

Prevalence and multi-drug resistance of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) isolated from children under 5 years of age with diarrhea in Kashan Shahid Beheshti Hospital during 2009-10

Motallebi M¹, Piroozmand A¹, Rohani M¹, Akbari H², Khorshidi A^{1*}

1- Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

2- Department of Biostatistics and Public Health, Faculty of Health, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received December 23, 2010; Accepted March 10, 2011

Abstract:

Background: Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) is the most important diarrheagenic agent among children in developing countries. However, recent studies have shown its prevalence in developed countries. The purpose of this study was to evaluate the prevalence and multi-drug resistant (MDR) of EPEC isolated from children under 5 years of age with diarrhea hospitalized in Kashan Shahid Beheshti hospital during 2009-10.

Materials and Methods: In this descriptive study 313 fecal specimens were collected using rectal swab method from all children under 5 years of age with diarrhea hospitalized in Kashan Shahid Beheshti Hospital during 2009-10. Specimens were examined by PCR test to determine the *eae* Gene for detection of EPEC pathotype. The isolated multi-drug resistance pattern of EPEC was evaluated by disk diffusion agar. The antimicrobial disks used were ampicillin, nalidixic acid, ceftriaxone, ciprofloxacin, cefalexin, ceftazidime, streptomycin and imipenem.

Results: Of all 178 *E. coli* cases 51 (28.6%) EPEC pathotypes were isolated. The prevalence of EPEC was higher in children under 1 year of age. MDR rate in EPEC was 70.6%.

Conclusion: The exact application of antibiogram test is necessary before antibiotic prescription for complete treatment and prevention of diarrhea caused by multi-drug resistance agents.

Keywords: Children, Diarrhea, Enteropathogenic *Escherichia coli*

* Corresponding Author.

Email: Khorshidi_A@kaums.ac.ir

Tel: 0098 361 555 0021

Fax: 0098 361 555 1112

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, Spring, 2011; Vol. 15, No1, Pages 61-68

بررسی فراوانی و مقاومت چند دارویی اشریشیا کلی انتروپاتوژنیک جدا شده از کودکان زیر ۵ سال مبتلا به اسهال بستری در بیمارستان شهید بهشتی کاشان طی سال‌های ۱۳۸۸ تا ۱۳۸۹

میترا مطلبی^۱، احمد پیروزمند^۲، مهدی روحانی^۳، حسین اکبری^۴، احمد خورشیدی^{۵*}

خلاصه:

سابقه و هدف: اشریشیاکلی انتروپاتوژن (Enteropathogenic Escherichia coli; EPEC) عامل عمده اسهال کودکان و نوزادان در کشورهای در حال توسعه است، اما به‌طور روز افزون در کشورهای توسعه یافته نیز مشاهده می‌گردد. هدف از این مطالعه، بررسی فراوانی EPEC و وضعیت مقاومت چند دارویی در سویه جدا شده از کودکان زیر ۵ سال مبتلا به اسهال بستری در بخش اطفال در بیمارستان شهید بهشتی کاشان می‌باشد.

مواد و روش‌ها: برای انجام این مطالعه توصیفی ابتدا ۳۱۳ نمونه مدفوع با روش رکتال سواب از کلیه کودکان زیر ۵ سال مبتلا به اسهال بستری شده در بیمارستان شهید بهشتی کاشان از آبان ۱۳۸۸ تا اردیبهشت ۱۳۸۹ جمع‌آوری شده، سپس نمونه‌ها از لحاظ وجود پاتوتایپ EPEC از طریق PCR جهت شناسایی ژن eae مورد بررسی واقع شدند. الگوی مقاومت چند دارویی EPEC مجزا شده با استفاده از روش دیسک دیفیوژن آگار نسبت به آنتی بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید، سفالکسین، ایمی‌پنم، سفتریاکسون، سفنازیدیم، استرپتومایسین و آمپی‌سیلین مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: از ۱۷۸ نمونه اشریشیاکلی، ۵۱ مورد (۲۸/۶ درصد) EPEC جداسازی گردید، که در این مطالعه بیشترین فراوانی آن مربوط به کودکان زیر ۱ سال بود. میزان مقاومت چند دارویی در این پاتوتایپ ۷۰/۶ درصد مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که EPEC یکی از عوامل مهم ایجاد اسهال در کودکان مذکور بوده و میزان آن بسیار بالا می‌باشد. بنابراین به‌منظور درمان کامل و جلوگیری از گسترش اسهال ناشی از این سویه‌های مقاوم در کودکان، انجام دقیق تست‌های آنتی بیوگرام قبل از تجویز آنتی بیوتیک ضروری است.

