مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان / تابستان ۱۳۸۶ / دوره ۹ / شماره ۲ (پی‌درپی ۲۲) / صفحات ۱۷ تا ۲۳

تحقیقی

فراوانی اشریشیاکلی تولیدکننده شیگاتوکسین در بیماران با کولیت هموراژیک مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های تهران (سال ۱۳۸۳)

دکتر محمدمهدی اصلانی
دانشیار بخش میکروب‌شناسی انستیتو پاستور ایران

علی صادق شش‌پلی
کارشناس ارشد میکروب‌شناسی
دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

دکتر سیاوش صادقیان
دانشیار گروه میکروب‌شناسی
دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

دکتر محمدیوسف علیخانی
استادیار گروه میکروب‌شناسی
دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

نویسنده مسؤول : دکتر محمدمهدی اصلانی
پست الکترونیکی : mmaslani@yahoo.com
نشانی : تهران، خیابان کارگر جنوبی، خیابان پاستور خیابان ۱۲ فروردین، پلاک ۶۹، انستیتو پاستور ایران
تلفن : ۶۶۴۰۵۵۳۵-۰۲۱
نمابر : ۶۶۴۰۵۵۳۵

وصول مقاله : ۸۵/۵/۲۳
اصلاح نهایی : ۸۶/۳/۸
پذیرش مقاله : ۸۶/۳/۱۹

چکیده

زمینه و هدف : *اشریشیاکلی‌های تولیدکننده شیگاتوکسین (STEC) به سروتایپ‌های مختلف O تعلق داشته و یکی از عوامل اتیولوژیک اسهال می‌باشند. سویه‌های STEC نه تنها به عنوان عامل انتریت همراه با سالمونلاهای غیرتیفوئیدی و کمپیلوباکتر مطرح می‌باشند، بلکه عامل ایجاد دو عارضه مهم سندرم اورمی همولیتیک و کولیت هموراژیک نیز هستند. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی اشریشیاکلی تولیدکننده شیگاتوکسین در بیماران با کولیت هموراژیک مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های تهران بود.*

روش بررسی : *در این پژوهش فراوانی اشریشیاکلی‌های تولیدکننده شیگاتوکسین (STEC) در افراد با کولیت هموراژیک در دو جمعیت انسانی شامل افراد مبتلا به کولیت هموراژیک (گروه بیماران ۷۰ نمونه) و افراد دارای اسهال (گروه کنترل ۷۰نمونه)در ۶ ماه اول سال ۱۳۸۳ مورد بررسی قرار گرفت. برای جستجوی ژن stx و یافتن سویه‌های STEC از روش PCR و برای شناسایی سروگروپ‌های STEC از روش آگلوتیناسیون روی لام با استفاده از آنتی‌سرم‌های اختصاصی استفاده گردید. سپس با تکثیر ژن flic و برش محصول PCR با آنزیم HhaI و مقایسه با بانک اطلاعاتی ژن flic سروتیپ‌های سویه‌ها مشخص گردید.*

یافته‌ها : *۲ نمونه (۲/۹ درصد) از جمعیت بیماران مبتلا به کولیت هموراژیک و ۱۲ نمونه (۱۷/۱ درصد) از جمعیت افراد اسهالی دارای STEC بودند. این یافته‌ها حاکی از آن است که بین جداسازی STEC و کولیت هموراژیک ارتباط معنی‌داری وجود نداشت. ولی بین اسهال و جداسازی STEC رابطه معنی‌داری وجود داشت($P<۰/۰۵$). سروتیپ‌هایی که دراین مطالعه جدا شدند عبارتند از: O142:H48 در گروه بیماران و O111:H23,O26:H4,O126:H6,O126:H47 در گروه کنترل که در هیچ گزارشی از آنها به عنوان عامل کولیت هموراژیک یاد نشده است.*

نتیجه‌گیری : *با توجه به نتایج به دست آمده، رابطه مشخصی میان STEC و کولیت هموراژیک در جمعیت مورد مطالعه این تحقیق مشاهده نشد. عدم وجود ارتباط بین جداسازی STEC و کولیت هموراژیک می‌تواند ناشی از عدم وجود سروتیپ‌های شایع در این عارضه مانند سروتیپ O157:H7 در ایران باشد.*

