مجله دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران (پیاورد سلامت) دوره ۳ شماره (۳و٤) پاییز و زمستان ۱۳۸۸، ۳۰-۲۵

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 5:33 IRST on Wednesday November 22nd 2017

# جداسازی سویه‌های اشریشیاکلی مهاجم (EIEC) از اسهال کودکان با تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز(PCR)

ابوالفضل اکبری[۱]، دکتر محمد رضا پورمند[۲] ، دکتر محمدکاظم شریفی یزدی[۳]،
دکتر مصطفی حسینی[٤]، دکترمحمد مهدی سلطان دلال*[۵]

## چکیده

***زمینه وهدف:*** *بیماری قلبی عروفی اولین عامل مرگ و میر در بزرگسالان بوده و افزایش کلسترول خون زمینه ساز ابتلاء به این بیماریهاست. هدف اصلی این مطالعه بررسی میزان شیوع هیپرکلسترولمی و ارتباط آن با الگوی تغذیه‌ای، شیوه زندگی و شاخص‌های تن سنجی است. سویه‌های اشریشیاکلی مهاجم (Enteroinvasive Escherichia coli ; EIEC) دسته‌ای از پاتوتایپ های اشریشیاکلی مولد اسهال(DEC) بوده و به عنوان عامل اسهال خونی شبه شیگلا در کودکان و بالغین شناخته شده اند. این سویه‌ها به سروتایپ‌های محدودی تعلق داشته و آنتی ژن های سوماتیک (O) آنها مشابه آنتی ژن های شیگلاها می باشند. سویه‌های EIEC را می‌توان با بررسی وجود ژن آنتی ژن تهاجمی پلاسمیدی (invasive plasmid antigen H ;ipaH) با آزمون مولکولی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) مورد شناسایی قرار داد.از آنجایی که در کشور ما مطالعات چندانی در رابطه با تعیین فراوانی این سویه‌ها و بررسی اهمیت آنها صورت نگرفته است، هدف از این مطالعه شناسایی این سویه‌ها با آزمون PCR در اسهال کودکان زیر ۵ سال شهر تهران بود.*

***روش بررسی:*** *طی یک مطالعه توصیفی، ۳۰۰ نمونه مدفوع اسهالی مربوط به کودکان زیر ۵ سال از بیمارستان علی اصغر(ع) و مرکز طبی کودکان شهر تهران جمع آوری شده و پس از ارسال به آزمایشگاه میکروب شناسی، سویه‌های اشریشیاکلی با کشت برروی محیط کشت هکتون انتریک آگار و انجام تست های بیوشیمیایی افتراقی جداسازی شدند. وجود ژن آنتی ژن تهاجمی پلاسمیدی (invasive plasmid antigen H ;ipaH) در موارد کلنی‌های تایید شده سویه‌های اشریشیاکلی با تکنیک واکنش زنجیره ای پلیمراز(PCR) مورد بررسی قرار گرفت.*

***یافته ها:*** *از میان ۳۰۰ نمونه اسهالی مورد بررسی با استفاده از روش کشت و آزمون های بیوشیمیایی افتراقی، ۳۹ مورد(۱۳٪) سویه اشریشیاکلی مولد اسهال(DEC)جدا سازی شدند.از بین ۳۹ مورد مذکور، ۷ سویه(۲/۳٪) اشریشیاکلی حاوی ژن ipaH (EIEC) با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز(PCR) شناسایی شدند.*

***بحث و نتیجه گیری:*** *جداسازی سویه های اشریشیاکلی مهاجم (EIEC) در این مطالعه حاکی از نقش آنها به عنوان یکی از عوامل باکتریایی در ایجاد اسهال بویژه در کودکان زیر یک سال در کشور ما می‌باشد. برای شناسایی دقیق آنها باید از تکنیک های نوین مولکولی بهره گرفت.*

***واژه‌های کلیدی:*** *اشریشیاکلی مهاجم(EIEC)، اسهال، کودکان،واکنش زنجیره‌ای پلیمراز( PCR)*

* نویسنده مسئول :
**محمد مهدی سلطان دلال ؛**
**بخش میکروب شناسی ، گروه پاتوبیولوژی ، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران**
**Email :Soltanirad34@ vahoo.com**