واژگان کلیدی: کودکان، اسهال، اشریشیاکلی انتروپاتوژن

فصلنامه علمی - پژوهشی فیض، دوره پانزدهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۰، صفحات ۶۸-۶۱

مقدمه

در میان پاتوژن‌های باکتریایی اشریشیاکلی مولد اسهال (Diarrheagenic Escherichia Coli; DEC) یکی از مهم‌ترین عوامل اسهال اندمیک و اپیدمیک در سطح جهان است [۲]. شناسایی سویه‌های E.coli مولد اسهال نیازمند افتراق اعضای پاتوژن فلور طبیعی از این ارگانیسم‌ها می‌باشد. سروگروپ آنتی‌ژن O برای تعیین یک سویه مولد اسهال کافی نیست؛ چرا که بروز اسهال به این عامل بستگی نداشته و در اکثر موارد به حضور فاکتورهای ویروالانس وابسته است [۳]. سویه‌های DEC بر اساس ویژگی‌های ویروالانس خاص خود، ارتباط با بعضی از سروتایپ‌ها و خصوصیات اپیدمیولوژیکی به ۶ پاتوتایپ اصلی تقسیم بندی می‌گردند: E.coli انتروپاتوژنیک (EPEC)، E.coli انتروهموراژیک (EHEC)، E.coli انتروتوکسیژنیک (ETEC)، E.coli انترواگرگیتسو (EAEC)، E.coli انترواینویسیو (EIEC)، و E.coli با الگوی چسبندگی منتشر (DAEC) [۴]. پاتوتایپ اشریشیاکلی انتروپاتوژن (EPEC) عامل عمده اسهال کودکان در کشورهای در حال توسعه بوده و به‌طور روزافزون در کشورهای توسعه یافته نیز شناسایی می‌شود [۵-۷]. E.coli انتروپاتوژنیک به واسطه ژن کروموزومی eae که intimin را کد می‌کند عامل زخم‌های

بیماری اسهال یکی از مشکلات عمده بهداشت جوامع در سطح جهان بوده که هر ساله بیش از ۲ میلیون رخداد مرگ به‌ویژه در کودکان کمتر از ۵ سال را ایجاد می‌کند [۱]. عوامل اتیولوژیک اسهال شامل طیف وسیعی از ویروس‌ها، باکتری‌ها و انگل‌ها می‌باشد.

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

^۲ استادیار، گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

^۳ مربی، گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

^۴ مربی، گروه بهداشت عمومی و آمار، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

^۵ دانشیار، گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

* نشانی نویسنده مسوول:

کاشان، کیلومتر ۵ بلوار قطب روانی، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی

تلفن: ۰۳۶۱۵۵۵۰۰۲۱ | دورنویس: ۰۳۶۱۵۵۵۱۱۱۲

پست الکترونیک: Khorshidi_A@kaums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۲ | تاریخ پذیرش نهایی: ۸۹/۱۲/۱۹

هیستوپاتولوژیکی به نام (Attaching/Effacing; A/E) می‌باشد. مشخصات تیپیکال زخم‌های A/E با اتصال باکتری به سطح اپی تلیال روده آغاز شده و با تاثیر بر میکروویلی‌ها منجر به تشکیل ساختار فنجان‌ی شکل و دپلمریزاسیون فیلامنت‌های اکتین سلول روده در زیر جایگاه اتصال باکتری می‌گردد. این عوامل موجب اختلال در عملکرد سلول میزبان شده و منجر به از دست رفتن اتصالات محکم بین سلولی و عملکرد میتوکندری و در نتیجه از دست رفتن آب و الکترولیت و مرگ سلول می‌گردند [۸]. امروزه برای درمان اسهال ناشی از EPEC از آنتی بیوتیک‌ها استفاده می‌گردد، اما برخی از سویه‌های EPEC نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان می‌دهند. افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری‌های پاتوژن به‌ویژه در کودکان به‌عنوان یکی از مشکلات بهداشت جهانی، محسوب می‌شود. مقاومت آنتی بیوتیکی EPEC، به‌علت شیوع زیادی که در کودکان زیر ۵ سال دارد، حائز اهمیت است [۹]. شناسایی عوامل باکتریایی ایجاد کننده اسهال و انجام تست آنتی بیوگرام برای تعیین حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی می‌تواند در ارائه آنتی‌بیوتیک مناسب جهت درمان و کنترل این عوامل بیماری‌زا و به‌کارگیری تدابیر بهداشتی لازم کمک نماید. لذا، با توجه به اهمیت EPEC در ایجاد اسهال در کودکان زیر ۵ سال و عدم آگاهی نسبت به شیوع مقاومت چند دارویی (MDR: multi-drugresistance)، این مطالعه با هدف تعیین MDR در پاتوتایپ EPEC انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه توصیفی بر روی کلیه کودکان زیر ۵ سال مبتلا به اسهال بستری شده در بیمارستان شهید بهشتی کاشان از آبان ۱۳۸۸ تا اردیبهشت ۱۳۸۹ انجام شد. ۳۱۳ نمونه مدفوع با روش رکتال سواب جمع آوری شده و پس از انتقال به محیط کشت کری بلر در محیط‌های انتخابی اترو باکتریاسه نظیر هکتون انتریک آگار (شرکت Merck آلمان) و سپس اتوزین متیلن بلو (شرکت Merck آلمان) کشت داده شد. با کمک محیط‌های بیوشیمیایی نظیر محیط سه قندی حاوی آهن (TSI)، متیل رد/وژپروسکاتر (MR/VP)، SIM، اوره، سیمون سترات و لیزین ایرون آگار (LIA)، ۱۷۸ نمونه به‌عنوان اشریشیاکلی شناسایی و ۵۱ نمونه از نظر وجود پاتوتایپ EPEC توسط PCR جهت شناسایی ژن eae مورد تایید واقع شدند. جهت انجام PCR ابتدا DNA با استفاده از روش جوشاندن استخراج شد [۱۰]. در این روش پس از کشت نمونه‌ها بر روی محیط کشت بلادآگار و ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۳۷-۸ کلنی از

