مجله دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران (پیاورد سلامت)
دوره ۱۱ شماره ۶ بهمن و اسفند ۱۳۹۶، ۷۲۲-۷۱۵

مقاله پژوهشی

# بررسی فراوانی اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک از نمونه های اسهال کودکان زیر ۵ سال ناشی از طغیان های غذایی کشوری با روش مولکولی PCR

راشین بهمن آبادی[۱]، دکتر محمد باقر خلیلی[۲]، دکتر محمد مهدی سلطان دلال[۳]

دریافت مقاله : تیر ۱۳۹۶
پذیرش مقاله : آذر ۱۳۹۶

*نویسنده مسئول :
دکتر محمدمهدی سلطان دلال؛
مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی تهران

Email :
soltanda@tums.ac.ir

## چکیده

**زمینه و هدف:** باکتری اشریشیاکلی انتروپاتوژن(EPEC; Enteropathigenic E.coli) از خانواده ی انتروباکتریاسه و به عنوان یک عامل مهم گاستروانتریت و اسهال به ویژه در کودکان کشورهای در حال توسعه و نیز توسعه نیافته می باشد. این پاتوتایپ می تواند در کودکان زیر ۵ سال سبب بیماری شدید و یا حتی مرگ شود. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک از نمونه های اسهال کشوری ناشی از طغیان های غذایی در کودکان زیر ۵ سال با روش مولکولی PCR است.

**روش بررسی:** در یک مطالعه ی توصیفی مقطعی، ٤٥ نمونه طغیان کشوری مربوط به کودکانی که مبتلا به اسهال شده بودند، به بخش میکروب شناسی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران ارسال شد. باکتری اشریشیاکلی با استفاده از روش استاندارد و تست های بیوشیمیایی شناسایی شد. برای تشخیص اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک وجود ژن eae با استفاده از روش PCR و تست سرولوژی با استفاده از آنتی سرم اختصاصی و چنددودمانی(شرکت مست انگلستان) به روش آگلوتیناسیون بر روی لام انجام شد.

**یافته ها:** از ٤٥ نمونه طغیان، ۲۸ جدایه اشریشیاکلی شناسایی شدند که از بین آنها ۱ جدایه(۳/٦٪) به عنوان اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک شناسایی شد. این جدایه دارای ژن eae بود. بر اساس واکنش سرولوژیکی آنتی ژن های سوماتیک(O) و فلاژلی(H)، سروتایپ اشریشیاکلی انتروپاتوژن جدا شده O119B14 بود.

**نتیجه گیری:** نتایج ما نشان می دهد که جداسازی اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک از نمونه های اسهال کودکان ناشی از طغیان های غذایی می تواند از توجه و اهمیت خاصی برخوردار باشد.

**واژه های کلیدی:** اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک، کودکان، اسهال، طغیان غذایی

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی پزشکی، پردیس بین الملل، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

[۲] دانشیار گروه میکروب شناسی پزشکی، پردیس بین الملل، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

[۳] استاد گروه میکروب شناسی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

[ Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2025-04-10 ]

## مقدمه

بیماری های منتقل شده از غذا از مهمترین مشکلات سلامت عمومی به شمار می روند و همه ساله موجب ابتلا و مرگ و میر تعداد قابل توجهی از مردم می شوند. همچنین طغیان های غذایی یا(Outbreak) را اینگونه تعریف می کنند: اگر دو نفر یا بیشتر از یک منبع غذایی یا آشامیدنی مشترک استفاده کرده و علایم بیماری مشترکی داشته باشند یک طغیان غذایی رخ داده که با علایمی نظیر اسهال، کرامپ شکمی و تهوع و استفراغ همراه است(۱).