- دریافت مقاله : تیر ۸۸ - پذیرش مقاله : دی ۸۸

## مقدمه

اسهال به عنوان یک اختلال گوارشی و از عوامل رایج در مرگ ومیر کودکان کشورهای درحال توسعه می‌باشد. برآورد می‌شود سالانه ۵-۳ میلیون ازموارد

[۱] بخش میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت و انستیتو بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۲] بخش میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت و انستیتو بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۳] گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[٤] گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۵] بخش میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت و انستیتو بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 5:33 IRST on Wednesday November 22nd 2017

این بیماری در سرتاسر جهان به مرگ منجر می‌شود. وقوع موارد مرگ و میر بویژه در کودکان زیر۵ سال قابل توجه می‌باشد. عوامل اتیولوژیک اسهال شامل طیف وسیعی از ویروس‌ها، باکتری‌ها و انگل‌ها می‌باشند (۱و۲). از بین عوامل باکتریایی، اشریشیاکلی مولد اسهال (DEC) یکی از عوامل مهم اسهال اپیدمیک و اندمیک در جهان می‌باشد. سویه‌های DEC براساس معیارهایی نظیرخصوصیات اپیدمیولوژیک و ویرولانس به شش پاتوتایپ عمده دسته بندی می‌شوند(۱). سویه‌های اشریشیاکلی مهاجم (Escherichia coli; EIEC Enteroinvasive) یکی از این پاتوتایپ‌ها بوده و به عنوان عامل ایجاد کننده اسهال خونی شبه شیگلوز در کودکان و بالغین شناخته شده‌اند(۸-۳). بیماران دارای تب، کرامپ و مدفوع خونی بوده و علایم بیماری مربوط به توانایی باکتری در اتصال اختصاصی و تهاجم به سلول‌های مخاط روده بزرگ می‌باشد. باکتری از طریق اندوسیتوز وارد سلول میزبان شده، واکوئل اندوسیتیک را لیز کرده و در داخل سلول‌های اپیتلیال و گلبول‌های قرمز تکثیر یافته، سپس منتشر شده و سلول‌های دیگر را نیز آلوده می‌کند(۱و۵). از نظر مکانیسم بیماریزایی، ژن‌ها و عوامل متعددی در اشریشیا کلی‌های مهاجم وجود دارد. یک پلاسمید بزرگ در سویه‌هایEIEC دارای ژن‌هایی است که پروتئین‌های خارجی زیادی را رمزدهی می‌نماید که در بیماری‌زایی این سویه‌ها دخیل می‌باشند. این پروتئین‌های خارجی مسؤل تهاجم اشریشیاکلی به سلول‌های اپیتلیال روده می‌باشند.

یکی از این ژن ها، ژن مربوط به آنتی ژن تهاجمی پلاسمیدی(ipaH; invasive plasmid antigen) می‌باشد که در بین اشریشیاکلی‌های مولد اسهال (DEC) تنها برروی کروموزوم و پلاسمید ویرولان سویه‌هایEIEC قرار گرفته و در شناسایی این سویه‌ها اختصاصی می‌باشد(۵و۶و۹). از آنجایی که سویه‌های EIEC ( و همچنین سایر سویه‌های اشریشیاکلی مولد اسهال) از E.coli غیر بیماری‌زا که به طور معمول در مدفوع انسان یافت می‌شوند، قابل تمیز و جداسازی نمی‌باشند، نمی‌توان تنها براساس معیارهای بیوشیمیایی و کشت، این سویه‌ها را شناسایی کرد. از این رو بایستی این سویه‌ها را به واسطه حضور ژن‌های کد کننده فاکتورهای مربوط به ویرولانس باکتری (که در سویه‌های غیر پاتوژن وجود ندارند)، شناسایی‌کرد(۱). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) از روش‌های رایج در تشخیص ارگانیسم‌ها می‌باشد که نتایج صحیح و قابل اعتمادی را در برداشته وحساسیت و ویژگی بالایی را نشان می‌دهد.