باکتری برداشت شده و در میکروتیوپ با ۴۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل مخلوط گردید. پس از تهیه سوسپانسیون، مخلوط حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. پس از خالی نمودن مایع رویی و اضافه کردن آب مقطر و انجام ورتکس مجدداً سانتریفیوژ در ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه انجام پذیرفت. در مرحله بعد پس از جوشاندن سوسپانسیون باکتری در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و فریز نمودن آن‌ها در ۲۰- درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه میکروتیوب‌های حاوی سوسپانسیون باکتری به مدت ۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردیده و مایع رویی حاوی DNA به میکروتیوب جدید منتقل گردید. برای انجام PCR مخلوط واکنش با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر آماده شد. برای تهیه این محلول به ۱۳/۵ میکرولیتر از آب مقطر استریل به ترتیب ۲/۵ میکرولیتر ۱۰X بافر، ۱ میکرولیتر Mgcl2، ۱ میکرولیتر dNTP، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای (SK1,SK2) رقیق شده (با غلظت ۱۰۰ میکرومولار) و ۰/۵ میکرولیتر آنزیم ۵ واحدی DNA Taq Polymerase اضافه گردید. تمامی مواد ذکر شده در روش PCR از شرکت سیناژن (ایران) تهیه شد. برنامه PCR و خصوصیات پرایمرهای ژن eae در جدول شماره ۱ ذکر شده است [۱۱]. محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۲ درصد [۱۲] حاوی اتیدیوم بروماید (۵ میکرولیتر جهت رنگ آمیزی ژل) با ولتاژ ۹۰ به مدت ۱ ساعت الکتروفورز و سپس با استفاده از دستگاه ترانس ایلومیناتور (Syngene؛ انگلیس) در مجاورت نور ماورای بنفش مشاهده گردید. تعیین هویت باندهای حاصل به کمک مقایسه با مارکر وزن مولکولی ۱۰۰bp (شرکت Fermentas؛ آلمان) انجام شد. همچنین، سویه EPEC تأیید شده توسط انستیتو پاستور تهران به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. تست آنتی بیوگرام با استفاده از روش دیسک دیفیوژن (کری-بائر) و بر اساس دستورالعمل کمیته ملی استانداردهای آزمایشگاه بالینی (CLSI: clinical and laboratory standards institute) [۱۳]، در برابر ۸ دیسک آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین (۵۰gμ)، نالیدیکسیک اسید (۳۰gμ)، سفالکسین (۳۰gμ)، ایمپی‌پنم (۱۰gμ)، سفتریاکسون (۳۰gμ)، سفنازیدیم (۳۰gμ)، استرپتوماکسین (۱۰gμ) و آمپی‌سیلین (۱۰gμ) تهیه شده از شرکت MAST انگلیس صورت گرفت. سویه‌های مقاوم به حداقل سه کلاس آنتی بیوتیکی به‌عنوان MDR در نظر گرفته شدند. طبقه‌بندی آنتی بیوتیک‌ها براساس پنج کلاس صورت پذیرفت که عبارت بودند از: ۱- فلوروکوانولون‌ها (سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید)؛ ۲- پنی‌سیلین‌ها (آمپی-سیلین)؛ ۳- آمینوگلیکوزیدها (استرپتوماکسین)؛ ۴- سفالوسپورین‌ها (سفالکسین، سفتریاکسون، سفنازیدیم) و ۵- پنم‌ها (ایمی‌پنم).

