شیوع پاتوژن های روده ای جدا شده از موارد اسهال حاد در تهران

فرشته جعفری[۱*]، محمد حمیدیان[۲]، سیاوش سلمانزاده اهرابی[۳]، لیلا شکر زاده[۲]، سمانه دولت آبادی[۴]، مرسده تاجبخش[۴]، حسین دبیری[۵] و محمد رضا زالی[۶]

۱. کارشناس میکروبیولوژی مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دایره بیماریهای ناشی از غذا و اسهالهای مزمن
۲. کارشناس ارشد میکروبیولوژی پزشکی مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دایره بیماریهای ناشی از غذا و اسهالهای مزمن
۳. دکترای تخصصی میکروبیولوژی مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دایره بیماریهای ناشی از غذا و اسهالهای مزمن
۴. کارشناس ارشد زیست شناسی گرایش میکروبیولوژی مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دایره بیماریهای ناشی از غذا و اسهالهای مزمن
۵. دکترای تخصصی میکروبیولوژی پزشکی مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دایره بیماریهای ناشی از غذا و اسهالهای مزمن
۶. فوق تخصص بیماریهای گوارش، استاد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد

* **نشانی برای مکاتبه:** تهران، ولنجک، خیابان یمن، خیابان تابناک، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ، مرکز تحقیقات گوارش و کبد و بیماریهای اسهالی مزمن. تلفن/ فاکس: ۲۲۴۳۲۵۱۸ - f_jaafari580@yahoo.com

دریافت مقاله: آبان هشتاد و شش **پذیرش برای چاپ: دی هشتاد و شش**

چکیده

سابقه و هدف: *بیماریهای اسهالی در بسیاری از کشورهای دنیا به ویژه کشورهای در حال توسعه یکی از عوامل مهم مرگ و میر به حساب می آیند. در این بین باکتریهای روده ای سهم عمده ای از موارد ابتلا به این بیماریها را به خود اختصاص میدهند. این مطالعه با هدف تعیین شیوع پاتوژنهای باکتریایی عامل اسهال در نمونه‌های اسهال حاد و همچنین توصیف علایم و نشانه‌های بیماری در بیماران با اسهال انجام گرفت.*

روش کار: *نمونه‌های مدفوع ۸۰۸ بیمار دارای اسهال حاد از بیماران مراجعه کننده به بیمارستانهای تهران در طول اردیبهشت ۱۳۸۳ تا اردیبهشت ماه ۱۳۸۴ با روش های استاندارد جمع‌آوری و مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه ژنهای بیماریزایی پاتوژنهای باکتریایی روده‌ای اسهال‌زا با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) شناسایی گردیدند.*

یافته ها: *در بین ۸۰۸ نمونه افراد دارای اسهال حاد, ۳۶۹ (۴۵/۶٪) باکتریهای پاتوژن روده‌ای جدا شدند. در این بین سویه های شیگلا ۱۵۵(۴۵٪) و اشرشیا کلی اسهال زا ۱۴۳(۳۸.۸٪) بیشترین شیوع را داشتند . سویه‌های سالمونلا ۵۱ (۱۳/۸٪) و کمپیلوباکتر ۲۰ (۵/۴٪) شیوع کمتری داشته و مکانهای بعدی را بخود اختصاص دادند. بیشترین سویه جداشده در بین اشرشیاکلی‌های پاتوژن (Shiga like toxin producing E.coli) STEC ۶۴ (۴۴/۷٪) و سپس سویه‌های (Enterotoxaemia E.coli) ETEC ۴۷ (۳۲/۹٪) بودند. در بین سویه‌های شیگلا گونه فلکسنری۶۹ (۴۴/۵٪) بیشترین سویه جدا شده بود. همچنین ۱۸ سویه، ۴/۸٪ به شکل عفونت‌های همره با باکتریهای دیگر دیده شد که غالباً STEC به همراه (Enteroagrigative E.coli) EAEC بودند.*

نتیجه گیری: *اطلاعات صحیح در مورد اپیدمیولوژی و شیوع پاتوژنهای اسهالی و همچنین بکارگیری روشهای تشخیصی سریع می‌تواند با کم‌کردن بار عفونت‌های اسهالی در ارتقای بهداشت و سلامت عمومی بسیار کمک کننده باشد. همچنین حضور بالای (Enterohemoragic E.coli) در سویه های جدا شده نشان دهنده اهمیت این باکتری به عنوان عامل اسهال حاد می باشد.*

واژگان کلیدی: *پاتوژنهای روده ای، اسهال حاد، شیگلا، اشرشیا کلی اسهال زا*

مقدمه

بیماریهای اسهالی عفونی درتمام دنیا به عنوان مشکلی بزرگ محسوب می‌شوند و تعداد قابل ملاحظه‌ای از مرگ و میرهای سالیانه به ویژه در کشورهای در حال توسعه در اثر این بیماریها بوقوع می‌پیوندد(۴-۱). عوامل اصلی ایجاد کننده این بیماریهای اسهالی به شکل قابل ملاحظه‌ای در بین کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته متغیر است.

