

بررسی شیوع منابع آلودگی سویه‌های انتروهموراژیک/شریشیالکی و میزان مقاومت آن‌ها در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها در بین کودکان زیر ۵ سال شهرستان مرودشت

محمد کارگر^۱، مریم همایون^۲

^۱ استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم

^۲ کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم

چکیده

سابقه و هدف: سویه‌های انتروهموراژیک/شریشیالکی یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌های روده‌ای ایجاد کننده بیماری‌های منتقل شونده به وسیله مواد غذایی در انسان محسوب می‌شوند. هدف از این پژوهش، ارزیابی شیوع اسهال ناشی از این باکتری و بررسی منابع آلودگی و میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جداسازی شده از کودکان زیر ۵ سال در شهرستان مرودشت بود.

روش بررسی: در این پژوهش توصیفی نمونه مدفوع کودکان زیر ۵ سال شهرستان مرودشت طی یک سال (۱۳۸۵-۱۳۸۶) جمع‌آوری و پس از غنی‌سازی در محیط کشت‌های اختصاصی و ارزیابی تخمیر سوربیتول و فعالیت بتاگلوکورونیدازی (تست MUG)، با کمک آنتی‌سرم اختصاصی، سویه‌های انتروهموراژیک O157:H7 تعیین هویت گردید. ژن‌های بیماری‌زای وروتوکسین، اینتیمین و همولیزین با استفاده از روش Multiplex PCR و مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها با روش دیسک دیفیوژن مورد ارزیابی قرار گرفت. آلودگی احتمالی تمامی کودکان با آب، مواد غذایی و تماس با حیوانات نیز بررسی شد.

یافته‌ها: از ۶۱۵ نمونه مورد بررسی، ۸۹ کلنی سوربیتول منفی جداسازی گردید که ۷ سویه O157 (۱/۱۴ درصد) با آنتی‌سرم اختصاصی تأیید شد. تنها در یکی از سویه‌های جدا شده، ژن‌های *stx1* و *eaeA* (۰/۱۶ درصد) مشاهده گردید. تمامی باکتری‌های جداسازی شده به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین و اریترومیسین مقاومت داشتند. بین جداسازی سویه‌های انتروهموراژیک/شریشیالکی و فصول مختلف سال ارتباط معنی‌داری وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: پایش بیمارستانی به منظور برآورد شیوع سویه‌های انتروهموراژیک در مراکز درمانی در تمامی کودکان زیر ۵ سال مبتلا به گاستروانتریت حاد و ارزیابی اتیولوژیکی و ژنوتایپینگ باکتری در سایر مناطق کشور پیشنهاد می‌گردد.

واژگان کلیدی: اشریشیالکی انتروهموراژیک، ژن‌های بیماری‌زا، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، منابع آلودگی.

مقدمه

اشریشیا کلی یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد کننده گاستروانتریت به ویژه در کودکان است. *E. coli* O157:H7

مهم‌ترین سروتایپ سویه‌های انتروهموراژیک/شریشیالکی (EHEC) است که در ایجاد بیماری‌های منتقل شونده به وسیله مواد غذایی نقش دارد. پس از اولین گزارش توسط Riely و همکارانش در سال ۱۹۸۳، موارد تک‌گیری و همه‌گیری‌های بسیاری از سویه‌های EHEC گزارش گردید. اولین بار این ارگانیسم در ایالات متحده شناسایی شد. اما موارد مهمی از همه‌گیری‌های ناشی از این باکتری در سطح

آدرس نویسنده مسئول: جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، دکتر محمد کارگر

(email: mKaragarmicro418@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۸۷/۸/۱۹

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۴/۳۰

فنوتیپی *E. coli* O157:H7 از سویه‌های دیگر کمک می‌کند. بر همین اساس می‌توان از محیط‌های سوربیتول مک‌کانکی آگار و کروم‌آگار اختصاصی O157 جهت شناسایی باکتری استفاده نمود (۱).

