

بررسی فراوانی سوش‌های مختلف ای کولای، شیگلا و سالمونلا

در مبتلایان به اسهال حاد در تابستان ۱۳۸۲، همدان

دکتر امیر هوشنگ ممدعلیزاده^{*}، دکتر سیاوش سلمان‌زاده^ا، دکتر میترا رنجبر^ب، دکتر نگار بهروز^ج، دکتر ممدمسین عظیمیان^د، سعید اجمالیان^ه

دکتر طاهره دوروزی^و، دکتر ممد ربیع یگانه^ز، دکتر عباس پاوشی^ح، دکتر ممدرضا زالی^ط

چکیده

سابقه و هدف: اسهال‌های عفونی یکی از مشکلات مهم بهداشتی و دومین علت شایع مرگ در دنیا هستند. نظر به گزارش‌های متفاوت از اتیولوژی بیماری و احتمال تغییر الگوی میکروبی اسهال حاد و به منظور تعیین فراوانی ای کولای، شیگلا، سالمونلا در بیماران دچار اسهال حاد، این تحقیق بر روی مراجعین به مراکز بهداشتی - درمانی همدان در تابستان ۱۳۸۲ انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: نوع تحقیق توصیفی و اپیدمیولوژیک بود. در این مطالعه نمونه‌های گرفته شده با استفاده از محیط‌های انتقال کریبلر در کمتر از ۶ ساعت به آزمایشگاه مرکزی دایره بیماری‌های ناشی از غذا واقع در بیمارستان طالقانی تهران انتقال یافتند. کلیه نمونه‌ها از نظر وجود باکتری‌های شیگلا، سالمونلا و ای کولای مولد اسهال با استفاده از روش‌های مرسوم میکروبیولوژیک و ملکولی مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: در این طرح ۱۴۴ نمونه مدفوع مورد بررسی قرار گرفت. شیگلا از ۱۷ نمونه (۱۱/۸٪) و ای کولای از ۳۷ نمونه (۲۵/۷٪) جدا شد. سالمونلا از هیچ یک از نمونه‌ها جدا نشد. از ۱۷ نمونه شیگلا، ۱۰ نمونه شیگلا فلکسنری، ۳ نمونه شیگلا سونئی، ۲ نمونه شیگلا بوییدی و ۲ نمونه شیگلاهای بدون طبقه‌بندی بوده است. ۳۷ نمونه ای کولای جدا شده عبارت بودند از STEC ۱۵ نمونه، ETEC ۲۲ مورد، EAEC ۱۰ مورد، EPEC ۲ مورد. چهارده نفر از بیماران (۹/۷٪) مبتلا به ای کولای به دو یا چند عامل بیماری‌زا مبتلا بودند. در این افراد ۹ نفر به دو یا بیشتر از دو سوش ای کولای اسهال‌زا مبتلا بودند. چهار نمونه (۳٪) به طور همزمان به دو عامل ای کولای و شیگلا آلوده بودند و یک نمونه هم به ای کولای اسهال‌زا و شیگلا مبتلا بود. ارتباط معنی‌داری بین سن و عامل بیماری‌زا پیدا نشد.

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد که الگوی میکروبی اسهال‌های حاد در کشور نسبت به مطالعات قبلی تغییر کرده باشد. ای کولای‌های پاتوژن شایع هستند، به همین علت لازم است در مطالعات آینده در مورد نقش ای کولای و مشکلات و پیامدهای حاصل از اسهال‌های حاد به ویژه اسهال‌های ناشی از ای کولای بررسی‌های بیشتری انجام شود.

واژگان کلیدی: اسهال حاد، ای کولای، شیگلا، سالمونلا، همدان

مقدمه

اسهال‌های عفونی یکی از مشکلات مهم بهداشتی در سراسر جهان به شمار می‌روند و هر ساله باعث ابتلا و مرگ و میر زیاد مبتلایان در

کشورهای جهان سوم می‌شوند. اسهال عفونی علت اصلی مرگ دوران کودکی است (۱-۳). مطالعه همگروهی در انگلستان نشان داده

ت بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی. آدرس برای مکاتبه: تهران - اوین -