به گونه‌ای که در کشورهای توسعه‌یافته ویروسها از عوامل مهم ایجاد بیماریهای اسهالی بوده در حالیکه عوامل باکتریایی همچون اشرشیاکلی انتروتوکسیژنیک ، گونه‌های کمپیلوباکتر، شیگلا و گونه‌های سالمونلا بیشترین عوامل ایجاد کننده بیماری در کشورهای در حال توسعه می‌باشند (۲و۵). در این بین اشرشیاکلی اسهال‌زا، شیگلا و سالمونلا از عوامل عمده و مهم در ایجاد اسهال اندمیک و اپیدمیک در سراسر دنیا هستند(۶).در سالهای اخیر توانایی شناسایی و تعیین هویت پاتوژن‌های روده‌ای در نمونه‌های مدفوع، با بکارگیری روشهای مولکولی پیشرفته افزایش یافته است(۷). طبعاً دانش صحیح در مورد اپیدمیولوژی پاتوژنهای اسهالی نیاز به تحقیقات دقیق و گسترده جهت شناسائی عوامل ایجاد کننده و شایع دارد. در نتیجه اطلاعات بدست آمده راهکارهای بسیار موثری جهت برنامه‌ریزی‌های بهداشتی و پیشگیری و درمان بیماریهای اسهالی بوجود خواهد آورد. علاوه بر آن در کشورهای در حال توسعه اطلاعات محدودی در مورد شیوع پاتوژنهای روده ای موجود میباشد. هدف اصلی این مطالعه تعیین شیوع پاتوژنهای باکتریایی عامل اسهال در نمونه‌های اسهال حاد و همچنین توصیف علایم و نشانه‌های بیماری در بیماران با اسهال حاد بوده است.

روش کار

نمونه‌های مدفوع ۸۰۸ بیمار دارای اسهال حاد از بیماران مراجعه کننده به بیمارستانهای تهران(مفید, مرکز طبی کودکلن, مهراد, شهدای تجریش) در طول اردیبهشت ۱۳۸۳ تا اردیبهشت ماه ۱۳۸۴ جمع‌آوری و مورد مطالعه قرار گرفت. بیماران در ۳ گروه سنی ۱۴-۵ سال، ۶۰ – ۱۴ سال و بالای ۶۰ سال تقسیم‌بندی شدند و اطلاعات شامل تب، تهوع، استفراغ، درد شکم و وجود خون در مدفوع از بیماران مراجعه کننده جمع‌آوری گردید. سپس از هر نمونهٔ مدفوع ۲ سواپ تهیه و درمحیط انتقالی Cary-Blair به همراه بافر فسفات سالین (PBS) بوسیله ice pack به آزمایشگاه مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در دپارتمان بیماریهای ناشی از غذا و اسهال حاد منتقل گردید.نمونه‌های مدفوع از بیماران با اسهال حاد جهت تعیین هویت و شناسایی سالمونلا و شیگلا بر روی محیط Xylose – Lysine (Merch GaA, Germany) Desoxycholate-Agar (XLD) و Salmonella – Shigella Agar (Pronadisa, manufactured by Hispanlab , S.A Madrid) کشت داده شدند. جهت شناسایی سویه‌های کمپیلو باکتر نمونه‌ها به محیط پایه Campy blood agar با مکمل (Himedia M994.India) منتقل شدند و در دمای ۴۲C برای ۴۸ ساعت و تحت شرایط میکروآئروفیلیک (10% co_2 , 5% O, 85% N_2) انکوبه گردیدند. یک سواپ نیز از نمونه دیگر در محیط (Merck K CIN- Agar , Yersinia – Selective Darmstadt , Germany) و در دمای ۲۲C جهت شناسایی سویه‌های یر سینیا کشت داده شدند. کلونی‌های مختلف پس از رشد جهت تعیین هویت نهایی توسط تستهای بیوشیمیایی و همچنین آنتی‌سرم‌های اختصاصی (MAST House , Derby Road , Bootle , Merseyside , L201EA and UK) موردمطالعه قرار گرفتند.تمام نمونه‌های مدفوع در محیط‌های اختصاصی (Merck GaA- Germany)Mac Sorbitol agar , Mac-Mac-Concky Concky agar کشت شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷C انکوبه گردیدند.

