموذج أي أن نسبة العزل الكلية بلغت65% (جدول 2) وعند المقارنة مع نتائج الدراسات الأخرى والتي أشارت إحداها إلى أن نسبة العزل سجلت 3.8% (24) بينما أشار(25) أن نسبة العزل بلغت 3.7% نستنتج أن النماذج المتوفرة في الأسواق المحلية خلال فترة إجراء الدراسة تعد ذات مستوى تلوث عالي والذي يعتمد بالدرجة الأساس على مستوى التلوث الأصلي لتلك النماذج وحسب الدول المنتجة والمصدرة لها من ناحية، ومن ناحية أخرى على ما تعرضت إليه من فترات خزنية طويلة بعد الذبح وأثناء أعدادها وشحنها إلى الدول المستوردة ومن دون مراعاة للشروط الصحية وهذا ما تم تأكيده من قبل (26) وأما بالنسبة لمعدل أعداد المستعمرات الجرثومية فقد بلغ 5.9×10^6 cfu/g ويعزى هذا إلى مستوى التلوث الأصلي لهذه اللحوم من مناشئها وجاءت هذه النتيجة معززة لما أشار إليه(27) من أنه لا يوجد تغير ملحوظ في أعداد جراثيم *E.coli* O157 في اللحوم المجمدة عن الأعداد المسجلة أصلاً فيها وقبل التجميد فيما لو توفرت الشروط الصحية في خزن وعرض هذه اللحوم. وبالرجوع إلى ظروف الخزن حالياً في قطرنا نجد أنها لا تتطابق مع المواصفات الصحية القياسية (يجب حفظها عند درجة حرارة -18م^{o}) (28) حيث أن هذه اللحوم تتعرض لظروف التجميد والإذابة المتكررة بسبب انقطاع التيار الكهربائي أثناء فترة خزنها بالإضافة إلى بقاءها لفترات طويلة في محلات بيع اللحوم (عدم استهلاكها بوقت قصير من قبل المواطن العراقي) مما يعرضها لهذه الظروف ولأطول الفترات.

واستناداً إلى ما أشارت إليه المصادر الموثقة في عزل النمط المصلي O157 من منطقة الأعور في الدواجن مما قد يسمح بحصول تلوث للحومها أثناء عملية الذبح ومن خلال التماس المباشر

وغير المباشر مع محتويات الأمعاء (29) فقد تم فحص 45 نموذج من لحم الدجاج المستورد وقد سجلت نتيجة موجبة لجراثيم الأشريشيا القولونية O157 في 25نموذج (جدول 3) وبنسبة عزل كلية بلغت 56% في حين أظهرت نتائج دراسات أخرى انخفاضاً في نسبة العزل الجرثومي عما تم تسجيله في هذه الدراسة، فقد أشار (30) إلى أن نسبة العزل بلغت 1.5% وهي نفس النسبة التي تم تسجيلها في دراسة أخرى أجريت من قبل (31) ومن الملاحظ أيضاً ومن خلال النتائج الموضحة في نفس الجدول أن المعدل الكلي لأعداد المستعمرات قد بلغ 2.7×10^6 cfu/g .

ويمكن أن نستنتج بأن مستوى التلوث العالي يعتمد على مصدر هذه اللحوم وتبعاً للدول المنتجة والمصدرة لها بالإضافة إلى أن هذا النوع من اللحوم يباع مجمداً طول فترة عرضه في الأسواق الأمر الذي يحد من انتشار التلوث ناهيك عن الاستهلاك السريع لهذه اللحوم من قبل المواطن العراقي يجنبها التعرض لفترات خزنية طويلة في محلات البيع.