اسهال و دیگر اختلالات مربوط به دستگاه گوارش از علل مهم بیماری و مرگ به ویژه در میان نوزادان و کودکان خردسال است(۱). در میان کودکان زیر پنج سال، اشریشیاکلی های اسهال زا (Diarrheagenic *Ecoli*, DEC) مانند اشریشیاکلی انتروتوکسیژنیک (enterotoxigenic *E. coli*, ETEC)، اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک (enterohemorrhagic *E. coli*, EPEC)، اشریشیاکلی اگرگیتیو (enteroaggregative *E.coli* EAEC)، اشریشیاکلی انتروهموراژیک (enterohemorrhagic E.*coli*, EHEC) و اشریشیاکلی انتروایونویزیو (EIEC, enteroinvasive *E. coli*) مهم ترین پاتوژنهای روده ای و مسئول ۳۰ تا ٤۰ درصد از تمام اسهال در کشورهای در حال توسعه هستند(۳و۲).

اشریشیاکلی هایی که باعث اسهال می شوند معمولا در سراسر جهان دیده می شوند. این اشریشیاکلی ها بر اساس خصوصیات بیماری زایی خود طبقه بندی می شوند و هر گروه ازطریق مکانیسم متفاوتی بیماری ایجاد می کند. خصوصیت چسبندگی به سلولهای اپیتلیال روده ی کوچک و بزرگ در آنها از طریق ژنهایی که روی پلاسمید قرار دارند، کد می شود. همچنین ژن توکسین ها نیز اغلب روی پلاسمید یا فاژ قرار دارند(۵و٤).

سالهاست که اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک به عنوان یک مسئله بغرنج در حوزه ی کودکان دارای اسهال به ویژه کودکان زیر ۱۲ ماه در کشورهای در حال توسعه شناخته می شود. اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک در میان مهمترین پاتوژنهای عفونت کودکان در جهان قرار دارد که به خاطر شیوع بالای آن در جامعه و کادر بیمارستان یکی از عوامل عمده ی اسهال پایدار است. اگرچه شیوع های بزرگ از اسهال دوران کودکی در اثر اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک به طور گسترده در کشورهای صنعتی از میان رفته، اما اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک به عنوان عامل مهم اسهال و مرگ نوزادان(۲ میلیون مرگ سالانه ) در کشورهای در حال توسعه باقی مانده است، که اغلب با بیماری طولانی مدت با خطر سوء تغذیه همراه است. سروتیپ های بخصوصی از این نوع اشریشیاکلی باعث اسهال در موسسات نگهداری کودکان می باشد، که در کودکان سنین بالاتر و بالغان نادر است. این تفاوت احتمالا به علت ایمنی محافظت کننده از عفونت های مکرر و یا مربوط به گیرنده های سلول میزبان می باشد(۸-٦).

مطالعات انجام شده در برزیل، مکزیک، افریقای جنوبی و ایران نشان داده است که ٤۰-۳۰٪ اسهال نوزادان می تواند در اثر اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک باشد(۱۲-۹). این گونه ها یکی از عوامل مهم ایجاد بیماری در شیوع بیمارستانی، درمانگاهها و بیماران مراجعه کننده به بیمارستان در مناطق شهری و روستایی هستند. اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک یکی از علل عمده ی اسهال اندمیک بوده که به وسیله ی شیوع بیماریهای فصلی تشدید می شود. خوشبختانه اسهال ناشی از اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک معمولا خود به خود محدود شونده است و آبرسانی درمان موثر است و بطور کلی استفاده از آنتی بیوتیکها کمتر اهمیت دارد. دوره ی اسهال ایجاد شده توسط EPEC می تواند محدود باشد و اسهال های مزمن را نیز می توان با درمان آنتی بیوتیکی ریشه کن کرد(۱۳و۷).

هدف از این پژوهش بررسی فراوانی اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک از نمونه های طغیان کشوری کودکان زیر ۵ سال با روش مولکولی PCR بوده است.