داده‌های به‌دست آمده توسط نرم افزار SPSS و با استفاده از آزمون مجذور کای مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

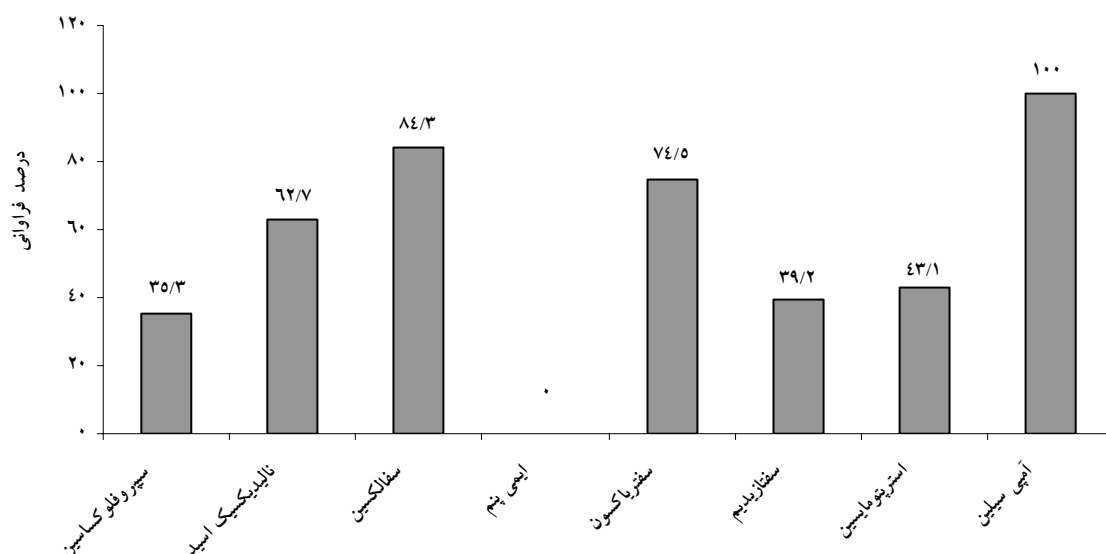
نتایج

افراد مورد مطالعه از نظر سن در محدوده سنی ۱ تا ۶۰ ماه با میانگین سنی $12/4 \pm 16/6$ ماه قرار داشتند. در این مطالعه از مجموع ۳۱۳ نمونه اسهال گرفته شده از کودکان زیر ۵ سال بستری در بیمارستان شهید بهشتی کاشان ۱۷۸ مورد (۵۷/۸ درصد) باکتری اشریشیا کلی جدا شد که ۵۱ نمونه (۲۸/۶ درصد) از این موارد به عنوان سویه EPEC شناسایی گردیدند. در گروه کودکان مبتلا به EPEC ۲۱ نفر پسر و ۳۰ نفر دختر وجود داشتند. میزان MDR در نمونه‌های EPEC جدا شده، ۷۰/۶ درصد به‌دست آمد. نتایج این مطالعه بیان‌گر عدم ارتباط بین جنس و کلاس‌های آنتی بیوتیکی مقاوم MDR (۳ و بیش از ۳ کلاس) می‌باشد ($P > 0/05$) (جدول شماره ۲). نتایج این مطالعه در مورد میزان MDR به تفکیک سن کودکان مبتلا به اسهال نشان داد موارد MDR بیشتر در گروه زیر یک سال وجود داشتند، اما ارتباط