در مطالعات متعددی ماهیت سویه‌هایEIEC با شناسایی ژن ipaH به کمک تست PCR با حساسیت و ویژگی بسیار بالا مورد تایید واقع شده است (۱و ۱۰و۱۱و۱۲). این مطالعه با هدف بررسی فراوانی سویه‌هایEIEC در اسهال کودکان زیر۵ سال شهر تهران با تکنیک مولکولی PCR انجام گرفت.

## روش بررسی

دریک مطالعه توصیفی طی مدت ٤ ماه (از فروردین تا تیرماه۱۳۸۷)، ۳۰۰ نمونه مدفوع از اسهال کودکان زیر ۵ سال از بیمارستان علی اصغر(ع) و مرکز طبی کودکان شهر تهران جمع آوری شده و به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران ارسال شدند. سپس جهت ایزوله سازی سویه‌های اشریشیاکلی، نمونه‌ها بر روی محیط هکتون انتریک آگار(MERCK) کشت داده شدند. پس از انکوبه گذاری به مدت ٢٤ ساعت، کلونی‌های خالص تخمیر کننده لاکتوز که برروی محیط هکتون انتریک آگار به رنگ زرد می‌باشند، با تست‌های بیوشیمیایی و محیط‌های افتراقی نظیر TSI،MR/VP، SIM، اوره،

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 5:33 IRST on Wednesday November 22nd 2017

سیمون سیترات و لیزین دکربوکسیلاز به عنوان سویه‌های اشریشیاکلی مورد تایید واقع شدند.

کلونی‌های مشکوک حدود ۱۸ ساعت دیگر انکوبه گذاری شده و در صورت تخمیر لاکتوز انتخاب می‌شدند. کلونی‌های لاکتوز منفی در صورتی که خصوصیات افتراقی رایج اشریشیاکلی(تولید اندول و مصرف قندها) را نداشتند از مطالعه حذف می‌شدند.

سویه‌های تایید شده اشریشیاکلی در محیط ذخیره skim milk (در فریزر منهای ۲۰ درجه سانتی گراد) نگهداری گردید تا در آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گیرند. ۸-۵ کلونی از کشت ٢٤ ساعته (و انکوبه گذاری شده در ۳۷ درجه سانتی گراد) سویه‌های اشریشیاکلی برروی محیط نوترینت آگار، با ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل در میکروتیوب مخلوط شده و سوسپانسیون حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در آب ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس سوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه با کمک اولترا سانتریفیوژ و در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. از مایع رویی(supernatant) برداشته و در منهای ۲۰ درجه سانتی گراد ذخیره شد تا از آن(۳ میکرولیتر) به عنوان DNAی الگو در آزمون PCR استفاده شود.

تکثیر ژن ipaH با استفاده از جفت پرایمرهای زیر(۲) صورت گرفت. محصول PCR ژن مورد نظر با این پرایمر، ٦۰۰ جفت باز بود. توالی جفت پرایمر مورد استفاده در آزمون PCR :

ipaH F:
GTTCCTTGACCGCCTTTCCGATACCGTC
ipaH R :
GCCGGTCAGCCACCCTCTGAGAGTAC

واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵میکرولیتر از master mix (حاوی ٤ میکرولیتر dNTP،۳ میکرولیتر بافر PCR، ۱میکرولیتر MgCl2 و ۰/۱ واحد آنزیم DNA Taq Polymerase)، ۲/۵ میکرولیتر از coral load، ۵ میکرولیتر از آب مقطرDNase free (شرکت کیاژن)،۳ میکرولیتر از DNAی الگو و ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها (فوروارد و ریورز) بود.

مراحل برنامه تکثیر ژن ipaH در دستگاه ترموسایکلر (PaQlab) شامل واسرشت اولیه (denaturation) در ۹٤ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه، و پس از آن ۳۵ چرخه شامل سه مرحله انکوباسیون در ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه، اتصال (annealing) در٦۲ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه و بسط (extension) در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و سپس یک مرحله بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه انجام گرفت.