کلید واژه‌ها : *STEC – کولیت هموراژیک – PCR – سروتایپینگ – O157:H7*

مقدمه

اسهال از شایع‌ترین بیماری‌ها در کودکان به خصوص در کشورهای درحال توسعه (از جمله آسیا، خاورمیانه، آفریقا و آمریکای لاتین) بوده و دومین عامل مرگ و میر بعد از عفونت‌های تنفسی به‌شمار می‌آید (۱). در ایران طبق آمار سازمان بهداشت جهانی میزان مرگ و میر در اثر اسهال ۳۶/۹ به ازاء ۱۰۰۰ تولد زنده و در کودکان زیر ۵ سال ۹/۷ مورد به ازاء هر ۱۰۰۰ تولد زنده می‌باشد (۲). از میان عوامل عفونی ایجادکننده اسهال، اشریشیاکلی‌های اسهال‌زا از مهم‌ترین عوامل اتیولوژیک اسهال کودکان زیر ۵ سال می‌باشند (۳). اشریشیاکلی‌های اسهال‌زا حداقل به ۷ گروه انتروپاتوژنیک، انتروتوکسیژنیک، انتروهموراژیک، اشریشیاکلی‌های تولید کننده شیگاتوکسین، اشریشیاکلی‌های مهاجم، انترواگرگیتیو و اشریشیاکلی‌های با چسبندگی منتشر تقسیم می‌شوند. اشریشیاکلی‌های تولیدکننده شیگا توکسین (STEC) (Shiga toxin producting E.coli) به وسیله کونووالکوک و همکاران در اواخر دهه ۱۹۷۰ درکانادا به عنوان یک عامل اتیولوژیک اسهال شناسایی شدند (۴).

سویه‌های STEC دارای توکسینی بنام شیگاتوکسین هستندکه به وسیله آنتی‌سرم ضدشیگاتوکسین، شیگلا دیسانتری خنثی می‌شود. مهم‌ترین عوارض این گروه کولیت هموراژیک (Hemorrhagic colitis) (HC) و سندرم اورمی همولیتیک (Hemolytic uremic syndrome) (HUS) می‌باشد (۴).

مهم‌ترین سروتیپ از این گروه E.coli O157: H7 می‌باشد. تاکنون ۲۰۰ سروتیپ STEC شناسایی شده است (۵). سروتیپ O157:H7 عامل مهم HC و HUS در آمریکا، انگلستان و سروگروپ‌های O26 و O118 در دیگر کشورهای جهان می‌باشند (۶). تحقیقات نشان می‌دهد سویه‌های STEC در احشام نیز وجود داشته که ۴۰ درصد آنها به عنوان پاتوژن برای انسان شناخته شده‌اند. این مسأله احشام را به عنوان مخزن مهم برای سویه‌ها مطرح می‌سازد (۷). در ایران نیز تحقیقی روی جمعیت‌های معمولی انسانی در استان‌های مازندران، گلستان و ایلام انجام شده که وجود سویه‌های STEC را در افراد سالم و اسهالی نشان داده است (۸و۹). این تحقیقات ما را بر آن داشت تا در گام بعدی فراوانی سویه‌های STEC را در افراد با کولیت هموراژیک بررسی نماییم.

روش بررسی

در این پژوهش دو جمعیت انسانی مورد مطالعه قرار گرفتند. جمعیت اول شامل افرادی بود که براساس علائم بالینی و نظر پزشک مبتلا به کولیت هموراژیک بودند (گروه بیماران). جمعیت دوم افراد اسهالی بودند که این عارضه را نداشتند (گروه کنترل). با توجه به میزان شیوع STEC در ایران حجم نمونه به دست آمد. بدین ترتیب ۷۰ نمونه از افراد مبتلا به کولیت هموراژیک و ۷۰ نمونه افراد دارای اسهال در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند.

نمونه‌های مدفوع طی شش‌ماه اول سال ۱۳۸۳ از بیمارستان مهراد، مرکز طبی اطفال تهران و بیمارستان مهر تهران جمع‌آوری شدند. با کمک متخصص اطفال پرسشنامه‌ای طراحی نمودیم که مشخصات افراد مانند نام، سن، جنس، محل سکونت و همچنین علائم بالینی مانند وجود دردهای شکمی، تظاهرات پوستی، سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک در افراد گروه‌های کنترل و بیماران در آن ثبت گردید. برای انتقال نمونه‌ها، سوآپ آغشته به نمونه‌های مدفوع را در محیط انتقالی کاری بلر تلقیح نموده و به انستیتو پاستور تهران منتقل کردیم.