های کبد، کدپستی: ۱۷۸-۱۹۸۳۵، E-mail: article@rcgld.org

گاه علوم پزشکی شهید بهشتی

است که سالانه ۲۰ درصد جمعیت به عفونت‌های روده‌ای مبتلا و

زشکی شهید بهشتی منجر به زیان‌های اقتصادی عمده ناشی از هزینه‌های پزشکی مراقبت

آزمایشگاه، دانشگاه علوم پزشکی همدان

که‌های بهداشتی - درمانی - استان همدان

کرده بودند، نمونه‌گیری مدفوع در یک نوبت انجام شد و نمونه‌های گرفته شده با استفاده از محیط‌های انتقال کریبلر در کمتر از ۶ ساعت به آزمایشگاه مرکزی دایره بیماری‌های ناشی از غذای مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی واقع در بیمارستان طالقانی انتقال یافت.

کلیه نمونه‌ها از نظر وجود باکتری‌های شیگلا، سالمونلا و ای کولای مولد اسهال با استفاده از روش‌های مرسوم میکروبیولوژیک مورد شناسایی قرار گرفتند. نمونه‌های محیط انتقالی کریبلر جهت شناسایی پاتوژن‌های مربوطه به محیط‌های مک‌کانکی آگار، شیگلا و سالمونلا آگار و محیط Xylose Lysine دکربوکسیلاز، سوربیتول مک‌کانکی و بیسموت سولفیت‌آگار انتقال داده شدند. سپس به مدت ۲۴ ساعت در محیط ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند.

روش PCR نمونه کشت اولیه به عنوان روشی بسیار حساس در شناسایی ای کولای‌های پاتولوژیک در مدفوع ارزیابی شده است. در این تحقیق پس از کشت اولیه مدفوع DNA باکتری‌های به دست آمده از طریق جوشاندن استخراج شد. سپس به منظور شناسایی ۴ گروه ای کولای پاتوژن ETEC، EPEC، EAEC، STEC برای ردیابی ۶ ژن PCR شدند. این ژن‌ها عبارت بودند از:

LT and ST toxin producing genes, eae gene² and stx₁ stx₂, Plasmid ۴۳۲ PCVD

تفسیر شناسایی گونه‌های مختلف مولد اسهال به شرح ذیل بود:

- سوش‌های دارای هر یک از ژن‌های stx₁ و stx₂ یا بدون ژن eae به عنوان STEC
- سوش‌های دارای هر یک از ژن‌های تولید کننده سموم LT و ST و با هر دو به عنوان ETEC
- سوش‌های دارای ژن پلاسمیر ۴۳۲ PCVD به عنوان EAEC
- سوش‌های دارای ژن eae مشروط به این که ژن‌های stx₁ و stx₂ در آنها منفی گزارش شده باشد به عنوان EPEC.

داده‌های به دست آمده در فرم اطلاعاتی ثبت و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آمار توصیفی استفاده شد. شیوع هر یک از باکتری‌های مولد

از بیماران و غیبت از محل کار و مدرسه می‌شوند (۴).

با توجه به اختلاف جغرافیایی، اقلیمی، اقتصادی و اجتماعی و به منظور درمان صحیح و پیاده سازی نظام‌های پایش اپیدمیولوژیک، آگاهی از علل اسهال بسیار مهم است (۵). تاکنون مطالعات بسیاری صورت گرفته است که در آنها به توصیف یافته‌های بالینی و میکروبیولوژیک پرداخته‌اند. با گسترش روش‌های مبتنی بر تشخیص مولکولی توانایی ما در شناسایی پاتوژن‌های روده‌ای بالقوه در نمونه‌های مدفوع افزایش یافته است، به طوری که در سال‌های اخیر چندین عامل جدید به عنوان اتیولوژی اسهال شناسایی شده‌اند (۶). از مهمترین عوامل ایجاد اسهال، اشرشیاکولی اسهال‌زا، شیگلا و سالمونلا هستند.

حداقل ۵ گروه متفاوت از اشرشیاکولی شناخته شده است. این گروه‌ها عبارتند از انتروتوکسینیک (EPEC)، انتروهموراژیک (EHEC)، انترواگرگیتو (EAEC)، انتروتوپاتوژنیک (EPEC) و انتروانویزیو (EIEC).