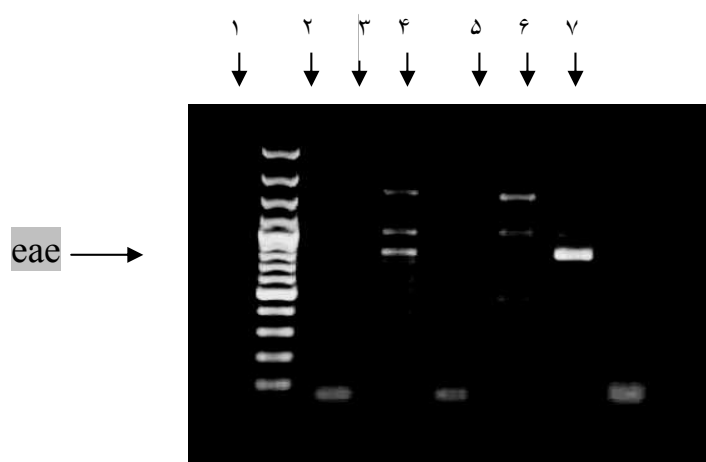
معنی‌داری بین سن و MDR وجود نداشت ($P > 0/05$) (جدول شماره ۲). از لحاظ مدت زمان بستری در نیز بیشتر موارد MDR در بیمارانی بود که ۳-۲ روز بستری داشتند، ولی از لحاظ آماری ارتباط معنی‌داری بین مدت زمان بستری و MDR به‌دست نیامد ($P > 0/05$) (جدول شماره ۲). لازم به‌ذکر است که بالاترین میزان مقاومت به‌ترتیب نسبت به آمپی سیلین (۱۰۰ درصد)، سفالکسین (۸۴ درصد) و سفتریاکسون (۷۴/۵ درصد) و بیشترین میزان حساسیت نسبت به سیپروفلوکساسین (۵۶/۸ درصد) مشاهده گردید (نمودار و شکل شماره ۱).

جدول شماره ۱- پرایمرها و برنامه PCR جهت تکثیر ژن eae

Target	eae
Forward primer	CCCGAATTTCGGCACAAGCATAAGC
Reverse primer	CCCGGATCCGTCTCGCCAGTATTCG
PCR condition	30/94°C 2min; 94°C, 30s; 52°C, 60s; 72°C, 60s; 72°C, 5min
Amplicon (bp)	863



نمودار شماره ۱- الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی اشریشیا کلی انتروپاتوژنیک جدا شده از کودکان بستری در بخش اطفال بیمارستان شهید بهشتی کاشان طی سال‌های ۱۳۸۸ تا ۱۳۸۹



شکل شماره ۱- تصویر الکتروفورز محصول PCR مربوط به ژن eae در برخی از نمونه‌های اشریشیاکلی. شماره ۱؛ مارکر وزن مولکولی DNA (ladder 100-bp)، شماره ۲؛ کنترل منفی، شماره ۳؛ نمونه E.coli دارای ژن eae، شماره ۴؛ نمونه E.coli فاقد ژن eae، شماره ۵؛ نمونه E.coli فاقد ژن eae، شماره ۶؛ کنترل مثبت، و شماره ۷؛ نمونه E.coli فاقد ژن eae

جدول شماره ۲- توزیع درصد فراوانی مقاومت انتروپاتوژنیک اشریشیاکلی جدا شده از کودکان بستری در بخش اطفال بیمارستان شهید بهشتی کاشان به سه و بیش از سه کلاس آنتی بیوتیک بر حسب جنس، سن و مدت زمان بستری (روز)

P	کلاس های آنتی بیوتیکی مقاوم			عوامل
	کل	≥۳	<۳	
۰/۶۰۷	۲۱ (۴۱/۱۸)	۱۴ (۶۶/۷)	۷ (۳۳/۳)	جنس
	۳۰ (۵۸/۸۲)	۲۲ (۷۳/۳)	۸ (۲۶/۷)	دختر
۰/۷۹۶	۲۴ (۴۷/۰۶)	۱۷ (۷۰/۸)	۷ (۲۹/۲)	<۱
	۹ (۱۷/۶۵)	۷ (۷۷/۸)	۲ (۲۲/۲)	۱-۲
	۱۸ (۳۵/۲۹)	۱۲ (۶۶/۷)	۶ (۳۳/۳)	>۲
	۷ (۱۳/۷۳)	۶ (۸۵/۷)	۱ (۱۴/۳)	≤۱
۰/۵۴۱	۳۱ (۶۰/۷۸)	۲۱ (۶۷/۷)	۱۰ (۳۲/۳)	۲-۳
	۹ (۲۵/۴۹)	۹ (۶۹/۲)	۴ (۳۰/۸)	۴-۶
				مدت زمان بستری (روز)

[۱۴]. هم چنین مطالعه‌ی Cravioto و همکاران میزان اسهال ناشی از EPEC را در کودکان زیر یک سال ۵۱/۳ درصد گزارش نموده است [۱۵]. به طور مشابه در یک مطالعه دیگر میزان شیوع EPEC در کودکان تهرانی مبتلا به اسهال ۴۴/۹ درصد گزارش گردید [۱۶]، که در مقایسه با نتایج ما شیوع بالاتری را نشان می‌دهد. در مقابل نتایج مربوط به میزان شیوع در این بررسی با مطالعه دیگری که در تهران و سئندج انجام شد و میزان شیوع این پاتوژن را در بیماران اسهالی به ترتیب ۲۶/۷ و ۲۰/۱ درصد گزارش نمودند، مطابقت دارد [۱۷]. با نگاهی به آمار مربوط به شیوع EPEC در عفونت‌های اسهالی کودکان در مطالعات متفاوت مشخص می‌شود که میزان شیوع در این مطالعات طیف وسیعی را به خود اختصاص می‌دهد. این مقادیر در بررسی‌هایی که در کشورهای جنوب شرقی