نمونه‌های مدفوع برای پاتوژن‌های روده‌ای و کمپیلوباکتر به روش استاندارد کشت داده شد (۱۰). به‌طور خلاصه نمونه‌ها روی محیط‌های سلنیت F، مکانکی آگار، سالمونلا - شیگلا آگار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و برای کمپیلوباکتر روی محیط Campy BAP در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد و جار بی‌هوازی کشت شد. سپس برای تعیین هویت روی محیط‌های افتراقی کشت شدند. برای جستجو و شناسائی پاتوژن‌های باکتریال مانند شیگلا، سالمونلا و کمپیلوباکتر از روش‌های استاندارد استفاده شد (۱۱و۱۲). برای افزایش ضریب جداسازی سویه‌های STEC تعداد ۵ کلنی از هر نمونه و در مجموع ۷۰۰ کلنی مورد بررسی قرار گرفت و تعیین هویت شد.

لیز و استخراج DNA باکتریائی

پس از کشت نمونه‌های مدفوع روی محیط مک‌کانکی از منطقه اول کشت، به طور مخلوط با لوپ برداشته و در محیط

لوری براث تلقیح شد و به مدت ۱۸ ساعت در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس سوسپانسیون باکتری داخل میکروتیوپ ۲ میلی‌لیتر سانتریفوژ و رسوب حاصل با پروتئیناز K (۲۰mg/ml)، SDS ۲۵ درصد و تامپون لیز مخلوط گردید و یک ساعت در بن ماری با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت که در این صورت لیز باکتری آماده برای استخراج DNA می‌شد. DNA نمونه به روش فنل-کلروفرم استخراج شد (۱۳).

PCR برای جستجوی ژن stx

در این روش برای تکثیر ژن مورد نظر از زوج پرایمرهای Lin و همکارانش (۱۴) استفاده گردید. محصول موردنظر ۹۰۰ جفت باز بود.

Primer 1 : 5-GAA AAT AAT TTA TAT AGT-3
Primer 2 : 5-TTT GAT TGT TAC AGT CAT-3

برنامه تکثیر ژن stx در دستگاه ترموسایکلر شامل مراحل دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، سپس ۴۰ سیکل شامل ۳ مرحله انکوباسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، دمای ۴۳ درجه سانتی‌گراد برای ۱/۵ دقیقه و دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۱/۵ دقیقه سپس طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه بود.

کل واکنش‌های PCR در حجم نهائی ۵۰µl انجام گردید که شامل ۱/۵ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها، ۸ میکرولیتر از dNTP (۱/۲۵ mM)، ۵ میکرولیتر بافر PCR (۱۰X)، ۱/۵ میکرولیتر از $Mgcl_2$(۵۰mM)، ۰/۲ واحد از آنزیم Taq DNA Polymerase (5u/µl Fermentas)، ۳۳/۱ میکرولیتر آب مقطر خالص و ۱ میکرولیتر از نمونه DNA بود. به منظور اطمینان از عدم آلودگی در حین مراحل آزمایش یک میکروتیوب را بدون DNA در دستگاه ترموسایکلر قرار دادیم. از سویه اشریشیاکلی EDL933 به عنوان کنترل مثبت و اشریشیاکلی (HB101) به عنوان کنترل منفی استفاده شد. آشکارسازی محصول PCR با الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۸درصد انجام گردید که برای شناسایی باند مورد نظر از مارکر ۱ کیلوبازی استفاده شد. الکتروفورز در بافر TBE (۰/۵X) و با جریان ۱۰۰ ولت انجام گردید. سپس ژل را به مدت ۱۵ دقیقه درون ظرف حاوی اتیدیوم بروماید با غلظت ۰/۵ µg/ml قرار می‌دادیم و بعد آن را به ظرف حاوی آب مقطر منتقل کرده به مدت ۱۵ دقیقه صبر می‌کردیم تا رنگ اضافه از ژل خارج شود. سپس ژل را در اتاق تاریک در مجاورت نور ماوراء بنفش دستگاه ترانس لومیناتور قرار داده و سپس از ژل عکس تهیه می‌شد.