تظاهر بالینی ETEC به صورت اسهال دوران کودکی و اسهال مسافران است. EHEC باعث ایجاد اسهال خونی و سندرم همولیتیک اورمیک می‌شود. ای کولای نوع انترواگرسیو معمولاً عامل ایجاد اسهال حاد و مداوم در کودکان و بزرگسالان در کشورهای صنعتی و پیشرفته اروپا، آمریکا، آسیا و آفریقا است (۷ و ۸). شیگلا یکی از مهمترین عوامل اسهال‌های باکتریایی در ایران و دیگر کشورهای در حال توسعه شناخته شده است (۳ و ۹ و ۱۰). سالمونلا در کشورهای توسعه یافته جزو شایع‌ترین علل اسهال‌های باکتریایی است (۱۰). بر خلاف کشورهای توسعه یافته در مطالعه انجام شده در ایران (ورامین) این ارگانیزم رتبه چهارم را در ایجاد اسهال‌های حاد داشته است. مطالعاتی که همزمان بر روی ای کولای، شیگلا و سالمونلا خصوصاً در زمینه مولکولی و اپیدمیولوژی انجام شده باشد، اندک است. بر این اساس مطالعه زیر جهت تعیین فراوانی ای کولای مولد اسهال، سالمونلا و شیگلا با استفاده از روش‌های تشخیصی رایج و روش‌های مولکولی روی بیماران مبتلا به اسهال حاد مراجعه کننده به مراکز درمانی - بهداشتی شهرستان همدان در تابستان ۱۳۸۲ انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

نوع تحقیق توصیفی و اپیدمیولوژیک بود. در این مطالعه از تمامی بیمارانی که با اسهال حاد به مراکز بهداشتی - درمانی همدان مراجعه

چهار نمونه (۲/۸٪) همزمان آلوده به دو عامل مولد اسهال ای کولای و شیگلا بودند و یک نمونه هم به دو سوش ای کولای مولد اسهال و شیگلا آلوده بود. الگوی فراوانی ۱۷ نمونه شیگلای جدا شده عبارت بود از ۱۰ نمونه شیگلا فلکسنری، ۳ نمونه شیگلا سونئی، ۲ نمونه شیگلا بویدی و ۲ نمونه بدون طبقه‌بندی. از ۳۷ نمونه مبتلا به ای کولای تعداد ۴۹ سوش ای کولای یافت شد زیرا در ۹ نمونه، آلودگی به دو یا بیشتر از دو سوش ای کولای مولد اسهال وجود داشت. انواع سوش‌های ای کولای در نمودار ۱ ارزیابی شده است که شایع‌ترین نوع ETEC در ۲۲ نمونه (۱۵/۳٪) سپس سوش STEC در ۱۵ نمونه (۱۰/۵٪) است.

نمودار ۱- توزیع ۱۴۴ نفر مبتلا به اسهال ماد بر حسب سوش‌های

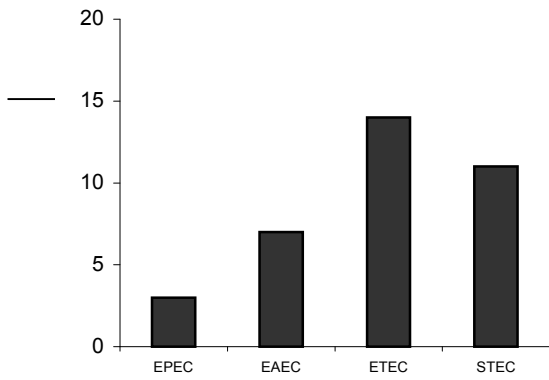
مبتلایان، اثر کولای توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت تشخیص افتراقی ای کولای اسهال زا

مراجع پرایمرها	اندازه آمپلیکون (bp)	توالی پرایمر (5-3) برای پی بردن به ارتباط بین سن و میزان آلودگی به عوامل میکروبی، بیماران به دو دسته ۵ سال و کمتر و بالای ۵ سال تقسیم شدند. ارتباطی معنی‌داری بین سن و عامل بیماریزا پیدا نشد. چنین
(۱۳)	۸۹۴	CAGTTAATGTGGTGGCGAAG CTGCTAATAGTTCTGCGCATC
(۱۳)	۴۷۸	CTTCGGTATCCTATTCCCGG GGATGCATCTCTGGTCATTG
(۱۴)	۶۲۹	TGCGGCACAACAGGCGGCGA CGGTCGCCGCACCAGGATTG

اسهال در جامعه محاسبه شد. همچنین برای بررسی ارتباط بین گروه‌های سنی و عامل بیماریزا از آزمون مجذور کای استفاده گردید.