بحث

مطابق با یافته‌های این مطالعه، ۵۱ نمونه (۲۸/۶ درصد) از ۱۷۸ بیمار حامل اشریشیا کلی از نظر پاتوتایپ EPEC مثبت گزارش شدند که بیشترین فراوانی مربوط به کودکان زیر ۱ سال بوده و مقاومت چند دارویی در این سویه ۷۰/۶ درصد به دست آمد. این نتایج بیان‌کننده این نکته هستند که EPEC یکی از علل مهم ایجاد اسهال در کودکان زیر ۵ سال مراجعه کننده به بیمارستان شهید بهشتی کاشان از آبان ۸۸ تا اردیبهشت ۸۹ می‌باشد. در مطالعه‌ی سلطان دلال در جنوب تهران، میزان EPEC در کودکان زیر ۵ سال مبتلا به اسهال ۶/۸ درصد گزارش گردید [۵]. در یک مطالعه‌ی دیگر در شهر ساری نیز شیوع سروگروه‌های EPEC در کودکان زیر ۱ سال، ۱۲ درصد گزارش شده است

به آمپی سیلین، سفالکسین و سفتریاکسون مشاهده گردید. در مطالعه شیرازی و همکاران میزان مقاومت نسبت به سفالکسین (۲۶/۳ درصد)، سفتریاکسون (۲۱/۱ درصد) و نالیدیکسیک اسید (۶۳/۲ درصد) می باشد که نسبت به مطالعه ما درصد پایین تری را نشان می دهد [۲۸]. به نظر می رسد این تفاوت به علت مصرف بیشتر این آنتی بیوتیک در این منطقه است. در یک مطالعه دیگر مقاومت به استرپتومایسین (۷۹/۶ درصد) و نسبت به آمپی سیلین (۹۱ درصد) گزارش گردید [۲۹]. در این مطالعه هیچ یک از نمونه ها به نالیدیکسیک اسید مقاوم نبودند، در مقابل در مطالعه ما ۶۲/۷ درصد به نالیدیکسیک اسید مقاومت نشان دادند که این مسئله حاکی از افزایش روزافزون مقاومت به این آنتی بیوتیک می باشد. با توجه به نتایج این مطالعه شناخت پزشکان در کشور ما و به ویژه شهرستان کاشان از الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی EPEC در اتخاذ راه کارهای مناسب بهداشتی و درمانی اهمیت به سزایی دارد.

نتیجه گیری

بر طبق یافته های حاصل از این مطالعه، شیوع بالای EPEC نشان گر نقش با اهمیت آن در ایجاد اسهال کودکان زیر ۵ سال می باشد. لذا، انجام تست های تشخیصی جهت تعیین EPEC در آزمایشگاه های تشخیص طبی و بیمارستان ها ضروری می باشد. از طرفی با توجه به تنوع در الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی، تنوع در روند شیوع EPEC و افزایش روزافزون مقاومت این پاتوتایپ نسبت به آنتی بیوتیک های رایج بایستی در مصرف این آنتی بیوتیک ها دقت نمود. به منظور درمان کامل و جلوگیری از گسترش اسهال ناشی از این سویه های مقاوم در کودکان، انجام دقیق تست های آنتی بیوگرام قبل از تجویز آنتی بیوتیک ضروری است.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان صورت پذیرفت که بدین وسیله از آن معاونت تشکر و قدردانی می گردد. هم چنین، از پزشکان و پرستاران بخش کودکان بیمارستان شهید بهشتی کاشان جهت همکاری ایشان در اجرای این پایان نامه صمیمانه تقدیر و تشکر می گردد.

References:

- [1] WHO whord Health organization 2002. Reading Risks, promoting Healthy Life The world Health). Aveible at: [http://www.who.int/whr/en/\(Report\)](http://www.who.int/whr/en/(Report))
- [2] Sunabe T, Honma Y. Relathion ship between o_serogroup and presence of pathogenic factor