## روش بررسی

### - نمونه های بالینی

این مطالعه با توجه به اهمیت اشریشیاکلی انتروپاتوژن در کودکان زیر ۵ سال، طی سال ۱۳۹٤ بر روی ٤۵ طغیان غذایی کشوری که توسط مراکز بهداشت استان ها از کودکانی که دچار طغیان های ناشی از آب و مواد غذایی شده اند انجام گرفت. از این تعداد طغیان، ٦۸ نمونه اسهال کودکان مبتلا به عفونت یا مسمومیت غذایی، با علایم بالینی نظیر اسهال، استفراغ، تهوع، کرامپ های شکمی، تب و سر درد وجود داشت. نمونه ها به آزمایشگاه مرجع مرکز مدیریت بیماری های وزارت بهداشت واقع در بخش میکروب شناسی غذایی

[ Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2025-04-10 ]

دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران جهت تشخیص و تایید وقوع طغیان منتقل و بررسی شد. تمامی نمونه ها از نظر وجود باکتری اشریشیاکلی انتروپاتوژن از نظر کشت میکروبی، بررسی مولکولی و آنتی بیوگرام مطالعه شدند.

**- جداسازی و شناسایی**

برای جداسازی باکتری اشریشیاکلی، نمونه های مدفوع در محیط هکتون انتریک آگار کشت داده شد و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه نگهداری شد. سپس با استفاده از یک گالری افتراقی و تست های بیوشیمیایی از جمله اوره، سیمون سیترات، لیزین، TSI، MRVP, SIM (Merck ،Germany) و تست سرولوژی با استفاده از آنتی سرم اختصاصی و چنددودمانی(Mast, UK) به روش آگلوتیناسیون برروی لام انجام شد(۱٤).

**- آنتی بیوگرام**

برای انجام این تست ابتدا ۳-۱ پرگنه را وارد محیط (Heart Infusion Broth. Difco, USA) نموده و سپس این محیط در دمای ۳۷C° به مدت ۲٤ ساعت اینکوبه گردید. آنگاه استفاده از یک محیط جدید Heart Infusion Broth کدورت محیط را با توجه به نیم مک فارلند تعیین کرده سپس توسط سوآب استریل بر روی محیط مولر هینتون آگار به طوری که تمام سطح محیط را پوشش دهد کشت داده شد. سپس از دیسک های آنتی بیوتیک های مختلف طبق دستورالعمل CLSI از کمپانی(Mast, UK) استفاده شد. دیسک های استفاده شده عبارتند از: سفپیم(۳۰ µg)، جنتامایسین (۱۰ µg)، نیتروفورانتوئین(۳۰۰ µg)، سیپروفلوکساسین(۱۵ µg)، ایمی پنم(۱۰mcg)، آموکسی سیلین-کلاولانیک(۱۰µg+۲۰)، آمپی سیلین (۱۰ µg)، تری متوپریم- سولفومتوکسازول(۷۵ µg/۲۳+۱/۲۵) برای تفسیر قطر هاله ی عدم رشد از جداول CLSI استفاده گردید(۱۵).

**- ذخیره سازی و نگهداری ایزوله ها**

جهت استفاده از ایزوله های جمع آوری شده در مراحل بعدی، ایزوله ها در محیط تریپتیک سوی براث(TSB) حاوی ۱۵ درصد گلیسرول کشت ذخیره داده شده و در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

**- PCR**

جهت انجام PCR ابتدا DNA با استفاده از روش جوشاندن استخراج شد. به این ترتیب که یک کلنی از کشت شبانه(Overnight) باکتری در ۲۰۰ µl از آب مقطر استریل سوسپانسیون شده و به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار داده شد. سپس ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفوژ شده و سپس ۱۰۰ µl از مایع رویی حاوی DNA به آرامی به لوله استریل دیگر منتقل شد. DNA استخراج شده داخل میکروتیوپ ۰/۵ در دمای۲۰- فریزر نگهداری شد. برنامه ی PCR همچنین پرایمرهای مورد نیاز در واکنش، در جداول ۱ و۲ ذکر شده است. همچنین از سویه ی P : *Escherichia Coli ATTC* 7852 به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید و از واکنش PCR بدون اضافه نمودن DNA به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