یافته‌ها

در این طرح ۱۴۴ نمونه واجد شرایط مورد مطالعه قرار گرفت که متعلق به ۸۷ نفر (۶۰٪) مرد و ۵۷ نفر (۴۰٪) زن بود (نسبت مرد به زن برابر ۱/۵ به ۱). میانگین سنی بیماران ۲۰/۲ سال و کمترین سن ۵ ماه و بیشترین سن ۹۰ سال بوده است. شیگلا از ۱۷ نمونه (۱۱/۸٪) و باکتری ای کولای از ۳۷ نفر (۲۵/۷٪) نمونه جدا گردید. از هیچ نمونه‌ای سالمونلا جدا نشد.



مقایسه‌ای برای سوش‌های مختلف ای کولای اسهال را انجام شد که در این مقایسه هم اختلاف معناداری یافت نشد.

بحث

اسهال یکی از مسایل عمده بهداشتی در کشورهای جهان است. در ایران نیز این بیماری مشکل عمده بهداشتی بوده است که در طی سال‌های گذشته از شدت آنها کاسته شده است. تحقیق نشان داد که ۱۱/۸ درصد شیگلا در مبتلایان به اسهال حاد وجود داشته است که در مقایسه با سایر مطالعات انجام شده در ایران که آلودگی به شیگلا را ۱۶/۸ درصد نشان داده است، کاهش مشخصی را نشان می‌دهد. شیگلا یک پاتوژن مهم در کشورهای پیشرفته و یکی از عوامل مهم اسهال حاد در ایران خصوصاً در کودکان است (۹ و ۱۰). شیگلا یکی از مهمترین عوامل اسهال‌های باکتریایی در ایران و دیگر کشورهای در حال توسعه شناخته شده است (۳ و ۱۰). اگر چه یافته‌های این بررسی مقدار بالاتری را نسبت به کشورهای پیشرفته نشان می‌دهد اما شیوع این ارگانیزم در ایران در مقایسه با پاکستان و کویت که حدود ۲۷-۱۴ درصد (به طور متوسط ۱۹٪) است، در حد میانه قرار دارد (۱۱ و ۱۲). سوش‌های غالب شیگلا در این مطالعه، شیگلا فلکسنری بوده است که این یافته با مطالعات قبلی انجام شده در ایران و سایر کشورهای پیشرفته دنیا مطابقت دارد (۱۳-۱۱). شیگلا عامل غالب در ایجاد اسهال در بسیاری از کشورها است. به طور مثال، در آمریکا در سال ۱۹۹۶، ۵۷ درصد اسهال‌های شیگلایی در کودکان کمتر از ۴ سال و ۷۴ درصد در کودکان زیر ۱۴ سال اتفاق افتاده است (۱۴).

ارتباط خاصی بین این ارگانیزم و سن بیماران مشاهده نشد که البته این امر احتمالاً می‌تواند به علت کم بودن تعداد شیگلای جدا شده باشد و با این تعداد محدود نمی‌توان به درستی در مورد ارتباط سن و این عامل اظهار نظر کرد.

تحقیق نشان داد که ای کولای مولد اسهال در ۲۵/۷ درصد مبتلایان به اسهال حاد وجود داشته است. ای کولای بیشترین فراوانی را در

ایجاد اسهال‌های حاد خصوصاً در کودکان ایرانی دارد. در بسیاری از مطالعات انجام شده به روش کنترل و سروتایپینگ نقش این ارگانیزم در ایجاد اسهال در کودکان ثابت شده است (۱۵ و ۱۶). در این مطالعه اختلاف معناداری در بین گروه‌های سنی از نظر ابتلا به این عامل میکروبی مشاهده نشد. این مطلب می‌تواند نشان دهنده نقش مهم این ارگانیزم در اسهال حاد در تمامی سنین باشد. اکثر تحقیقاتی که در ایران درباره این میکروارگانیزم صورت گرفته با استفاده از سرولوژی بوده است و این ارگانیزم را پاتوژن غالب گزارش کرده‌اند (۱۵ و ۱۶). شیوع این ارگانیزم در کشورهای در حال توسعه بیشتر است (۱۳ و ۱۷).