آسیا صورت گرفته است از میزان ۲/۷ درصد در سنگاپور [۱۸] تا ۱۲/۶ درصد در تایلند [۱۹] متفاوت است. در برزیل سه بررسی انجام شده آمار ۱۰/۱ تا ۳۲/۷ درصد را گزارش نموده اند [۲۰-۲۲]. نتایج مطالعه ما نشان داد که از لحاظ میزان ابتلا به عفونت های EPEC به تفکیک جنس میزان ابتلا به این پاتوتایپ در نمونه های دختر ۳۰ مورد (۵۸/۸ درصد) در مقابل ۲۱ نمونه پسر (۴۱/۲ درصد) آلوده به EPEC می باشد. به طور مشابه در بعضی از مطالعات شیوع بالای EPEC در دختر بچه های مبتلا به اسهال را گزارش نمودند [۲۳]. در مجموع اگر چه تمامی مطالعات به نقش با اهمیت EPEC به عنوان عامل موثر در ایجاد عفونت های اسهالی به ویژه در کودکان زیر ۵ سال تأکید دارند، اما به نظر می رسد میزان شیوع بسیار متغیر و شدیداً تابع منطقه و جامعه مورد مطالعه می باشد. این نتایج لزوم انجام مطالعات گسترده در کشور ما به منظور ترسیم ساختار اپیدمیولوژیک عفونت های اسهالی با منشأ EPEC را نشان می دهد. از آنجایی که درمان با آنتی بیوتیک ها می تواند باعث کوتاه تر شدن دوره بیماری در کودکان مبتلا به اسهال گردد. در این مطالعه میزان MDR در پاتوتایپ EPEC نسبت به آنتی بیوتیک های رایج در درمان عفونت های گوارشی باکتریایی نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته های این مطالعه در مورد مقاومت دارویی نشان داد که میزان MDR ۷۰/۶ درصد می باشد. در مطالعه ای Moyenuddin و همکاران که بر روی EPEC انجام پذیرفت، حدود ۷۵ درصد این سویه حداقل به یک دارو و ۶۴ درصد آن به چند دارو مقاوم بودند [۲۴]. در یک مطالعه دیگر میزان MDR در پاتوتایپ EPEC در کودکان زیر ۵ سال را ۶۷ درصد گزارش نموده اند [۲۵]. این در حالی است که در یک بررسی دیگر در ویتنام، فراوانی MDR در پاتوتایپ EPEC ۸۶ درصد گزارش شده است [۲۶]. تصور می شود با توجه به یافته های آن مطالعه مصرف بی رویه آنتی بیوتیک بدون تجویز پزشک در ویتنام یکی از علل اصلی میزان بالای MDR در آن منطقه نسبت به منطقه کاشان باشد. نتایج این مطالعه در مورد میزان MDR نشان داد که موارد MDR بیشتر در گروه کودکان زیر یک سال وجود داشتند؛ به طور مشابه Ochoa و همکاران بر روی کودکان ۱۲-۲ ماهه پروئی میزان MDR در پاتوتایپ EPEC را ۴۷ درصد گزارش نمودند [۲۷]. بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت

genes in Esherichia coli. *Microbiol Immunol* 1998; 42(12): 845-9.

- [3] Karch H, Meyer T. Single primer pair for amplifying segments of distinct shiga_Like toxin genes by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1989; 27(12): 2751-7.