سپس ۱۰ میکرولیتر از محصول آن به همراه ۳ میکرولیتر رنگ لودینگ(شرکت سیناژن) بر روی ژل آگارز ۱٪(SinaClon) با ولتاژ ۸۰ ولت و زمان حدود ۱ساعت و ۳۰ دقیقه الکتروفورز گردید. سپس ژل با رنگ اتیدیوم(۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) به مدت ۱۰ دقیقه رنگ آمیزی و به مدت ۲۰ دقیقه رنگبری شد. در پایان توسط دستگاه Gel documentation از ژل عکس تهیه شد. توالی پرایمر مورد استفاده به صورت زیر است(۱٦). در ابتدا اختصاصیت پرایمرها با Blast کردن آنها در سایت NCBI تایید و سپس سفارش ساخت پرایمر به شرکت تکاپوزیست(شرکت سازنده پرایمر BIONEER کره) فرستاده شد.

**جدول ۱: برنامه ی مورد استفاده برای تکثیر ژن eae در واکنش PCR**

| برنامه | نوع عملیات | درجه حرارت | زمان | تعداد سیکل برنامه |
|---|---|---|---|---|
| ۱ | Primary Denaturation | ۹٤ | ۵ دقیقه | ۱ |
| ۲ | Denaturation | ۹۳ | ٤۰ ثانیه | ۳۰ |
| ۳ | Annealing | ۵۳ | ٤۰ ثانیه | ۳۰ |
| ٤ | Extension | ۷۲ | ٤۰ ثانیه | ۳۰ |
| ۵ | Final Extension | ۷۲ | ۵ دقیقه | ۱ |

[ Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2025-04-10 ]

جدول ۲: توالی جفت پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر ژن eae

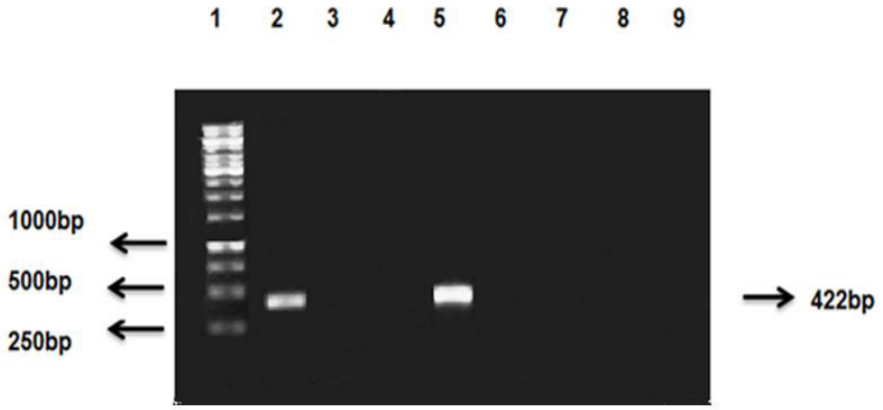
| ژن | توالی | طول قطعه (bp) | رفرنس |
|---|---|---|---|
| eae | F : 5'ACACTCCGATTCCTCTGGTG3'<br>R : 3'CTTGCACATAAGCAGGCAAA5' | 422 | (۱۶) |

## یافته ها

در این مطالعه از ۶۸ نمونه اسهال گرفته شده از کودکان زیر ۵ سال طغیان های کشوری، ۲۸ مورد(۴۱/۲٪) باکتری اشریشیاکلی با استفاده از تست های بیوشیمیایی جدا شد. با بررسی ژن eae، ۱ جدایه(۳/۶٪) اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک شناسایی شد، که نتایج حاصل از PCR ژن eae در شکل ۱ نشان داده شده است. بر اساس واکنش سرولوژیکی آنتی ژن های سوماتیک(O) و فلاژلی(H)، سروتایپ اشریشیاکلی انتروپاتوژن جدا شده O119B14 بود. این جدایه EPEC از یک پسر ۳ ساله و مربوط به شهرستان سقز در استان کردستان بود، که دارای اسهال غیر خونی، تهوع، استفراغ، کرامپ شکمی بود و فاقد تب و سردرد و بی اشتهایی و از آب آلوده استفاده کرده بود.