PCR برای تکثیر ژن flic (بیان‌کننده فلاژل)

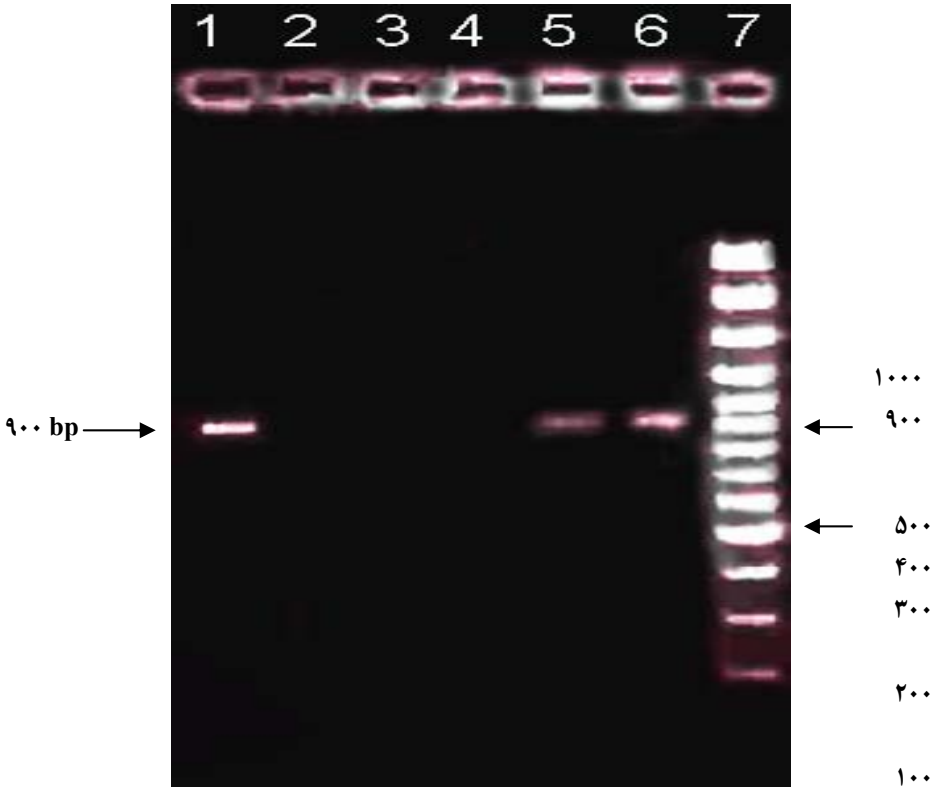
به منظور تعیین آنتی ژن H یا سروتیپ سویه‌های STEC جدا شده در این مطالعه از روش PCR-RFLP استفاده شد. به همین منظور برای تکثیر ژن flic از زوج پرایمرها Grimont و همکارانش (۱۵) استفاده گردید و محصول مورد انتظار ۹۰۰ تا ۲۶۰۰ جفت باز بود (عکس ۱).

تعیین الگوی هضم آنزیمی محصول PCR (PCR-RFLP)

پس از مشاهده باند در محصول PCR ژن flic، به ۱۹/۵ میکرولیتر از این محصول، ۳ میکرولیتر آنزیم HhaI و ۲/۵ میکرولیتر بافر آنزیم اضافه نموده و به مدت حداقل ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه نمودیم. سپس به همراه ۳میکرولیتر loading buffer در ژل آگارز ۲درصد (شامل یک درصد آگارز استاندارد و یک درصد آگارز متافور) و با ولتاژ ۱۰۰ ولت الکتروفورز گردید. برای شناسایی محصول PCR از الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۰/۸درصد استفاده شد. پس از آماده‌سازی ژل ۳ میکرولیتر از loading buffer را به ۱۰ میکرولیتر محصول PCR اضافه کرده مخلوط کرده و به آرامی به وسیله سمپلر در داخل چاهک‌های تعبیه شده در ژل ریختیم. از مارکر (Roche) ۱۰۰ جفت بازی به منظور تعیین اندازه باندهای مشاهده شده، استفاده گردید. الکتروفورز در TBE بافر (۰/۵X) انجام شد. سپس ژل را به مدت ۱۵ دقیقه درون ظرف حاوی اتیدیوم بروماید با غلظت ۰/۵ µg/ml قرار می‌دادیم و سپس آن را به ظرف حاوی آب مقطر منتقل کرده به مدت ۱۵ دقیقه صبر می‌کردیم تا رنگ اضافه از ژل خارج شود. سپس ژل را در اتاق تاریک در مجاورت نور ماوراء بنفش دستگاه ترانس لومیناتور قرار داده و باندها را مشاهده کردیم. عکس ۲ الگوهای هضم آنزیمی محصول PCR ژن flic را نشان می‌دهد.