- [4] Bueris V, Sircili MP, Taddei CR, dos Santos MF, Franzolin MR, Martinez MB, et al. Detection of diarrheagenic *Escherichia coli* from children with and without diarrhea in Salvador, Bahia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2007; 102(7): 839-44.
- [5] Soltan-Dallal MM. Diarrhea caused by enteropathogenic bacteria in children. *Arch Irr Med* 2001; 4(4): 201-3.
- [6] Prère MF, Bacrie SC, Baron O, Fayet O. Bacterial etiology of diarrhea in young children: high prevalence of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) not belonging to the classical EPEC serogroups. *Pathol Biol (Paris)* 2006; 54(10): 600-2.
- [7] Unsworth KE, Mazurkiewicz P, Senf F, Zettl M, McNiven M, Way M, et al. Dynamin is required for F-actin assembly and pedestal formation by enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC). *Cell Microbiol* 2007; 9(2): 438-9.
- [8] Vuopio-Varkila J, Schoolnik GK. Localized adherence by enteropathogenic *Escherichia coli* is an inducible phenotype associated with the expression of new outer membrane proteins. *J Exp Med* 1991; 174(5): 1167-77.
- [9] Kumarasinghe G, Lim YS, Chow C, Bassett DC. Prevalence of bacterial agents of diarrhoeal disease at the National University Hospital, Singapore and their resistance to antimicrobial agents. *Trop Geogr Med* 1992; 44(3): 229-32.
- [10] Nessa K, Ahmed D, Islam J, Kabir FL, Hossain MA. Usefulness of a multiplex PCR for detection of diarrheagenic *Escherichia coli* in a diagnostic microbiology laboratory setting. Bangladesh. *J Med Microbiol* 2007; 1(2): 38-42.
- [11] Zhang WL, Köhler B, Oswald E, Beutin L, Karch H, Morabito S, et al. Genetic diversity of intimin genes of attaching and effacing *Escherichia coli* strains. *J Clin Microbiol* 2002; 40(12): 4486-92.
- [12] Aranda KR, Fagundes-Neto U, Scaletsky IC. Evaluation of multiplex PCRs for diagnosis of infection with diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* spp. *J Clin Microbiol* 2004; 42(12): 5849-53.
- [13] Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. NCCLS documents M 100-SIS. 940 West Valley Road. Wayne, PA, 19087 USA. 2005.
- [14] Nasrolahi M, Sharif M. Prevalence of diarrhea caused by Enteropathogenic E.Coli in under one year old children. *The Journal of Qazvin University of Medical Sciences & Health Services* 2000; (13): 63-8. [in Persian]
- [15] Cravioto A, Trujillo F, León LA, Hernández JM, Eslava C. Infections caused by enteropathogenic *Escherichia coli*. *Gac Med Mex* 1996; 132(6): 611-15.
- [16] Alikhani MY, Mirsalehian A, Aslani MM. Detection of typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) in Iranian children with and without diarrhea. *J Med Microbiol* 2006; 55(pt 9): 1159-63.
- [17] Katouli M, Jaafari A, Farhodi-Moghaddam AA, Ketabi GR. Aetiological studies of diarrhoeal diseases in infants and young children in Iran. *J Trop Med Hyg* 1990; 93(1): 22-7.
- [18] Lim YS, Ngan CC, Tay L. Enteropathogenic *Escherichia coli* as a cause of diarrhoea among children in Singapore. *J Trop Med Hyg* 1992; 95(5): 339-42.
- [19] Sunthadvanich R, Chiewsilp D, Seriwatana J, Sakazaki R, Echeverria P. Nationwide surveillance program to identify diarrhea-causing *Escherichia coli* in children in Thailand. *J Clin Microbiol* 1990; 28(3): 469-72.
- [20] Regua AH, Bravo VL, Leal MC, Lobo Leite ME. Epidemiological survey of the enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from children with diarrhoea. *J Trop pediatr* 1990; 36(4): 176-9.
- [21] Franzolin MR, Alves RC, Keeler R, Gomes TA, Beutin L, Barreto ML, et al. Prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* in children with diarrhea in Salvador, Bahia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005; 100(4): 359-63.
- [22] Roza AC, Mariano AT, Pereira AM, Gomes TA, Andrade JR. Enteropathogenicity markers in *Escherichia coli* isolated from infants with acute diarrhoea and healthy controls in Rio de Janeiro, Brazil. *J Med Microbiol* 1998; 47(9): 781-90.
- [23] Afset JE, Bevanger L, Romundstad P, Bergh K. Association of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) with prolonged diarrhea. *J Med Microbiol* 2004; 53(Pt 11): 1137-44.
- [24] Moyenuddin M, Wachsmuth IK, Moseley SL, Bopp CA, Blake PA. Serotype, Antimicrobial Resistance, and Adherence Properties of *Escherichia coli* Strains associated with Outbreaks of Diarrheal Illness in Children in the United States. *J Clin Microbiol* 1989; 27(10): 2234-39.
- [25] Estrada-García T, Cerna JF, Paheco-Gil L, Velázquez RF, Ochoa TJ, Torres J, et al. Drug-resistant diarrheagenic *Escherichia coli*, Mexico. *Emerg Infect Dis* 2005; 11(8): 1306-8.
- [26] Nguyen TV, Le PV, Le CH, Weintraub A. Antibiotic resistance in diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* strains isolated from children in Hanoi, Vietnam. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(2): 816-9.
- [27] Ochoa TJ, Ruiz J, Molina M, Del Valle LJ, Vargas M, Gil AI, et al. High frequency of antimicrobial drug resistance of diarrheagenic *Escherichia coli* in infants in Peru. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 81(2): 296-301.
- [28] Shirazi MH, Akbari A, Sharifi Yazdi MK, Hosseini M, Fard Sanei F, Bakhtiari R, et al. Antibiotic resistance patterns of enteropathogenic *E.coli* (EPEC) serogroups isolated from stool of under 5 years old children with diarrhea in Tehran:

2007-2008. *Iranian Journal of Medical Microbiology* 2008; 2(3-4): 91-8. [in Persian]
[29] Jafari A, Bouzari S, Farhodi-Moghaddam A. Drug Resistance in Diarrhogenic Escherichia

coli (ETEC, EPEC). *Iranian Journal of Medical Sciences* 1992; 17(1-2): 51-4. [in Persian]