در مطالعه حاضر در مقایسه‌ای که بین گروه زیر ۵ سال و بین گروه‌های مختلف برحسب خانواده‌های مختلف ای کولای‌های پاتوژن انجام شد اختلافی مشاهده نشد که این امر می‌تواند نشانه‌ای از نقش بالقوه این پاتوژن در ابتلای سایر گروه‌های سنی باشد که نیازمند بررسی‌های بیشتری است (۱۵، ۱۶ و ۱۸).

ETEC در ۲۲ نمونه (۱۵/۲٪) از اسهال‌ها یافت شده است و در طبقه‌بندی به عنوان اولین زیر گروه ای کولای از نظر میزان اهمیت شناخته شده است. این گروه با تولید دو نوع توکسین مقاوم به حرارت St و حساس به حرارت Lt بیماری‌زایی خود را اعمال می‌کند که البته مبنای تشخیص در این مطالعه ردیابی ژن‌های تولیدکننده این دو توکسین بود. میزان شناسایی این ارگانیزم در مطالعه حاضر با مطالعاتی که در تهران، بندرعباس و سنندج انجام شده بود مطابقت دارد که نقش مهم این ارگانیزم در اسهال‌های حاد در این مناطق را مسجل می‌کند (۱۵، ۱۶). در این مطالعات فراوانی ETEC بین ۱۷ و ۱۷ درصد ذکر شده که کمتر از مطالعات قبلی است (۱۵).

دومین ای کولای مولد اسهال از نظر شیوع STEC است که در این مطالعه ۱۰/۵ درصد از نمونه‌ها را شامل می‌شد. در دو مطالعه انجام شده در ایران شیوع این عامل در جمعیت عادی ۴/۹ درصد در استان مازندران و ۰/۷ درصد در گروه سنی زیر ۶ سال در استان ایلام بوده است (۱۹، ۲۰).

اطلاعات نشان می‌دهد که شیوع ETEC در این مناطق از ایران اختلاف معناداری در مقایسه با سایر کشورهای پیشرفته دارد. به عنوان مثال، در مطالعه‌ای که در قالب نظام پایش این میکروارگانیزم در فنلاند صورت گرفته است در طی دو سال از ۴۸۱ بیمار موفق به شناسایی ۸ مورد (۱/۷٪) شده‌اند و در مطالعه دیگری که در فرانسه و بر روی کودکان بستری شده در بیمارستان انجام گرفته است تقریباً

در ۳ درصد موارد، چه با اسهال و چه بدون اسهال، این باکتری شناسایی شده است (۱۲ و ۹).

با وجود اینکه ETEC عامل غالب در بین ای کولای های اسهال زا شناخته نشده است (۲۱) این بررسی نشان می‌دهد که در این منطقه ETEC نقش مهمی در ایجاد اسهال دارد. چون این ارگانسیم با ایجاد سندرم همولیتیک اورمیک (HUS) عامل مهمی در نارسایی کلیوی حاد در کودکان شناخته شده است (۲۲)، لازم است مطالعات بیشتری بر روی این ارگانسیم با استفاده از روش‌های مولکولی مثل PCR خصوصاً در کودکان انجام گیرد.

در این مطالعه EPEC با ۱/۴ درصد به عنوان چهارمین عامل ای کولای اسهال زا شناخته شد. در سایر مطالعات انجام شده در ایران، این ارگانسیم شایع‌ترین پاتوژن خانواده ای کولای بوده است (۱۶، ۱۵). اختلاف قابل توجهی بین یافته‌های این بررسی و مطالعات قبلی وجود دارد که می‌تواند ناشی از تفاوت الگوی مشاهده باشد.