سروگروپینگ اشریشیاکلی‌های تولیدکننده شیگاتوکسین

سویه‌های STEC که با روش PCR جدا شده بودند، مجدداً



عکس ۱ : الکتروفورز محصول PCR ژن Stx

شماره ۱ کنترل مثبت E.coli EDL933، شماره ۲ کنترل منفی E.coli H101، شماره‌های ۳و۴ نمونه‌های منفی

شماره‌های ۵و۶ نمونه‌های مثبت، شماره ۷ مارکر 100bp

از محیط نگهدارنده گرم منفی‌ها روی محیط BHI آگار کشت شدند. سپس سوسپانسیونی از کلنی و سرم فیزیولوژی در روی لام تهیه شد. در صورت اطمینان از عدم ایجاد اتواگلوتیناسیون، ابتدا با استفاده از آنتی‌سرم‌های نانووالان اختصاصی EPEC (Bio-Rad Co) و در صورت نتیجه مثبت آگلوتیناسیون با آنتی‌سرم‌های تری‌والان و سپس مونووالان سرولوژی شدند.

داده‌ها بااستفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-13 ، آزمون کای‌اسکوئر و تست دقیق فیشر تجزیه و تحلیل شدند. ضریب اطمینان مطالعه ۹۵ درصد (α=۰/۰۵) تعیین شد.

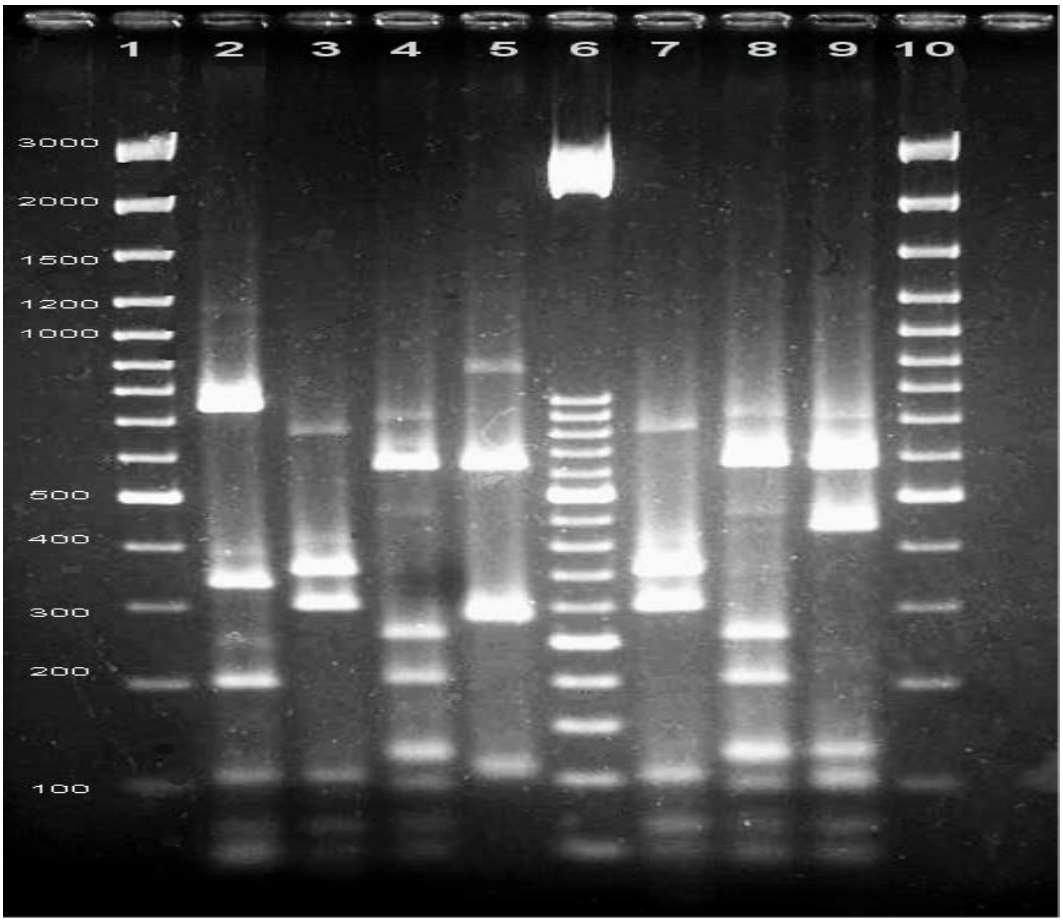
یافته‌ها

از مجموع ۷۰ نمونه گروه بیماران، ۳۷ نمونه (۵۲/۹ درصد) مذکر و ۳۳ نمونه (۴۷/۱ درصد) مونث بود. در جمعیت گروه کنترل، ۴۰ نمونه (۵۷/۱ درصد) از مردان و ۳۰ نمونه (۴۲/۹ درصد) از زنان تهیه شد.