اگر چه در ایران مطالعات خوبی در مورد شناسایی عوامل ایجاد کننده اسهال در کودکان انجام شده است، اما تاکنون در ارتباط با اسهال ناشی از سویه‌های EHEC به ویژه در مورد سروتیپ اشریشیاکلی O157 مطالعه جامعی انجام نشده است. با توجه به دوز عفونی بسیار اندک این باکتری (کمتر از ۱۰۰ ارگانیسم) در مقایسه با سایر پاتوژن‌های روده‌ای به ویژه سالمونلا و شیگلا و مقاومت آن در برابر اکثر آنتی بیوتیک‌ها، ضرورت شناسایی منابع آلودگی و چگونگی انتقال آن به انسان وجود دارد. هدف از این پژوهش، ارزیابی شیوع و مقاومت آنتی‌بیوتیکی و بررسی ژن‌های بیماری‌زای سویه انتروهموراژیک و همچنین علائم بالینی مربوط به آن در کودکان زیر ۵ سال شهرستان مرودشت بود.

مواد و روش‌ها

تعداد ۶۱۵ نمونه از کودکان زیر ۵ سال بستری در بخش اطفال بیمارستان شهید مطهری و کودکان سرپایی مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های کلینیکی شهرستان مرودشت طی یک سال به صورت توصیفی از مهر ماه سال ۱۳۸۵ تا مهر ماه سال ۱۳۸۶ جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها به فاصله چند ساعت پس از جمع‌آوری مورد بررسی قرار گرفتند. مشخصات مربوط به هر بیمار، علائم کلینیکی، داروهای مصرفی و منابع آلودگی احتمالی شامل نوع تغذیه، منبع آب مصرفی و تماس با حیوانات نیز به همراه نمونه آن‌ها جمع‌آوری و در فرم مربوطه ثبت شد. غنی‌سازی نمونه‌ها بر روی محیط‌های تریپتیکاز سوی براث (TSB) شرکت Difco و اشریشیا کلی براث (ECB) شرکت Oxoid واجد ۲۰ mg/l نوویوسین (sigma) و جداسازی بر روی محیط سوربیتول مک‌کانکی آگار (SMAC) شرکت Lab.M حاوی ۰/۰۵ میلی گرم در لیتر سفیکسیم شرکت (Oxoid) و ۲/۵ میلی گرم در لیتر تلوریت پتاسیم شرکت (Oxoid) در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت انجام گردید. برای ارزیابی تخمیر لاکتوز و تعیین هویت باکتری‌های جداسازی شده از محیط‌های ویولت رد بایل آگار (VRBA) شرکت Merck و اتوزین متیلن بلو آگار (EMB) شرکت Merck استفاده گردید. همچنین به منظور بررسی فعالیت بتاگلوکوروניدازی، باکتری‌های تأیید شده به عنوان

جهان مشاهده شده است (۳-۱). میزان موارد تأیید شده آلودگی با باکتری *E. coli* O157:H7 در سال ۲۰۰۷ در اسکاتلند ۹ مورد و در سال ۲۰۰۸ در ویرجینیای آمریکا ۲۵ مورد بود. همچنین در ۴۰ همه‌گیری (۲۱ مورد در میشیگان و ۱۹ مورد در اوهایو) در سال ۲۰۰۸ آلودگی با باکتری *E. coli* O157:H7 تأیید شد (۴). بر خلاف شیوع کمتر بیماری‌های اسهالی در کشورهای توسعه یافته، همچنان اسهال‌های باکتریایی یکی از مهم‌ترین بیماری‌های عفونی کشورهای در حال توسعه به شمار می‌آیند.

دامنه علائم بالینی آلودگی با این سویه وسیع است و اغلب تشخیص را دشوار می‌سازد. این باکتری می‌تواند ایجاد آلودگی بدون علامت، اسهال، اسهال خونی، کولیت هموراژیک (HC)، سندرم اورمی همولیتیک (HUS)، ترومبوتیک ترومبوسیتوپنی پورپورا (TTP) و مرگ کند. معمولاً در ابتدا بیماری به صورت اسهال غیرخونی است و سپس دردهای شکمی ایجاد می‌شود. در برخی از بیماران تب کوتاه مدت هم دیده می‌شود. بیماری در نیمی از افراد در طی دوره اسهال بدون خون، با استفراغ و حالت تهوع همراه است. در مدت ۱ تا ۲ روز اسهال خونی می‌شود و دردهای شکمی افزایش می‌یابد. این مرحله معمولاً بین ۴ تا ۱۰ روز طول می‌کشد. در موارد شدید نمونه مدفوع به صورت کاملاً خونی درمی‌آید و دوره اسهال طولانی‌تر است. HUS معمول‌ترین علت نقص کلیوی در کودکان است که در حدود ۱۵ درصد موارد آلودگی با *EHEC* O157:H7 اتفاق می‌افتد و تقریباً یک هفته پس از اسهال شروع می‌شود. این باکتری از طریق ترشح توکسین‌های شیگا (STX) ایجاد HUS می‌کند (۷-۵).