EAEC گروه جدیدی است که اخیراً به سوش‌های مولد اسهال ای کولای اضافه شده است (۱۶، ۱۵ و ۲۳) این پاتوژن در ۱۰ بیمار (۷٪) مثبت بوده است که با سایر مطالعات انجام شده بر روی کودکان دچار اسهال حاد در کشورهای درحال توسعه مانند تایلند و برزیل که مقادیری معادل ۱۱ و ۱۲ درصد را نشان می‌دهند مطابقت دارد (۲۴ و ۲۵). شیوع این ارگانسیم در کشورهای پیشرفته پایین‌تر است، به طوری که در مطالعه‌ای فراوانی آن ۲ درصد در کودکان دچار اسهال حاد بوده است (۲۶). شیوع ۷ درصدی این پاتوژن در مطالعه کنونی از وضعیت بینابینی این منطقه در مورد این میکروارگانسیم حکایت می‌کند. در این مطالعه ارتباط معناداری بین سن و عوامل

بیماری‌زا یافت نشد. در بیشتر مطالعات نقش ای کولای مولد اسهال در ایجاد اسهال در کودکان شناخته شده است ولی به نظر می‌رسد که به نقش این عامل در ایجاد اسهال در سایر گروه‌های سنی توجهی نشده است. شاید این عدم توجه به علت پایین بودن احتمال خطر مرگ و میر و بیمارگونگی در این گروه سنی باشد. در این مطالعه عامل ای کولای مولد اسهال در هیچ گروه سنی خاصی به صورت مشخص بالاتر از سایر گروه‌های سنی دیده نشد که می‌تواند علت آن کم بودن نمونه‌های موجود باشد.

شیوع ای کولای های پاتوژن بالاست، لذا با توجه به هزینه‌های نسبتاً سنگین تشخیص سرولوژیک این پاتوژن توصیه می‌شود که آزمایشگاه‌های کشور به روش‌های تشخیصی مولکولی این پاتوژن مجهز شوند.

اکثر مطالعات انجام شده در ایران به صورت کوتاه مدت و با استفاده از روش‌های کلاسیک انجام شده است. در تحقیق حاضر عوامل باکتریایی مهم ایجاد کننده اسهال حاد مورد بررسی قرار گرفته است. متأسفانه گروهی از باکتری‌ها مانند کامپیلوباکتر ویرسینیا در این مطالعه پوشش داده نشد که این مسأله می‌تواند در مطالعات بعدی مدنظر باشد.

با توجه به مطالعه حاضر الگوی میکروبی اسهال‌های حاد در ایران نسبت به مطالعات قبلی تغییر کرده است، به طوری که هیچ موردی از سالمونلا یافت نشد. فراوانی شیگلا کمتر شده است و ای کولای خصوصاً سوش EPEC۲ فراوان‌تر شده است. لذا پیشنهاد می‌شود جهت یافتن الگوی میکروبی اسهال‌های حاد کل ایران مطالعات مشابهی در مناطق مختلف و با حجم نمونه‌های بیشتر انجام گیرد.

REFERENCES

- Guerrant RL, Hughes JM, Lima NL, Crane J. Diarrhea in developed and developing countries: magnitude, special settings, and etiologies. *Rev Infect Dis* 1990; 12(Suppl 1):S41-50.
- Bern C, Martines J, de Zoysa I, Glass R. The magnitude of the global problem of diarrhoeal disease: A ten-year update. *Bull World Health Organ* 1992; 70(705).
- Yip R, Sharp T. Acute malnutrition and high childhood mortality related to diarrhea: Lessons from the 1991 Kurdish refugee crisis. *JAMA* 1993; 270:587.
- Wheeler JG, Sethi D, Cowden JM. Study of infectious intestinal disease in England: rates in the community, presenting to general practice, and reported to national surveillance. *BMJ* 1999; 318:1046-1050.
- Yamashiro T, Nakasone N, Higa N, Iwanaga M, Insisiengmay S, Phounane T et al. Etiological study of diarrhoeal patients in Vientiane, Lao People's Democratic Republic. *J Clin Microbiol* 1998; 36:2195-2199.
- Svenungsson B, Lagergren A, Ekwall E, Evengard B, Hedlund KO, Karnell A, et al. Enteropathogens in adult patients with diarrhea and healthy control subjects: a 1-year prospective study in a Swedish clinic for infectious diseases. *Clin Infect Dis* 2000; 30(5):770-8.