در مورد میزان جداسازی STEC از جمعیت‌های مورد مطالعه، از مجموع ۷۰ نمونه گروه بیماران ۲ نمونه (۲/۹ درصد) دارای ژن stx بودند و در میان نمونه‌های گروه کنترل ۱۲ نمونه (۱۷/۱ درصد) دارای ژن stx بودند. در این مطالعه از مجموع ۱۴ سویه STEC شناسایی شده، ۱۲ مورد آن از کودکان زیر ۵ سال جدا گردید که نیمی از آنها دختر و نیمی دیگر پسر بودند. ۲ مورد نیز از افراد بالای ۵ سال ایزوله شد که هر دو مورد پسر بودند.

پس از کشت باکتری‌های پاتوژن نمونه‌ها و تعیین هویت کلنی‌ها در هیچ‌کدام از نمونه‌های دو جمعیت، سالمونلا و کمپیلوباکتر شناسائی نشد. در ۶نمونه ازگروه بیماران ۴ سویه شیگلا سونه‌ای و دو سویه شیگلا فلکسنری ایزوله گردید.

نتایج سرولوژی با آنتی‌سرم‌های EPEC و آنتی‌سرم O157:H7 نشان داد که از مجموع ۱۴ سویه STEC جدا شده، یک سویه O142 و یک سویه non EPEC از گروه بیماران و ۲ سویه O26، ۲ سویه O126، یک سویه از هر کدام از سروگروپ‌های O111 و O142 و ۳ سویه non EPEC در گروه کنترل شناسائی گردید. ۳ سویه از STEC که از گروه



عکس ۲ : تعیین الگوی هضم آنزیمی محصول PCR ژن flic
شماره ۱۰، ۱ مارکر100bp ، شماره ۶ مارکر50bp، شماره۲ سروتیپ o111:H2 ، شماره۳ سروتیپO26:H4
شماره۴ سروتیپ O142:H48 ، شماره۵ سروتیپ O126:H47 ، شماره۷ سروتیپ O26:H4
شماره۸ سروتیپ O142:H48 ، شماره۹ سروتیپ O126:H6

کنترل جدا شده بودند، از بین رفتند.

پس از تعیین سروتایپ‌های STEC با استفاده از روش PCR-RFLP، سروتیپ O142:H48 در گروه بیماران و سروتیپ‌های O126:H47، O26:H4، O111:H23، O142:H48 و O126:H6 در گروه کنترل شناسائی شدند (جدول۱).

جدول۱ : نتایج سروتایپینگ سویه‌های STEC در گروه کنترل و گروه بیماران

سروتیپ	تعداد در گروه بیماران	تعداد در گروه کنترل
O142:H48	۱	۱
O111:H23	۰	۱
O26:H4	۰	۲
O126:H47	۰	۱
O126:H6	۰	۱

بحث

کولیت هموراژیک و متعاقب آن سندرم اورمی همولیتیک ناشی از عفونت با سویه‌های STEC، به علت ایجاد عوارضی مانند اختلالات عصبی، کم‌خونی همولیتیک و نارسائی حاد کلیه‌ها از اهمیت به سزایی برخوردار می‌باشند. لذا شناسایی عوامل ایجاد کننده این دو عارضه و نحوه پیشگیری و درمان آنها، تحقیقات وسیعی را می‌طلبد که مطالعه ما نیز در راستای تحقق بخشی از این اهداف بود. با توجه به نتایج به دست آمده، رابطه مشخصی میان STEC و کولیت هموراژیک در جمعیت مورد مطالعه این تحقیق مشاهده نشد. ولی با توجه به درصد بالای جداسازی سویه‌های STEC در گروه کنترل (افراد اسهالی فاقد کولیت هموراژیک)، رابطه معنی‌داری بین

جداسازی سویه‌های STEC و اسهال وجود داشت (P<۰/۰۵). سروتیپ O157:H7 نیز در میان هیچ‌کدام از نمونه‌های STEC وجود نداشت. این سروتیپ در مطالعات انجام شده در استان‌های مازندران، گلستان و ایلام نیز شناسایی نشده است (۸و۹). در صورتی که این سروتیپ در بعضی از نقاط جهان مهم‌ترین سروتیپ در ایجاد شیوع بیماری‌های اسهالی,کولیت هموراژیک و HUS می‌باشد (۱۸-۱۶). در مطالعات Blanco که روی مواردکولیت هموراژیک صورت گرفته است، در ۵۵ درصد موارد سروتیپ O157:H7 جدا شده است (۱۶). عدم وجود ارتباط بین جداسازی STEC و کولیت هموراژیک می‌تواند ناشی از عدم وجود سروتیپ‌های شایع در این عارضه مانند سروتیپ O157:H7 در ایران باشد.