آلودگی‌های سویه‌های انتروهموراژیک به ویژه سروتیپ *E. coli* O157:H7 اغلب به واسطه مصرف همبرگر، گوشت چرخ کرده، شیر خام و دیگر محصولات گاوی می‌باشد. بنابراین گاوسانان به عنوان مخازن اولیه باکتری در نظر گرفته می‌شوند. البته این باکتری را می‌توان از برخی حیوانات دیگر هم جداسازی نمود. حشرات نیز در نتیجه ارتباطی که با کود و مدفوع حیوانات دارند باعث انتشار این باکتری در محیط می‌شوند. با توجه به امکان انتقال *E. coli* O157:H7 توسط حشرات به ویژه در فصل تابستان، حشرات نقش مهمی را در اکولوژی و انتقال این پاتوژن در ماه‌های تابستان دارند. در تمامی افراد احتمال آلودگی با این باکتری وجود دارد، اما کودکان و افراد مسن مستعدتر هستند (۸، ۹، ۳).

از ویژگی‌های متمایز کننده *E. coli* O157:H7 از دیگر سویه‌های انتروهموراژیک *E. coli*، عدم تخمیر سریع سوربیتول و عدم توانایی تولید بتاگلوکوروניداز است که به جداسازی

اشریشیالکی بر روی محیط کروموآگار اختصاصی O157 کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند و تأیید نهایی کلنی‌های سوربیتول منفی بتاگلوکوروניداز منفی با استفاده از تست آگلوتیناسیون با آنتی‌سرم اختصاصی O157 (بهار افشان) انجام شد (۱۱،۷،۱۰). مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جداسازی شده، با روش استاندارد دیسک دیفیوژن (Kirby-bauer) بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (Merck) با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی پنی سیلین (۱۰ میکروگرم)، تتراسیکلین (۳۰ میکروگرم)، آمپی سیلین (۱۰ میکروگرم)، تری متوپریم-سولفامتوکسازول (۲۵ میکروگرم)، کانامایسین (۳۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، سفالکسین (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم) و اریترومایسین (۱۵ میکروگرم) انجام گردید (۶).

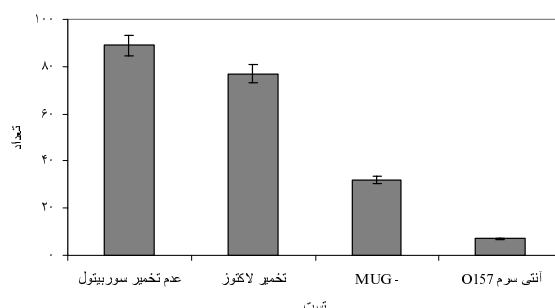
در نهایت برای ردیابی همزمان ژن‌های بیماری‌زا از روش Multiplex PCR استفاده شد. در این مرحله استخراج DNA با استفاده از کیت DNPTM (شرکت سیناژن) انجام گردید و Multiplex PCR با استفاده از پرایمرهای معرفی شده توسط Santaniello در سال ۲۰۰۷ در شرایط حرارت ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۳ دقیقه (واشرشت ابتدایی)، حرارت ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۲۰ ثانیه (Denaturation)، حرارت ۵۸ درجه سانتی‌گراد ۴۰ ثانیه (Annealing)، حرارت ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۹۰ ثانیه (Extension) و حرارت ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۵ دقیقه (گسترش نهایی) انجام شد (۱۲،۱). تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 13 و آزمون کای‌دو، آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون دقیق فیشر انجام شد. مرز معنی‌دار روی $p < 0.05$ قرار داده شد.