ولتقييم المستوى الصحي لأنواع اللحوم المتداولة والأهمية الصحية لكل نوع تم إجراء مقارنة لنسبة العزل الجرثومي الكلية والمعدل الكلي لأعداد مستعمرات الأشريشيا القولونية O157 في النماذج المدروسة حيث أشارت النتائج الإحصائية لوجود فروق معنوية ($P<0.05$) ومن خلال (الشكل1و2) يمكن ملاحظة أن أعلى المؤشرات قد سجلت في نماذج اللحم البقري المحلي المفروم من حيث نسبة العزل البالغة 80% ومعدل العد الجرثومي للمستعمرات $1.6x10^7$ cfu/g والذي يعكس المستوى الصحي المتدني للمسالخ المتواجدة في مدينة بغداد والتي تعتبر المصدر الرئيسي في تلوث اللحوم المحلية بالإضافة إلى سوء تطبيق الشروط الصحية أثناء التعامل مع هذه الذبائح (تقطيع وإعداد) وصولاً إلى الطرق المتبعة في خزن ونقل وعرض هذه اللحوم ومما يمكن ملاحظته أيضاً أنه وبالرغم من المستوى الصحي العالي في بعض الدول المتقدمة والمصدرة للحوم إلا أن التلوث فيها سجل مستويات مرتفعة فقد جاءت لحوم الأبقار المستوردة المفرومة بالمرتبة الثانية من حيث الأهمية الصحية فقد سجلت نسبة العزل الجرثومي فيها 65% وبمعدل عد جرثومي للمستعمرات بلغ 5.9×10^6 cfu/g وهذا يعزى إلى مستوى التلوث الأصلي لهذه اللحوم من مناشئها أو غياب العمل بالضوابط الصحية في استيرادها مع سوء الطرق المتبعة في تسويقها، أما لحوم الدجاج المستورد فقد سجلت نسبة العزل الجرثومي فيها 56% وبمعدل عد جرثومي للمستعمرات بلغ 2.7×10^6 cfu/g وبهذا فقد احتلت المرتبة الثالثة والأخيرة من حيث الأهمية الصحية ويعود السبب في ذلك إلى المصدر الأصلي لتلوثها وتبعاً للدول المنتجة لها وإلى ما تعرضت إليه من ظروف صحية خلال فترة تسويقها (يتم تسويقها دائماً مجمدة). وجاءت هذه النتائج مطابقة للحقائق التي تم التوصل إليها ومن

خلال الدراسات الميدانية والوبائية والتي أشارت إلى أن اللحوم ذات المنشأ البقري ومنتجاتها تعتبر أهم النواقل الغذائية والمصدر الرئيسي لإصابة الإنسان بجراثيم الأشريشيا القولونية O157:H7 (32،33).

المصادر

1.FDA (Food and Drug Administration) (2002). *Escherichia coli* O157:H7. Center for food safety & Applied nutrition food borne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook. Vm.cfsan.fda.gov/ mow/ chap 15.html,accessed March 2002. Flora. P. 36-43.

2.FSA(Food Standars Agency)(2005). Review of food standars Agency BII verocytotoxin- producing *Escherichia coli* (VTEC) research program. 18th January

3.Healthy, N. J. Information for healthy living.(2005)Food poisoning.

4.Mead,P.S. and Griffin,P.M. (1998). *Escherichia coli* O157:H7, lancet. 352:1207-1212.

5.CDC (Centers for Disease Control and prevention) (2000). Draft risk Assessment of the Public Health impact of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef, food net surveillance report for 1999. final report. November.

6.DBMD(Division of Bacterial and Mycotic Diseases). (2004). *Escherichia coli* general information.

7.Banatvala,N.;Griffin, P.M.Greene,K.D.; Barrett,T.J.; Bibb,W.F.;Green , J.H.; Wells,J.G. and the hemolytic uremic syndrome study collaborators.(2001). The United States national prospective hemolytic uremic syndrome study: Microbiologic, serologic, clinical and epidemiologic findings. J. Infect Dis. 183: 1063-1070.

8.Chinen,I.; Tamaro,J.D.; Miliwevsky,E.; lound,L.H.; Chillemi,G.; Ledri,S.; Baschkier,A.; Sxarpin,M.; Manfredi,E. and Rivas,M. (2001). Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from retial meats in Argentina. J. Food Prot. 64(9): 1346-1351.

9.Tuttle,J.; Gomez,T.; Doyel,M.P. and Wells,J.G. (1999). Lessons from a large outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection. Epidemiol. Infect.22:185-192.

10.Vimont,A.; Vernozy,C.and Delignette,M. (2006). Isolation of E. coli O157:H7 and non- O157 STEC in different matrices: review of the most commonly used products. Letters in Applied Microbiolgy 42(2):102-108.

11.Cagney,C.; Crowley,H.; Duffy,G.; Sheridan,J.J.; OBrien,S.; Carney, E.; Anderson,W.; McDowell,D.A.; Blair,I.S.and Bishop,B.H. (2004). Prevalence and number of *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef and burgers from butcher shops and supermarkets in the Republic of Ireland: Food Microbiolgy 21:203-212.