جدول ۳ توزیع فراوانی نمونه های طغیان کشوری است که از استان های مختلف به دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران ارسال شد.

برای یک جدایه اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک آزمایش انتشار از دیسک برای آنتی بیوتیک های آموکسی سیلین – کلاولانیک، آمپی‌سیلین، جنتامایسین، تری‌متوپریم–سولفومتوکسازول، سیپروفلوکساسین، سفپیم، نیتروفورانتوئین، ایمی پنم صورت گرفت، که این جدایه به جنتامایسین، سفپیم، ایمی پنم، نیتروفورانتوئین حساس و به سیپروفلوکساسین نیمه حساس و به آموکسی سیلین – کلاولانیک، آمپی سیلین، تری متوپریم–سولفامتوکسازول مقاوم بود.




شکل ۱: PCR ژن eae

ستون ۱: مارکر ۱kb، ستون ۲: سویه کنترل مثبت، ستون ۵: ایزوله مثبت، ستون ۳ و ۴ و ۶ و ۷ و ۸: ایزوله منفی، ستون ۹: سویه کنترل منفی

جدول ۳: توزیع فراوانی نمونه های طغیان کشوری بر حسب استان های ارسال کننده ی نمونه

| استانها | تعداد نمونه(درصد) | موارد مثبت اشریشیاکلی(درصد) | موارد مثبت اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک |
|---|---|---|---|
| یزد | ۱۸ (۴۰٪) | ۱۴ (۵۰٪) | – |
| تهران | ۵ (۱۱/۱٪) | ۲ (۷/۱٪) | – |
| زنجان | ۵ (۱۱/۱٪) | ۲ (۷/۱٪) | – |
| مازندران | ۴ (۸/۹٪) | ۲ (۷/۱٪) | – |

[ Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2025-04-10 ]

| | | | |
|---|---|---|---|
| کرج | ۳ (٪۶/۷) | ۲ (٪۷/۱) | – |
| قزوین | ۳ (٪۶/۷) | ۱ (٪۳/۶) | – |
| سمنان | ۳ (٪۶/۷) | ۱ (٪۳/۶) | – |
| کردستان | ۲ (٪۴/۴) | ۲ (٪۷/۱) | ۱ |
| همدان | ۱ (٪۲/۲) | ۱ (٪۳/۶) | – |
| هرمزگان | ۱ (٪۲/۲) | ۱ (٪۳/۶) | – |
| جمع کل | ۴۵ | ۲۸ | ۱ |

## بحث

بررسی های انجام شده توسط محققان مختلف نشان می دهد که بیماری اسهالی عفونی به طور وسیعی در سراسر جهان شیوع دارد و یکی از علل عمده ی مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه به خصوص در کودکان است که منجر به حدود ۲/۵- ۱/۶ میلیون مرگ سالانه در کودکان می شود(۱۲و۱). این بیماری در بزرگسالان و نوجوانان به ندرت رخ می دهد؛ احتمالا دلیل این امر آن است که این افراد دارای ایمنی محافظت کننده ی بیشتری می باشند(۱۷).

یافته های پژوهش حاضر نشان داد که از ۲۸ جدایه اشریشیا کلی، ۳/۶٪ متعلق به اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک بودند. در مطالعات انجام شده بر روی اتیولوژی اسهال حاد در ایران، اشریشیاکلی به عنوان شایعترین پاتوژن ایجادکننده ی اسهال گزارش شد. بین پاتوتایپ های مختلف اشریشیاکلی، پاتوتایپ اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک شایعترین پاتوتایپ گزارش شده در همه ی مطالعات بود(۱۸و۱۲). شریفی یزدی و همکاران، از ۳۰۰ نمونه اسهال مورد مطالعه، ۳۹ نمونه توسط تست های بیوشیمیایی به عنوان اشریشیاکلی شناسایی کردند. در میان پاتوتایپ های مورد مطالعه، شاخص ترین پاتوتایپ EPEC با ۵۵/۶ درصد بود(۱۹). شاید بتوان علت پایین جداسازی اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک در این مطالعه را ناشی از ارسال نمونه ها به صورت سواب، انتقال آنها از شهرستان ها و بعد مسافت و زمان دانست. همچنین عدم ارسال نمونه های اسهال از بیمارستان ها می تواند یکی دیگر از دلایل ضعف جداسازی باشد.