یافته‌ها

تعداد ۶۱۵ نمونه مدفوع از کودکان زیر ۵ سال در شهرستان مرودشت مورد مطالعه قرار گرفت. در مجموع ۲۷۸ نمونه (۴۵/۲۰ درصد) مربوط به دختران و ۳۳۷ (۵۴/۸۰ درصد) نمونه مربوط به پسران بود. از این تعداد، ۴ نمونه آلوده با این باکتری (۰/۶۵ درصد) مربوط به پسران و ۳ نمونه (۰/۴۹ درصد) مربوط به دختران بود. آزمون کای‌دو نشان داد که بین جنسیت و ایجاد بیماری رابطه معنی‌داری وجود ندارد (NS). از ۷ سویه انتروهموراژیک/شریشیالکی جدا شده، ۶ مورد مربوط به بیماران سرپایی (۸۵/۷۱ درصد) و ۱ مورد مربوط به بیماران بستری در بیمارستان (۱۴/۲۹ درصد) بود. آزمون دقیق فیشر

مشخص کرد که بین سرپایی بودن و بستری بودن بیماران و جداسازی باکتری ارتباط معنی‌داری وجود ندارد (NS). تمام سویه‌های *E. coli* O157:H7 از کودکان زیر ۲ سال با میانگین سنی ۱۱/۷ ماه جداسازی شد و بیشترین میزان شیوع باکتری (۰/۴۹ درصد) در گروه سنی ۱۸ تا ۲۳ ماه مشاهده گردید. اختلاف معنی‌داری بین جداسازی باکتری از گروه سنی ۱۸ تا ۲۳ ماه با سایر گروه‌های سنی مشاهده شد ($p = 0.004$). با وجود تفاوت در تعداد افراد مورد پژوهش در فصول مختلف سال، اختلاف معنی‌داری بین باکتری‌های جدا شده در فصول مختلف نمونه‌گیری مشاهده نشد. در ۴ نفر از بیماران (۵۷/۱۴ درصد) اسهال، در ۲ نفر (۲۸/۵۷ درصد) استفراغ و در ۱ نفر (۱۴/۲۹ درصد) تب گزارش شد. در بررسی میکروسکوپی مدفوع بیماران، در ۶ نمونه (۸۵/۷۱ درصد) از ۷ نمونه مثبت pus cell مشاهده گردید. مدت زمان شروع اسهال در دو کودک ۳ روز، در یک کودک ۲ روز و در یک کودک هم ۷ روز بود. ۳ بیمار نیز در زمان نمونه‌گیری اسهال نداشتند. با آزمون آنالیز واریانس مشخص شد که بین مدت زمان شروع اسهال و ایجاد بیماری رابطه معنی‌داری وجود ندارد (NS). منبع آب مصرفی تمام افراد آلوده با این سویه آب لوله‌کشی بود. همچنین تماس با ماکیان نیز در یک کودک آلوده (۱۴/۲۹ درصد) با این باکتری مشاهده گردید.

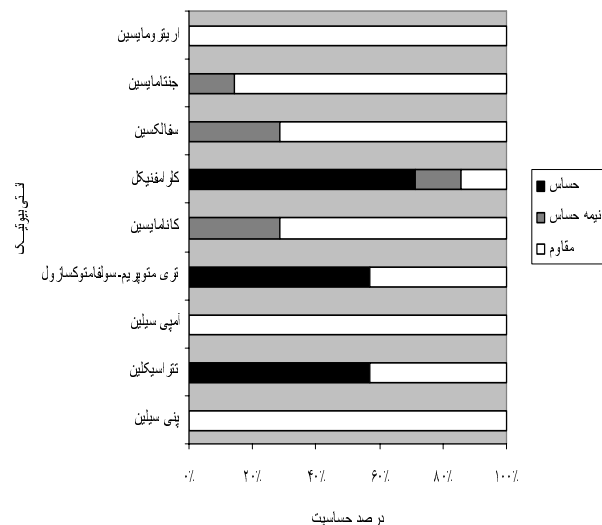
استفاده از دو محیط غنی‌کننده باکتری *E. coli* O157:H7 باعث افزایش تعداد کلنی‌های سوربیتول منفی از محیط CT-SMAC شد. از کل نمونه‌ها، ۸۹ نمونه (۱۴/۴۷ درصد) کلنی سوربیتول منفی در محیط CT-SMAC جداسازی گردید که پس از کشت بر روی محیط‌های اختصاصی و استفاده از آنتی‌سرم اختصاصی، در ۷ نمونه (۱/۱۴ درصد) باکتری *E. coli* O157:H7 تأیید شد (نمودار ۱).