در سال‌های اخیر، اپیدمی‌های متعددی در امریکا، انگلستان و ژاپن رخ داده است که در تمامی آنها سروتیپ O157:H7 شناسایی شده است. در اکثر این اپیدمی‌ها مصرف گوشت نپخته گاو, سوپ جوانه گندم و همبرگر عامل شیوع بوده است (۱۸و۱۷). با توجه به این مشاهدات می‌توان عدم شناسایی سروتیپ O157:H7 را در جمعیت معمولی و بیمار کشورمان، به شرایط ژئوگرافیک و نوع اغذیه مصرفی نسبت داد. البته نباید روش‌های تشخیص و جداسازی این سروتیپ را از نظر دور نگاه داشت. در مورد سویه‌های non- O157:H7 STEC در مطالعات zhang wen-lan که روی بیماران مبتلا به اسهال انجام گرفت، سروتیپ‌های O26:H11 , O26:H2 , O26:H8, O26:H32 به دست آمد (۱۹) در این مطالعه از روش PCR-RFLP و PCR برای شناسایی و سروتایپینگ سویه‌های STEC استفاده شد.

Louie روی نمونه‌های کولیت هموراژیک و اسهالی مطالعاتی انجام داده است. با استفاده از روش PCR و PCR-RFLP سروتیپ‌های O157:H7، O118:H16، O111:H8، O111:H11 و O26:H11 را شناسایی نمودند (۲۰).

Hupperiz نیز در مطالعه موارد اسهالی مرتبط با STEC، سویه‌های O145، O103:H2، O111:H8 و O26:H11 را شناسایی نمود (۲۱).

از میان سویه‌های STEC جدا شده در مطالعه ما، سروتیپ O142:H48 در افراد مبتلا به کولیت هموراژیک و سروتیپ‌های O126:H47، O126:H6، O111:H23 و O26:H4 در افراد گروه کنترل شناسایی شدند که هیچ‌کدام به عنوان سروتیپ‌های عامل کولیت هموراژیک گزارش نشده اند. لذا ارتباط معنی‌داری بین کولیت هموراژیک و STEC مشاهده نگردید. ولی ارتباط معنی‌داری بین STEC و اسهال وجود داشت (P<۰/۰۵).

با توجه به این که ۱۲ سویه (۸۶ درصد) از ۱۴ سویه STEC از کودکان زیر ۵سال ایزوله گردید، این موضوع ضریب بالای ابتلای کودکان را به جهت عدم تکامل سیستم ایمنی، آشکار می‌سازد. در بعضی موارد نشان داده شده که برخورد مکرر با سویه‌های STEC می‌تواند ایمنی به برخی از عفونت‌های این گروه را ایجاد نماید (۲۲).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده، رابطه مشخصی میان STEC و کولیت هموراژیک در جمعیت مورد مطالعه این تحقیق مشاهده نشد. عدم وجود ارتباط بین جداسازی STEC و کولیت هموراژیک می‌تواند ناشی از عدم وجود سروتیپ‌های شایع در این عارضه مانند سروتیپO157:H7 در ایران باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مایلند از همکاری خانم‌ها شورج و نیک‌بین و آقای مجید اصلانی تشکر نمایند. این مقاله حاصل قسمتی از طرح مصوب شماره ۱۹۲ انستیو پاستور ایران و پایان‌نامه دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی همدان می‌باشد.

References

1) Rice AL, Sacco L, Hyder A, Black RE. *Malnutrition as an underlying cause of childhood deaths associated with infectious diseases in developing countries*. Bull World Health Organ 2000; 78:1207-21.

2) Black RE, Morris SS, Bryce J. *Where and why are 10 million children dying every year?* Lancet. 2003; 361(9376):2226-34.

3) Velayati A, Ghazi Saidi K, Travati MR. *A study of Salmonella, Shigella and enteropathogenic Esche-richia coli serotypes in acute gastroenteritis chil-dren under the age of five.* Med J Islamic Rep Iran. 1987;1:22-31.