به منظور اطمینان از صحت روند کار و مواد واکنشگر و نیز بررسی ویژگیPCR، از سویه استاندارد Shigella sonnei ATCC 9290 (حاوی ژن ipaH) به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر استریل برای کنترل منفی استفاده شد.

۵ میکرولیتر از محصول PCR با الکتروفورز برروی ژل آگارز ۱٪ حاوی ۵ میکرولیتر رنگ اتیدیوم بروماید در بافر تریس بورات-EDTA (TBE) ۰/۵X و با جریان۸۰ ولت آشکارسازی شد. تعیین هویت باندهای حاصل به کمک مقایسه با مارکر وزن مولکولی(Ladder) یک کیلوباز انجام شد.

تهیه عکس از ژل با استفاده از دستگاه ترانس ایلومیناتور ( GelDoc 1000 fluorescent imaging system, Bio-Rad) در مجاورت نور ماورای بنفش صورت گرفت( تصویر ۱).

از آنجایی که مطالعات گذشته در سرتاسر نقاط دنیا حاکی از شیوع ٤۰-۱۰ درصدی سویه‌های اشریشاکلی مولد اسهال (DEC) در اسهال کودکان زیر۵ سال می‌باشند، در این مطالعه جهت تعیین حجم نمونه‌گیری از معادله زیر استفاده و (با پیش بینی شیوع ۲۵ درصدی سویه‌های DCE) تا ۳۰۰ نمونه مدفوع جمع آوری شد:

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 5:33 IRST on Wednesday November 22nd 2017

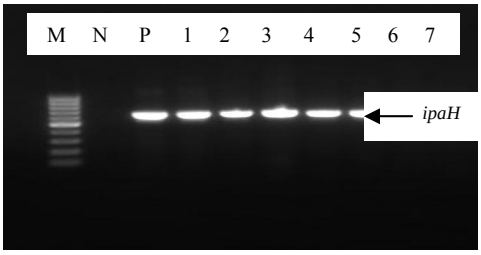
$$n = \frac{(t)^2(p)(q)}{d^2} = \frac{(1.96)^2(0.25)(0.75)}{(0.05)^2} = 288$$

برای تحلیل داده‌های بدست آمده از تست آماری خاصی استفاده نشد.

## یافته ها

از میان ۳۰۰ نمونه اسهالی مورد بررسی با استفاده از روش کشت و آزمون‌های بیوشیمیایی افتراقی، ۳۹ مورد(۱۳٪) سویه اشریشیاکلی مولد اسهال(DEC) جداسازی شدند. از بین ۳۹ مورد DEC جدا شده، ۷ سویه(۱۷/۹٪) اشریشیاکلی حاوی ژن ipaH با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز(PCR) به عنوان سویه‌های EIEC مورد تایید واقع شدند.

تمامی سویه‌های EIEC از کودکان یک سال و زیر یک سال جدا شدند. از این ۷ سویه، ٤ سویه متعلق به کودکان پسر و۳ سویه متعلق به کودکان دختر بودند. در ۵ مورد از این ۷ مورد اسهال خونی مشاهده شد که ٤ مورد مربوط به کودکان پسر و یک مورد مربوط به کودکان دختر بود(جدول ۱).




تصویر۱- الکتروفورز محصولPCR ژن ipaH (600bp)

شماره M مارکر وزن مولکولی(ladder)bp ۱۰۰۰، شماره N کنترل منفی، شماره P Shigella sonnei ATCC 9290 (کنترل مثبت)، و شماره های۷-۱ نمونه‌های بالینی EIEC

**جدول ۱ : مشخصات مربوط به کودکانی که سویه های EIEC از مدفوع آنها جدا شد.**

| جنس بیمار | سن بیمار | وجود اسهال خونی |
|---|---|---|
| دختر | ۱ سال | + |
| پسر | ۱ سال | + |
| دختر | ۱سال | - |
| پسر | ۱۱ ماه | + |
| پسر | ۹ ماه | + |
| دختر | ۱ سال | - |
| پسر | ۱ سال | + |