نمودار ۱- توزیع فراوانی و نسبت باکتری‌های مشکوک به *E. coli* O157:H7 بر اساس تست‌های بیوشیمیایی و سرولوژی

نتایج PCR نشان دهنده وجود ژن‌های *stx1* و *eaeA* در یک سویه *E. coli* O157:H7 جداسازی شده از نمونه مدفوع کودکان مبتلا به اسهال بود (۱۶٪ درصد). ژن‌های *stx2* و *hly* در هیچ کدام از سویه‌های تأیید شده با آنتی‌سرم اختصاصی باکتری *E. coli* O157:H7 مشاهده نگردید.

نتایج حاصل از بررسی حساسیت ۷ سویه *E. coli* O157:H7 در برابر آنتی بیوتیک‌های مورد بررسی نشان دهنده مقاومت تمامی باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، اریترومايسين و آمپی‌سیلین بود (نمودار ۲).



نمودار ۲- الگوی حساسیت به آنتی بیوتیک‌ها در سویه‌های اشریشیاکلی O157:H7 جدا شده از کودکان مبتلا به گاستروانتریت حاد در مرودشت

بحث

بیماری‌های اسهالی در همه گروه‌های سنی و در تمام مناطق جغرافیایی جهان اتفاق می‌افتد. عوامل باکتریایی حدود ۲۴ درصد از اسهال‌ها را ایجاد می‌کنند و بیش از ۷۰ درصد مرگ و میر کودکان زیر ۵ سال در اثر بیماری‌های اسهالی اتفاق می‌افتد (۱۳). تعداد موارد گزارش شده اسهال خونی در سطح استان فارس و شهرستان مرودشت در سال ۱۳۸۵ به ترتیب ۲۰۶۴ و ۴۰ مورد و در سال ۱۳۸۶ به ترتیب ۱۳۴۴ و ۲۰ مورد بود. با توجه به موارد گزارش شده در شهرستان مرودشت این پرسش مطرح بود که آیا سویه O157:H7 باکتری اشریشیا کلی می‌تواند عامل ایجاد کننده اسهال خونی باشد؟

در بررسی نهایی و همکاران بر روی نمونه‌های مدفوع در تبریز بین سال‌های ۱۳۸۲ تا ۱۳۸۵ میزان جداسازی *E. coli* O157، ۶ مورد (۵۸٪ درصد) گزارش گردید. در پژوهش ما، باکتری

در اکثر مطالعات، بیشترین شیوع این سویه در فصل گرم سال گزارش شده است، در صورتی که ما باکتری را در تمام فصول سال جداسازی کردیم. تصور می‌شود که ممکن است شیوع فصلی در یک منطقه در طی سال‌های مختلف متفاوت باشد. اما به طور کلی این عفونت به عنوان بیماری تابستانی در نظر گرفته می‌شود. با این وجود در صورت پایش مستمر امکان قضاوت مناسب‌تری درباره فصل شیوع باکتری در منطقه مورد بررسی وجود خواهد داشت. این باکتری دارای مخازن بسیاری در بین حیوانات مختلف است و تماس با حیوانات یکی از مهم‌ترین راه‌های انتقال باکتری می‌باشد. اما در این پژوهش به نظر نمی‌رسد که افراد بیمار از طریق منابع حیوانی به طور مستقیم آلودگی را کسب کرده باشند. با توجه به بقای طولانی مدت باکتری در محیط، امکان انتقال غیرمستقیم و جا به جایی باکتری از طریق حشرات وجود دارد.