7. Bhatnagar S, Bhan MK, Sommerfelt H, Sazawal S, Kumar R, Saini S, 1993. Enteroaggregative *Escherichia coli* may be a new pathogen causing acute and persistent diarrhea. *Scand J Infect Dis* 25: 579–583. 2003. Ref Type: Video Recording
8. Savarino SJ, Fasano A, Watson J, Martin BM, Levine MM, Guandalini S, Guerry P. Enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 represents another subfamily of *E. coli* heat-stable toxin. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 3093–3097. 2003. Ref Type: Generic
9. MoezArdalan K, Zali MR, Dallal MM, Hemami MR, Salmanzadeh-Ahrabi S. Prevalence and pattern of antimicrobial resistance of *Shigella* species among patients with acute diarrhoea in Karaj, Tehran, Iran. *J Health Popul Nutr* 2003 Jun;21(2):96-102.
10. Katouli M, Jaafari A, Farhoudi-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
11. Jamal WY, Rotimi VO, Chugh TD, Pal T. Prevalence and susceptibility of *Shigella* species to 11 antibiotics in a Kuwait teaching hospital. *J Chemother* 1998; 10(4):285-90.
12. Sonawala M, Saraswathi K, Deodhar LP. Serogroup prevalence of *Shigellae* in Bombay. *J Postgrad Med* 1995; Oct-Dec; 41(4):104-6.
13. Iwalokun BA, Gbenle GO, Smith SI, Ogunledun A, Akinsinde KA, Omonigbehin EA. Epidemiology of shigellosis in Lagos, Nigeria: trends in antimicrobial resistance. *J Health Popul Nutr*. Sep;19[3], 183-90. 2001. Ref Type: Journal (Full)
14. Anonymous. Summary of Notifiable Diseases, Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia 1997. Ref Type: Report
15. Katouli M, Ketabi GR., Ketabi GR. The role of diarrhoeagenic *Escherichia coli* in acute diarrhoeal diseases in Bandar-Abbas, Iran. *J Med Microbiol* 1988; 27(1):71-4.
16. Katouli M, Jaafari A, Farhoudi-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.
17. Tornieporth NG, John J, Salgado K, de Jesus P, Latham E, Melo MC et al. Differentiation of pathogenic *Escherichia coli* strains in Brazilian children by PCR. *J Clin Microbiol* 1995; 33(5):1371-4.
18. Porat N, Levy A, Fraser D, Deckelbaum RJ, Dagan R. Prevalence of intestinal infections caused by diarrheagenic *Escherichia coli* in Bedouin infants and young children in Southern Israel. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17(6):482-8.
19. Aslani MM, Badami N, Mahmmoodi M, Bouzari S. Verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) infection in randomly selected population of Ilam Province (Iran). *Scand J Infect Dis* 1998;30(5):473-6 1998; 30(5):473-6.
20. Aslani MM, Bouzari S. An epidemiological study on Verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC)
21. Bohnert MG, d'Hauteville HM, Sansonetti PJ. Detection of enteric pathotypes of *Escherichia coli* by hybridization using six DNA probes. *Ann Inst Pasteur Microbiol* 1988; 139(2):189-202.
22. Bergstein JM. conditions particularly associated with hematuria. In: Behrman RE, Kligman RM, Jenson HB, editors. *Nelson text book of pediatrics*. Philadelphia: WB Saunders company, 2000: 1586-7.
23. Itoh Y, Nagano I, Kunishima M, Ezaki T. Laboratory investigation of enteroaggregative *Escherichia coli* O untypeable:H10 associated with a massive outbreak of gastrointestinal illness. *J Clin Microbiol* 1997; 35:2546-2550.
24. Souza EC, Martinez MB, Taddei CR, Mukai L, Gilio AE, Racz ML, et al. [Etiologic profile of acute diarrhea in children in Sao Paulo] *J Pediatr (Rio J)*. 2002 Jan-Feb;78(1):31-8. Portuguese. 2003. Ref Type: Video Recording
25. Ratchtrachenchai OA, Subpasu S, Hayashi H, Ba-Thein W. Prevalence of childhood diarrhoea-associated *Escherichia coli* in Thailand. *J Med Microbiol* 2004; 53(3):237-243.
26. Huppertz HI, Rutkowski S, Aleksic S, Karch H. Acute and chronic diarrhoea and abdominal colic associated with enteroaggregative *Escherichia coli* in young children living in western Europe. *The Lancet* 1997; 349(9066):1660-1662