در یک مطالعه که در سال ۲۰۰۳ در نروژ توسط Afset و همکاران انجام شد ۵۹۸ نمونه از ۴۴۰ کودک زیر ۲ سال به دست آمد که ۴۴ نفر(٪۷/۳۵) دارای EPEC بودند(۲۰). Franzolin و همکاران در سال ۲۰۰۵ شیوع اشریشیاکلی های عامل اسهال را در برزیل بررسی کرده و شیوع اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک را ۱۰/۱ درصد گزارش کرد(۲۱). در مطالعه ی دیگری توسط Blanco و همکاران در سال ۲۰۰۶ در اسپانیا از ۲۰۱۵ بیمار ۱۱۰ EPEC(٪۵/۴۵) جدا شد(۲۲). در مطالعه ی سلطان دلال در سال ۲۰۰۱ میزان جداسازی اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک ٪۶/۸ گزارش شد(۲۳). یافته های این مطالعه با نتایج Afset و همکاران در نروژ و Blanco و همکاران در اسپانیا و سلطان دلال همخوانی دارد.

افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های پاتوژن به ویژه در کودکان به عنوان یکی از مشکلات بهداشت جهانی محسوب می شود. از این میان مقاومت آنتی بیوتیکی اشریشیاکلی انتروپاتوژن(EPEC) به علت شیوع زیادی که در کودکان زیر ۵ سال دارد، حایز اهمیت می باشد(۱۲و۷).

در مطالعه ی کلانتر و همکاران در سال ۲۰۱۱ بیشترین میزان مقاومت مربوط به آنتی بیوتیک های تتراساکلین ٪۸۹/۹، کلرامفنیکل ٪۸۸/۹، آمپی سیلین ٪۷۹ و سفکسیم ٪۷۵ بود(۲۴). در مطالعه ای که در مصر توسط Behiry و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام شد، ۴ ایزوله ی EPEC شناسایی شد که ۵۷ درصد به آمپی سیلین، تیکارسیلین و کوتریموکسازول مقاوم بودند و ۱۴/۳ درصد نسبت به سفالوسپورین های نسل سوم مقاوم بودند(۱۳).

در بررسی حاضر الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی برای سویه EPEC جدا شده از کودک مبتلا به اسهال انجام و نشان داده شد که به آموکسی سیلین – کلاولانیک و آمپی سیلین کاملا مقاوم و به جنتامایسین، نیتروفورانتوئین، ایمی پنم حساس می باشد.

## نتیجه گیری

اگرچه در نتایج به دست آمده میزان شناسایی اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک کمتر از نتایج دیگران بود، ولی این مطالعه برای اولین مرتبه در طغیان های غذایی انجام شده و قطعا با نتایج اسهال های

[ Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2025-04-10 ]

اسپورادیک مراجعه کننده یا بستری در بیمارستان ها متفاوت خواهد بود. با این همه به علت اهمیت این پاتوتایپ اشریشیاکلی در کودکان می باید در برنامه نظارت بیماریهای اسهالی در نظر گرفته شود. به دلیل استفاده ی گسترده از آنتی بیوتیک ها و شیوه های ضعیف نسخه دهی، افزایش مقاومت در برابر آنتی بیوتیک های متداول برای درمان عفونت های روده ای در کشورهای مختلف به خصوص ایران و کشورهای جهان سوم گزارش شده است، اگرچه اکثر اسهال های ناشی از EPEC بدون درمان دارویی توصیه می گردد. پیشنهاد می شود که مطالعه ی گسترده تری از طغیان های غذایی کشوری جهت وضعیت اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک و همچنین سایر پاتوتایپ های اشریشیاکلی های اسهال زا و همچنین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آن ها انجام شود.