## بحث

با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان اظهار داشت که اشریشیاکلی‌های مهاجم (EIEC) به عنوان یکی از عوامل باکتریایی ایجاد کننده اسهال کودکان در کشور ما مطرح بوده و برای شناسایی آنها باید از تکنیک‌های جدید و مبتنی بر DNA بهره گرفت. بدلیل عدم وجود تکنیک‌های تشخیصی مناسب جهت شناسایی دقیق این سویه‌ها، تمایز آنها از میکروفلور غیر بیماریزای مدفوع و در نتیجه عدم توجه کافی به آنها و از طرفی ایجاد اسهال خونی بویژه در طیف سنی کودکان،

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 5:33 IRST on Wednesday November 22nd 2017

شناسایی آنها در موارد اسهال باکتریایی در جهت درمان بموقع و مناسب حایز اهمیت می‌باشد(۱و۵).

از آنجایی که در کشور ما داده‌های چندانی در مورد این سویه‌ها وجود ندارد، مطالعه حاضر با هدف بررسی فراوانی این سویه‌ها در اسهال کودکان زیر ۵ سال مراجعه کننده به بیمارستان علی اصغر(ع) و مرکز طبی کودکان شهر تهران انجام گرفت.

در مطالعه حاضر فراوانی سویه‌های EIEC در اسهال کودکان ۲/۳٪ مشاهده شد. تمامی این سویه‌ها از کوکان یک سال و زیر یک سال جدا شدند که به دلیل ماهیت تهاجمی این سویه‌ها در این طیف سنی حساس و آسیب پذیر، می‌تواند نگران کننده باشد. در یک مطالعه قبلی توسط جواد زاده و همکاران (۷۸-۱۳۷۷) شیوع EIEC در اسهال کودکان زیر ٦ سال در شهر زاهدان ۱۳٪ گزارش گردید(۱۳). این اختلاف در فراوانی سویه‌ها می‌تواند در نتیجه اختلاف در مکان و زمان مطالعه باشد که پس از گذشت۱۰سال و احتمالا با رعایت بیشتر اصول بهداشتی، کاهش قابل توجهی در شیوع این سویه‌ها مشاهده می‌شود. علاوه بر این، تفاوت‌های مذکور می‌تواند تا حدی ناشی از تکنیک‌های تشخیصی مورد استفاده نیز باشد. با این حال هنوز این سویه‌ها بایستی در کشور ما به عنوان عامل ایجاد اسهال مدنظر قرار گیرند. در برخی از کشورهای درحال توسعه وحتی توسعه یافته که اسهال بویژه در کودکان به عنوان یک مشکل رایج بهداشتی تلقی می‌شود، تست‌های تشخیصی سویه‌های EIEC در کنار سایر عوامل باکتریایی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

در مطالعه Ji-Rong Yang در تایوان (۲۰۰۷)، شیوع EIEC در اسهال کودکان۲۰٪ گزارش شد(۱۱). در مقابل، Katia R.S Aranda و همکاران (۲۰۰٤) در یک مطالعه در برزیل، تنها در ۱/۳٪ موارد اسهال کودکان، EIEC را با تکنیک PCR شناسایی کردند(۲).

Bui Thi Thu Hien و همکاران در ویتنام در ۰/۸ ٪ موارد اسهال کودکان زیر ۵ سال، EIEC را نشان دادند(۱۲). تفاوت در گزارش سویه‌هایEIEC در مطالعات مختلف، حاکی از توزیع جغرافیایی متنوع این سویه‌ها در زمان‌ها و مکان‌های مختلف می‌باشد. آنچه از نتایج مطالعات در سرتاسر جهان استنتاج می‌شود این است که سویه‌هایEIEC در ایجاد اسهال کودکان نقش داشته و لازم است تا در کنار سایر عوامل باکتریایی، تست‌های تشخیصی دقیق برای آنها طراحی و به کار گرفته شود.