اصلائی و همکاران با بررسی‌های خود بر روی سویه‌های EHEC به این نتیجه رسیدند که کودکان زیر ۶ سال بالاترین میزان شیوع این سویه را به خود اختصاص می‌دهند. نتایج پژوهش این گروه در مازندران نشان دهنده بالاترین میزان جداسازی EHEC با فراوانی ۲/۵ درصد در کودکان زیر ۶ سال بود (۱۴). در پژوهش ما بیشترین فراوانی باکتری در کودکان ۱ تا ۲ سال بود که با نتایج به دست آمده در کلمبیا (۱۵) نیز مطابقت دارد. بین سال‌های ۲۰۰۴ تا ۲۰۰۵ در بنگلادش، ۹ مورد از باکتری *E. coli* O157:H7 از بیماران دارای اسهال آبکی جداسازی شد و ۷ بیمار (۷۸ درصد) استفراغ داشتند. در بنگلادش نیز همانند منطقه مورد بررسی در این پژوهش تمام سویه‌های شناسایی شده این باکتری از بیماران فاقد اسهال خونی جداسازی شد (۱۰). در بیماران آلوده با این باکتری علائم کلیوی و سندروم اورمی همولیتیک مشاهده نگردید که با توجه به تعداد کم نمونه‌های مثبت این منطقه و عدم پی‌گیری وضعیت بیماران پس از نمونه‌گیری قابل توجیه می‌باشد. زیرا علائم بیماری حدود یک هفته پس از شروع اسهال بروز می‌کند. بیماران با اسهال غیرخونی بیماری ملایم‌تری دارند و احتمال پیدایش HUS و مرگ در آن‌ها کمتر است. البته بروز HUS در موارد اسهال غیرخونی هم گزارش شده است (۵).

نتایج تحقیقات مختلف نشان داده که بین مصرف آنتی‌بیوتیک در کودکان آلوده با سویه‌های EHEC و گسترش HUS ارتباط وجود دارد. مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری، آزادسازی شینگاتوکسین را افزایش می‌دهد. ژن‌های شینگاتوکسین بر روی باکتریوفاژ قرار دارند و آنتی‌بیوتیک‌هایی که باعث رها شدن باکتریوفاژ می‌شوند، می‌توانند بیان شینگاتوکسین‌ها را افزایش دهند (۱۹). با توجه به این که مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها باعث تشدید علائم بالینی می‌شود، استفاده از این آنتی‌بیوتیک‌ها در موارد ثابت شده یا مشکوک می‌تواند آسیب‌های جدی در بیماران را به دنبال داشته باشد. به همین دلیل ضرورت توجه دقیق به مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در موارد شیوع گاستروانتریت حاد وجود دارد. نتایج این پژوهش نشان‌دهنده اهمیت پایش گسترده بیمارستانی، ارزیابی اتیولوژیکی و ژنوتایپینگ سویه‌های انتروهموراژیک اشریشیالکی در مناطق مختلف کشور است. هم‌چنین به دلیل مراحل طولانی تعیین هویت سویه O157:H7، ضرورت شناسایی و به کار گیری پروتکل‌های سریع تشخیصی وجود دارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از جناب آقای دکتر رامین یعقوبی و مهدی کارگر به دلیل حمایت‌های علمی و اجرایی اعلام می‌دارند.

باکتری‌های *E. coli* O157:H7 جداسازی شده از نمونه‌های کلینیکی، مواد غذایی و نمونه‌های حیوانی طی بررسی‌های گوناگون، مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالایی را از خود نشان داده‌اند. یکی از مسائلی که باعث افزایش اهمیت *E. coli* O157:H7 می‌شود، وجود مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این باکتری است. بررسی‌های مختلف بر روی سویه‌های جداسازی شده در همه‌گیری‌ها و موارد تک‌گیر در نقاط مختلف جهان نشان دهنده این مسأله است که این سویه به طیف گسترده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم است و یا حساسیت پایینی دارد (۱۶). در این پژوهش، تمامی سویه‌های جدا شده به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین و اریترومايسین مقاومت و به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسیکلین، تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول و کلرامفنیکل حساسیت داشتند. در پژوهش‌های Breuer در سال ۲۰۰۱ در آمریکا (۱۷)، Radu در سال ۲۰۰۱ در مالزی، Kim در سال ۲۰۰۵ در کره (۱)، Estrada در سال ۲۰۰۵ در مکزیک (۱۶)، کارگر در سال ۱۳۸۴ در چهارم (۱۸) و نهائی در سال ۱۳۸۶ در تبریز (۱۳) نیز مقاومت سویه‌های جدا شده به آمپی‌سیلین دیده شد. از طرفی مقاومت به کانامایسین نیز در سال ۱۹۹۶ در ژاپن (۱)، مقاومت به اریترومايسین در سال ۲۰۰۵ در کره (۱) و مقاومت به پنی‌سیلین در سال ۱۳۸۴ در چهارم (۱۸) گزارش گردیده است. در این پژوهش حساسیت به تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول با نتایج Galland در سال ۲۰۰۱ در آمریکا مطابقت دارد (۱).