12. Scoter, S.; Aldridg., M. and Capps, K. (2000). Validation of a method for the detection of *E. coli* O157:H7 in foods. Food Control 11:85-95.
13. Miles and Misra. (1938). Cited by: Collins, H. and Lyne, P.M. (1976). Microbiological Methods, 4th. Edition Butterworth & Co. Publishers Ltd. London. Pp.194.
14. Crichton,P.B.(1996). Enterobacteriacea: *Escherichia coli* O157. In Mackie and Mccartney practical medical microbiology ,14th ed. PP. 361.
15. James,P.N.and James,B.K.(1998).*Escherichia Coli*.Clinical Microbiology Reviews 11(1):142-201
16. Collee,J.G.; Fraser,A.G.; Mariman,B.P. and Simmons,A.(1996). Culture tests and media, In Mackie and McCartney practical medical microbiology 14th ed. Churchill Livingstone.
17. Chapman,P.A.; Siddons,C.A.; and Harkin,M.A.(2000). A one year study of *Escherichia coli* O157:H7 in raw beef and lamb products. Epidemiol. Infect. 124:207-213.
18. Cagney,C.; Crowley,H.; Duffy,G.; Sheridan,J.J.; OBrien,S.; Carney, E.; Anderson,W.; McDowell,D.A.; Blair,I.S.and Bishop,B.H. (2004). Prevalence and number of *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef and burgers from butcher shops and supermarkets in the Republic of Ireland: Food Microbiolgy 21:203-212.
19. Dutta,S.; Deb, A. Chattopadhyay, U.K. and Tsukamoto, T.(2000). Isolation of shiga toxin-producing *Escherichia coli* including O157:H7 strains from dairy cattle and beef samples marked in calcutta, India. J. Med. Microbiol. 49: 765-767
20. Fatma,B.; Murat,G.(2004). The Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in the ground beef and chicken drumsticks, Internet J. of food safety.2: 13-15.
21. البياتي، عبد الأمير محمد غريب (1999) . عزل وتوصيف بكتريا أشريشيا كولاي والكشف عن مسببات STX و eae A باستعمال تقنية PCR : رسالة ماجستير مقدمة إلى معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الإحيائية / جامعة بغداد.
22. www.drugresesearcher.com ,2002.
23. Elmali, M.and Yaman, H. (2005). Microbiological quality of raw meat balls: Produced and sold in the Eastern of Turkey. Pakistan Journal of Nutrition 4(4): 197-201.
24. Chinen,I.; Tamaro,J.D.; Miliwevsky,E.; lound,L.H.; Chillemi,G.; Ledri,S.; Baschkier,A.; Sxarpin,M.; Manfredi,E. and Rivas,M. (2001). Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from retial meats in Argentina. J. Food Prot. 64(9): 1346-1351.

25. Magwira,A.; Gash,A.and Collison, K. (2005). Prevalence and antibiotic resistance profiles of *E.coli* O157:H7 in beef products from retail outlets in Gaborone, J. Food Prot. 68(2)403-406.
26. Jericho, KWF; O'Laney,G. and Kozub, G.C.(1998). Verification of the hygienic adequacy of beef carcass cooling processes by microbiological culture and the temperature function integration technique. J. Food. Prot. 61:1347-1351.
27. Hilal Beyhan Dogan Halkman, (2004). Death kinetics of *E.coli* O157:H7 and Natural contaminant coliforms in Minced Beef During Irradiation treatment and storage. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 28:915-920.
28. Majda ,B. (2001) Influence of freezing , meat maturity, salt and Nitrite on the survival of *Escherichia coli* O157:H7 in thermally untreated minced beef. Research work performed at the Institute for food hygiene and bromatology. Veterinary Faculty in Ljubljana, Slovenia.
29. Vorsters, S.M.; Greebe,P.R. and Nortje,G.L.(1994). Incidence of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in ground beef, broilers and processed meats in Pretoria, south Africa, J. Food Prot. 57:305-610.
30. Doyel,M.P. and Schoeni,J.L. (1987). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and Poultry. Appl. Environ .Microbiol. 53(10): 2394-2396.
31. Peterson,K.E. and James,W.O. (1998). Agents vehicles and caused inference in bacterial foodborne disease outbreaks: 82 reports (1986-1995).J. Am.-Vet. Med. Assoc. 212:1874-1881. (Medline).
32. Walsh, L.; Dooge, D. and Hill, C. (1997). Screening of *Escherichia coli* O157:H7 in Irish ground beef using two commercial detection system. Irish Veterinary Journal. 50: 111-115.
33. Allos,B.M.; Moore,M.R.; Griffin,P.M. and Tauxe,R.V.(2004). Surveillance for sporadic food borne disease in century: The food net perspective. Clin. Infect. Dis. 38 (suppL3):115-120.