## نتیجه گیری

با توجه به ماهیت بیماریزای سویه‌های اشریشیاکلی مهاجم (EIEC) و اهمیت آنها در ایجاد اسهال خونی در کودکان بایستی برای شناسایی دقیق و تمییز آنها از فلور طبیعی روده از تکنیک‌های نوین مولکولی مبتنی بر مارکرهای ژنتیکی بهره گرفت، چرا که به علت شباهت این سویه‌ها در بسیاری از خصوصیات با سویه‌های کومنسال اشریشیاکلی(E.coli) و نیز عدم وجود تست‌های تشخیصی مناسب در آزمایشگاه ها، این سویه‌ها اغلب از نظر دور می‌مانند. جداسازی این سویه‌ها در این مطالعه حاکی از نقش آنها به عنوان یکی از عوامل باکتریایی در ایجاد اسهال بویژه در کودکان زیر یک سال در کشور ما می‌باشد.

## تشکر و قدردانی

مجریان طرح لازم می‌دانند تا بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی‌دانشگاه علوم پزشکی تهران که هزینه‌های طرح را فراهم نمودند صمیمانه سپاسگزاری و قدردانی شود. ضمناً این مقاله نتیجه بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد ۷۷٤۹ مورخ ۱۳۸۷/۱۱/۱۰ می‌باشد.

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 5:33 IRST on Wednesday November 22nd 2017

# منابع

1. Vanessa B, Marcelo Palma S, Carla Romano T, Maurilio FS, Marcia Regina F, Marina Baquerizo M, Suzana Ramos F. Diarrheagenic Escherichia coli from children with and without diarrhea in Salvador, Bahia, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2007 Nov; 102(7): 839-44.

2. Katia RS A and Sandra H. Single multiplex assay to identify simultaneously enteropathogenic, enteroaggregative, enterotoxigenic, enteroinvasive and Shiga toxin producing Escherichia coli strains in Brazilian children . FEMS Microbiol Lett 2007; 267(6): 145–150.

3.Teng LJ, Hsueh PR, Liaw SJ, Ho SW, Tsai JC. Genetic detection of diarrheagenic Escherichia coli isolated from children with sporadic diarrhea. J Microbiol Immunol Infect 2004; 37(28): 327–334.

4.Regua-Mangia AH, Gomes TA, Vieira MA, Andrade JR, Irino K, Teixeira LM. Frequency and characteristics of diarrhoeagenic Escherichia coli strains isolated from children with and without diarrhoea in Rio de Janeiro, Brazil. J Infect 2004; 48(12): 161–167.

5. Nataro JP, and Kaper JB. Diarrheagenic Escherichia coli. Clin. Microbiol Rev 1998; 58(11): 142–201.

6. Sethabutr O, Venkatesan M, Murphy GS, Eampokalap B, Hoge CW, and Echeverria P. Detection of Shigella and enteroinvasive Escherichia coli by amplification of the invasion plasmid antigen H DNA sequence in patients with dysentery. J Infect Dis 1993 Feb; 167(2): 458-61.

7.Torres ME, Pirez MC, Schelotto F, Varlea G, Parodi V, Allende F, Falconi E, Dell'Acqua L, Gaione P, Mendez MV, Ferrari AM, Montano A, Zanetta E, Acuna AM, Chiparelli H, Ingold E. Etiology of children's diarrhea in Montevideo, Uruguay: associated pathogens and unusual isolates. J Clin Microbiol 2001; 39(14): 2134–2139.

8. Okeke IN, Lamikanra A, Steinruck H, Kaper JB. Characterization of Escherichia coli strains from cases of childhood diarrhea in provincial southwestern Nigeria. J Clin Microbiol 2000; 38(19): 7–12.

9. Maurizio F, Bianca C, Gianni P, Gioacchino M and Claudio O.G. Thermoregulation of Shigella and Escherichia coli EIEC pathogenicity. A temperature-dependent structural transition of DNA modulates accessibility of virF promoter to transcriptional repressor H-NS .The EMBO Journal 1998; 17(23): 7033–7043.