REFERENCES

- Kim J, Kim S, Kwon N, Bae W, Lim J, Koo H, et al. Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 Using Different Detection Methods and Molecular Determination by Multiplex PCR and RAPD. J Vet Sci 2005; 6: 7-9.
- Osek J. Development of a multiplex PCR approach for the identification of shiga-toxin producing *Escherichia coli* strains and their major virulence factor genes. J Appl Microbiol 2003; 95: 1217-25.
- Wu G, Carter B, Mafura M, Liebana E, Woodward M, Anjum M. Genetic diversity among *Escherichia coli* O157:H7 isolates and identification of genes linked to human infections. Infect Immun 2008; 76: 845-56.
- Center for Disease Control (CDC). Multistate outbreak of *E. coli* O157 infection Michigan and Ohio. Available from: <http://www.cdc.gov/>
- Ake J, Jelacic S, Ciol MA, Watkins SL, Murray KF, Christic DL, et al. Relative Nephroprotection During *Escherichia coli* O157:H7 infections : association with intravenous volume expansion. Pediatrics 2005; 115: 673-80.
- Bidet P, Mariani-Kurkdjian P, Grimont F, Brahimi N, Courroux C, Grimont P, et al. Characterization of *Escherichia coli* O157:H7 isolates causing haemolytic uraemic syndrome in France. J Med Microbiol 2005; 54: 71-75.
- Rivas M, Caletti MG, Chines I, Refi SM, Roldan CD, Chillemi G, et al. Home-prepared hamburger and sporadic hemolytic uremic syndrome. Argentina Emerg Infect Dis 2003; 9: 1184-86.
- Alam MJ, Zurek L. Association of *Escherichia coli* O157:H7 with houseflies on a cattle farm. Appl Environ Microbiol 2004; 70: 7578-80.
- Searsc CL. Update on shiga-toxin producing *Escherichia coli* infections. Adv Stud Med 2003; 3: 259-64.
- Islam MA, Heuvelink AE, de Boer E, Sturm PD, Beumer RR, Zwietering MH, et al. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* isolated from patients with diarrhoea in Bangladesh. J Med Microbiol 2007; 56: 380-85.

11. Park CH, Kim HJ, Hixon DL. Importance of testing stool specimens for shiga toxin. J Clin Microbiol 2002; 40: 3542-43.
12. Santaniello A, Gargiulo A, Borrelli L, Dipineto L, Cuomo A, Sensale M, et al. Survey of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* in urban pigeons (*Columba Livia*) in the city of Napoli, Italy. Ital J Anim Sci 2007; 6: 313-16.
13. Nahaei MR, Akbari Dibavar M, Sadeghi J, S Nikvash. Frequency of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* isolated from patients with acute diarrhea in Tabriz hospitals. IJMM 2007; 3: 39-46. [In Persian]
14. 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: 345-49.
15. Mattar S, Vasquez E. *Escherichia coli* O157:H7 infection in Colombia. Emerg Infect Dis 1998; 4 : 126-27.
16. Estrada-Garcia T, Cerna JF, Paheco-Gil L, Velazquez RF, Ochoa TJ, Torres J, et al. Drug- resistant diarrheogenic *Escherichia coli*, Mexico. Emerg Infect Dis 2005; 11: 1306-308.
17. Breuer T, Benkel DH, Shapiro RL, Hall WN, Winnett MM, Linn MJ, et al. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections linked to Alfalfa sprouts grown from contaminated seeds. Emerg Infect Dis 2001; 7: 977-82.
18. Kargar M, Heidary S, Abbasian F, Shekarforoosh S. Survey of prevalence and antibiotic susceptibility and verotoxin production of *E.coli* verotoxigenic (*E.coli* O157:H7) in raw milk of Jahrom cows. Iranian Journal of Infectious diseases and Tropical Medicine 2006; 34: 7-11. [In Persian]
19. Wong CS, Jelacic S, Habeeb RL, Watkins SL, Tarr PI. The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 infections. N Engl J Med 2000; 342: 1930-36.