## تشکر و قدردانی

این مقاله، نتیجه ی بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد ۳٤۲۹۹ می باشد. بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران که از نظر مالی حامی این طرح تحقیقاتی بوده‌اند، کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

## منابع

1. Liu L, Johnson HL, Cousens S, Perin J, Scott S, Lawn JE, et al. Global, regional, and national causes of child mortality: An updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000. Lancet 2012; 379(9832): 2151-61.

2. Nataro JP & Kaper JB. Diarrheagenic Escherichia coli. Clinical Microbiology Reviews 1998; 11(1): 142-201.

3. Clarke SC. Diarrhoeagenic Escherichia coli-an emerging problem? Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2001; 41(3): 93-8.

4. Kaper JB, Nataro JP & Mobley HL. Pathogenic Escherichia coli. Nature Reviews Microbiology 2004; 2(2): 123-40.

5. Clarke SC, Haigh RD, Freestone PP & Williams PH. Virulence of enteropathogenic Escherichia coli, a global pathogen. Clinical Microbiology Reviews 2003; 16(3): 365-78.

6. Jafari F, Shokrzadeh L, Hamidian M, Salmanzadeh-Ahrabi S & Zali MR. Acute diarrhea due to enteropathogenic bacteria in patients at hospitals in Tehran. Japanese Journal of Infectious Diseases 2008; 61(4): 269-73.

7. O'Ryan M, Prado V & Pickering LK. A millennium update on pediatric diarrheal illness in the developing world. Seminars in Pediatric Infectious Diseases 2005; 16(2): 125-36.

8. Chen HD & Frankel G. Enteropathogenic Escherichia coli: unravelling pathogenesis. FEMS Microbiology Reviews 2005; 29(1): 83-98.

9. Vieira MA, Dos Santos LF, Dias RC, Camargo CH, Pinheiro SR, Gomes TA, et al. Atypical enteropathogenic Escherichia coli as etiologic agents of sporadic and outbreak-associated diarrhea in Brazil. Journal of Medical Microbiology 2016; 65(9): 998-1006.

10. Mathewson JJ, Oberhelman RA, Dupont HL, Javier de la Cabada F & Garibay EV. Enteroadherent Escherichia coli as a cause of diarrhea among children in Mexico. Journal of Clinical Microbiology 1987; 25(10): 1917-9.

11. Adefisoye MA & Okoh AI. Identification and antimicrobial resistance prevalence of pathogenic Escherichia coli strains from treated wastewater effluents in Eastern Cape, South Africa. Microbiology Open 2016; 5(1): 143-51.

12. Soltan Dallal MM, Khorramizadeh MR & MoezArdalan K. Occurrence of enteropathogenic bacteria in children under 5 years with diarrhoea in south Tehran. Eastern Mediterranean Health Journal 2006; 12(6): 792-7.

13. Behiry IK, Abada EA, Ahmed EA & Labeeb RS. Enteropathogenic Escherichia coli associated with diarrhea in children in Cairo, Egypt. Scientific World Journal 2011; 11(1): 2613-9.

[ Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2025-04-10 ]

14. Forbes B & Sahm D. Bailey & Scotts' diagnostic microbiology. Available at: https://www.elsevier.com/books/bailey-and-scotts-diagnostic-microbiology/forbes/978-0-8089-2364-0. 2007.

15. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobials testing; Twenty-third informational supplement. Available at: https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html? 2011.

16. Najibi S, Bakhshi B, Fallahzad S, Pourshafie M, Katouli M, Sattari M, et al. Distribution of class 1 integrons among enteropathogenic Escherichia coli. Canadian Journal of Microbiology 2012; 58(5): 637-43.

17. Humphries RM, Waterhouse CC, Mulvey G, Beck P & Armstrong GD. Interactions of enteropathogenic Escherichia coli with pediatric and adult intestinal biopsy specimens during early adherence. Infection and Immunity 2009; 77(10): 4463-8.