10. Olesen B, Neimann J, Bottiger B, Ethelberg S, Schiellerup P, Jensen C, et al. Etiology of diarrhea in young children in Denmark: a case-control study. J Clin Microbiol 2005; 43(8): 3636–41.

11. Ji-Rong Y, Fang-Tzy W, Jin-Lai T, Jung-Jung M, Ling-Fen L, Kuang-Lo C, Steve Hsu-Sung K, Chuen-Sheue C and Ho-Sheng W. Comparison between O Serotyping Method and Multiplex Real-Time PCR To Identify Diarrheagenic Escherichia coli in Taiwan. Journal of Clinical Microbiology 2007 November; 459(11): 3620-3625.

12. Bui Thi Thu H, Flemming S, Phung Dac C, Oralak S, Tran Thu H, Tran Minh T, and Anders D. Characterization of diarrheagenic Escherichia coli and Shigella strains isolated from children in a hospital case-control study in Hanoi, Vietnam. J Clin Microbiol 2008 Mar; 46(3): 996-1004.

13. Javadzadeh M, Dabiri S, Zangiabadi M. Role of Shigella, Enteroinvasive Escherichia coli (EIEC) and Entamoeba Histolytica in causing dysentry in children and antibiotic sensitivity testing. Journal of Mazandaran University of Medical Scienses 2003; 39(13): 29-35.

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 5:33 IRST on Wednesday November 22nd 2017

# Isolation of enteroinvasive Escherichia coli (EIEC) from diarrhea in children by polymerase chain reaction (PCR) technique

**Akbari A[1] (BSc.) - Pourmand MR[2] (Ph.D.) - Sharifi Yazdi MK[3] (Ph.D.) - Hosseini M[4] (Ph.D.) - Soltan Dallal MM[5]* (Ph.D.)**

1 Division of Microbiology, Pathobiology Department, School of Public Health and Institute of Public Health Research, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran
2 Division of Microbiology, Pathobiology Department, School of Public Health and Institute of Public Health Research, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran
3 Medical Laboratory Sciences Department, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4 Epidemiology and Biostatics Department, School of Public Health and Institute of Public Health Research, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran
5 Division of Microbiology, Pathobiology Department, School of Public Health and Institute of Public Health Research, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran

## Abstract

**Received : Jul 2009**
**Accepted : Jan 2010**

**Background and Aim:** Enteroinvasive Escherichia coli (EIEC) strains include a group of diarrheagenic Escherichia coli (DEC) and are known to cause shigellosis-like symptoms in both adults and children. They belong to a limited number of serotypes and their somatic (O) antigens are identical with, or related to, certain Shigella antigens. EIEC strains are confirmed by demonstration of invasiveness by polymerase chain reaction (PCR) for detection of the ipaH (invasive plasmid antigen H) gene that is specific for these strains among DEC.Since in our country,Iran study for detection of these strains. hasnot been carried out therefore the aim of this study was detection of EIEC in diarrheal under 5 year old children in Tehran.

**Materials and Methods:** During the descriptive study,300stool samples were collected from children with diarrhea in Ali Asghar Hospital and children medicinal center of Tehran during 4 months (April-Jul 2008). E.coli species were isolated by standard bacteriological and biochemical tests. Presence of invasive plasmid antigen H (ipaH) gene in confirmed colonies was investigated by PCR technique.

**Results:** Among 300 stool specimens studied using culture method and biochemical tests,39(13%) E.coli species were isolated. Among these 39 strains,7(2.3%) strains containing ipaH gene (EIEC) were detected by PCR technique.

**Discussion and Conclusion:** Enteroinvasive Escherichia coli (EIEC) in our country, Iran, may be as bacterial pathogen causing childhood diarrhea. Therefore we should apply new techniques for investigation of these strains.

*** Corresponding author : Soltan Dallal MM ;**
**e -mail : Soltanirad34@ yahoo. com**

**Key words:** Enteroinvasive Escherichia coli(EIEC), Diarrhea, Children, Polymerase Chain Reaction(PCR)