4) Griffin PM, Tauxe RV. *The epidemiology of infections caused by Escherichia coli O157:H7, other enterohemorrhagic E. coli, and the associated hemolytic uremic syndrome*. Epidemiol Rev. 1991;13:60-98.

5) Puzová H, Siegfried L, Kmetová M. *Verotoxin as an important factor in the virulence of E. coli strains*. Bratisl Lek Listy. 1993;94(6):297-301.

6) Karmali MA, Steele BT, Petric M, Lim C. *poradic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing Escherichia coli in stools*. Lancet. 1983;1(8325):619-20.

7) Montenegro MA, Bülte M, Trumpf T, Aleksić S, Reuter G, Bulling E, et al. *Detection and characterization of fecal verotoxin-producing Escherichia coli from healthy cattle*. J Clin Microbiol. 1990; 28(6): 1417-21.

8) Aslani MM, Bouzari S. *An epidemiological study on Verotoxin-producing Escherichia coli (VTEC) infection among population of northern region of Iran (Mazandaran and Golestan provinces).* Eur J Epidemiol. 2003;18(4):345-9.

9) Aslani MM, Badami N, Mahmoodi M, Bouzari S. *Verotoxigenic producing Escherichia coli (VTEC) infection in randomly selected population of Ilam Province (Iran)*. Scand J Infect Dis. 1998;30: 473-76.

10) Balow A, Hausler WJ, Herrmann DL, Isenbrrg HD, Shdomy HJ. Manual of clinical microbiology. 5th Ed. American society for microbiology. Washington D.C. 1990;pp: 402-491.

11) Edwards PR, Ewing WH. Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae. 4th Ed. New York. NY: Elsevier. 1986; pp: 118-235.

12) Baron EJ, Finegold M. Diagnostic Microbiology. Toronto. Mosby. 1990; pp: 363-85.

13) Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. *A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells*. Nucleic Acids Res. 1988;16(3):1215.

14) Lin Z, Kurazono H, Yamasaki S, Takeda Y. *Detection of various variant verotoxin genes in Escherichia coli by polymerase chain reaction*. Microbiol Immunol. 1993;37(7):543-8.

15) Machado J, Grimont F, Grimont PA. *Identification of Escherichia coli flagellar types by restriction of the amplified fliC gene*. Res Microbiol. 2000;151(7):535-46.

16) Blanco JE, Blanco M, Alonso MP, Mora A, Dahbi G, Coira MA, Blanco J. *Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin (verotoxin)-producing Escherichia coli isolates from human patients: prevalence in Lugo, Spain, from 1992 through 1999*. J Clin Microbiol. 2004;42(1):311-9.

17) Michino H, Araki K, Minami S, Nakayama T, Ejima Y, Hiroe K, et al. Recent outbreaks of infections caused by Escherichia coli O157:H7 in Japan. In Kaper, J.B., and O'Brien, A.D. (ed.), Escherichia coli O157:H7 and other shiga toxin-producing E. coli strains. American Society for Microbiology. Washington, D.C. 1998; pp: 73-78.

18) Bell BP, Goldoft M, Griffin PM, Davis MA, Gordon DC, Tarr PI, et al. *A multistate outbreak of Escherichia coli O157:H7-associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers. The Washington experience*. JAMA. 1994; 272(17):1349-53.

19) Zhang WL, Bielaszewska M, Bockemühl J, Schmidt H, Scheutz F, Karch H. *Molecular analysis of H antigens reveals that human diarrheagenic Escherichia coli O26 strains that carry the eae gene belong to the H11 clonal complex.* J Clin Microbiol. 2000; 38(8):2989-93

20) Louie M, Read S, Simor AE, Holland J, Louie L, Ziebell K, et al. *Application of multiplex PCR for detection of non-O157 verocytotoxin-producing Escherichia coli in bloody stools: identification of serogroups O26 and O111.* J Clin Microbiol. 1998; 36(11):3375-7.

21) Huppertz HI, Busch D, Schmidt H, Aleksic S, karch H. *Diarrhea in young children associated with Escherichia coli non-0157 organisms that produce Shiga-like toxins*. J Pediatr 1996;128:341-6.

22) Thomas A, Cheasty T, Frost JA, Chart H, Smith HR, Rowe B. *Vero cytotoxin-producing Escherichia coli, particularly serogroup O157, associated with human infections in England and Wales: 1992-4*. Epidemiol Infect. 1996;117(1):1-10.