18. Alikhani MY, Mirsalehian A, Fatollahzadeh B, Pourshafie MR & Aslani MM. Prevalence of enteropathogenic and shiga toxin-producing Escherichia coli among children with and without diarrhoea in Iran. The Journal of Health, Population and Nutrition 2007; 25(1): 88-93.

19. Sharifi Yazdi MK, Akbari A & Soltan Dallal MM. Multiplex polymerase chain reaction (PCR) assay for simultaneous detection of shiga-like toxin (stx 1 and stx 2). Intimin (eae) and invasive plasmid antigen H (ipaH) genes in diarrheagenic Escherichia coli. African Journal of Biotechnology 2011; 10(9): 1522-6.

20. Afset JE, Bergh K & Bevanger L. High prevalence of atypical enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) in Norwegian children with diarrhea. Journal of Medical Microbiology 2003; 52(11): 1015-9.

21. Franzolin MR, Alves RC, Keller R, Gomes TA, Beutin L, Barreto ML, et al. Prevalence of diarrheagenic Escherichia coli in children with diarrhea in Salvador, Bahia, Brazil. The Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 2005; 100(4): 359-63.

22. Blanco M, Blanco JE, Dahbi G, Alonso MP, Mora A, Coira MA, et al. Identification of two new intimin types in atypical enteropathogenic Escherichia coli. International Microbiology 2006; 9(2): 103-10.

23. Soltan Dallal MM. Diarrehea caused by Enteropathogenic bacteria in children. Archives of Iranian Medicine 2001; 4(4): 201-3.

24. Kalantar E, Soheili F, Salimi H & Soltan Dallal MM. Frequency, antimicrobial susceptibility and plasmid profiles of Escherichia coli pathotypes obtained from children with acute diarrhea. Jundishapur Journal of Microbiology 2011; 4(1): 23-28.

[ Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2025-04-10 ]

# The Study of Enteropathogenic Escherichia Coli Prevalence by PCR Method in Under-5-Year-Old Children's Diarrheal Samples Caused by the Country's Food

**Bahmanabadi Rashin[1] (B.S.) - Khalili Mohammad Bagher[2] (Ph.D.) - Soltan Dallal Mohammad Mehdi[3] (Ph.D.)**

1 Master of Sciences Student in Microbiology, Medical Microbiology Department, International Campus, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

2 Associate Professor, Medical Microbiology Department, International Campus, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

3 Professor, Food Microbiology Department, School of Public Health, Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

## Abstract

**Received: Jun 2017**
**Accepted: Nov 2017**

**Background and Aim:** Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) pathotypes belong to Enterobacteriaceae family that is known as the cause of gastroenteritis and diarrhea in under-5-year-old children. These bacteria have high prevalence in developed and developing countries that may cause severe illness or even death. The aim of this study was to examine EPEC prevalence in diarrheal samples of children under 5 years -- caused by the country's food -- by PCR method.

**Materials and Methods:** In a cross-sectional study, 45diarrheal samples of children suffering from country food outbreaks were transferred to the Department of Microbiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences (TUMS). E. coli strain was identified using standard methods and biochemical tests. For the detection of Enteropathogenic E. coli, the presence of eae gene was checked by PCR method, and serologic test using specific antiserum (Mast company, England) was checked by agglutination method on slide.

**Results:** Of the 45 outbreaks, 28 Escherichia coli were identified, among which 1 isolate (3.6%) was identified as E. coli EPEC. This isolate contained eae gene. Based on the serological response of somatic antigen (O) and flagella (H), the isolated Escherichia coli serotype was EPEC O119B14.

**Conclusion:** Although the prevalence of EPEC E. coli in children's diarrheal samples from food outbreaks is low, the presence of these isolates is important and should be considered.

**Keywords:** Enteropathogenic Escherichia coli, Children, Diarrhea, Food Outbreak

*** Corresponding Author:**
**Soltan Dallal MM**
**Email:**
**soltanda@tums.ac.ir**

[ Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2025-04-10 ]