جهت استخراج DNA یک لوپ پر از باکتریهای گرم منفی کشت شده در محیط مک کانکی آگار برداشته شد و در ۰/۷ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به صورت سوسپانسیون درآمد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه جوشانیده شد (boiling Procedure) و از مایع رویی آن جهت انجام PCR استفاده گردید. ۶ جفت پرایمر جهت شناسایی اشرشیاکلی اسهال‌زا (stxl, stx2, eae, pcvD432 Plasmid, lt , st) و یک جفت جهت شناسایی سویه‌های شیگلا (ipaH) مورد استفاده قرار گرفت(۱۲-۸). تست‌های آگلوتیناسیون $O_{157}H_7$ جهت شناسایی سویه‌های stx مثبت انجام گردید (Mast Company). **برای واکنش زنجیره ای پلیمراز PCR (amplification)** ۲ میکرولیتراز DNA استخراج شده، به ۲۲ میکرولیتر از ترکیب PCR شامل ۵۰ میلی‌مول KCL، ۱۰ میلی‌مولار Tris – HCL (PH:8:3) و ۱/۵ میلی‌مولار $Mgcl_2$، ۰/۲ میلی‌مولار از هر کدام از dNTP ها، ۰/۶ واحد Taq Polymerase (Fermentase) و ا میکرولیتر ازترکیب پرایمر F و R که هر کدام از پرایمرها غلظت ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر را داشته اضافه گردید.تمام نمونه‌ها با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf AG 2233, Germany) و طبق برنا مه دمایی زیر تکثیر(amplify) گردیدند. ۹۵C به مدت ۲ دقیقه برای جداسازی رشته‌های DNA سپس ۳۰ چرخه به ترتیب ۹۴C، ۳۰ ثانیه، ۶۰C به مدت ۳۰ ثانیه جهت اتصال پرایمر به رشته الگو و ۲۰ ثانیه در دمای ۷۲C جهت amplification و بسط رشته‌های پرایمر در طول رشته های الگو و در آخر یک دمای ۷۲C جهت بسط نهایی تمام رشته‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در نظر گرفته شد. در هر مرحله از انجام PCR یک تست به عنوان کنترل منفی و از آب مقطر استریل استفاده گردید تا احتمال وجود آلودگی معرف ما از بین برود. سویه‌های E.coli ATCC 35401(LT^+, ST^+)، E.coli ATCC ($stx1^+$, $stx2^+$, eae^+) و E.coli RH4620 (E.coli 172, EAEC) شیگلا ATCC Shigella به عنوان کنترل مثبت مورد استفاده قرار گرفتند. سویه‌های E.coli که واجد ژن eae بوده و stx منفی بودند به عنوان EPEC (Enteropathogenic E.coli)، سویه‌های Lt و St مثبت یا هر دو به عنوان ETEC وسویه‌های ipaH مثبت به عنوان شیگلا در نظر گرفته شدند. محصول PCR ژنهای مذکور در ژل ٪۱/۵ در ولتاژ ۱۰۰ الکتروفورز گردید (Agarose LE Roche, Germany) و سپس توسط اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی و تحت اشعه UV مطالعه گردید.

یافته‌ها

در مدت یک سال از اردیبهشت ماه ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۴، ۸۰۸ نمونه مدفوع از افراد دارای اسهال حاد جمع‌آوری گردیدند. و در آزمایشگاه مرکز تحقیقات گوارش و کبد، در دپارتمان بیماریهای ناشی از غذا و اسهال حاد واقع در دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تعیین هویت گردید. از۸۰۸ بیمار دارای اسهال حاد، در ۴۵/۶٪ (۳۶۹ نفر) از بیماران, باکتریهای پاتوژن به عنوان عوامل اتیولوژیک ایجاد کننده اسهال حاد شناسایی شدند. از این تعداد اکثر آنها (۵۴۰ مورد، ۶۶/۸٪)) در محدودهٔ سنی بالای ۱۴ سال قرار داشتند. در این مطالعه ۵۳/۳٪ از بیماران (۴۱۷ نفر) را مردان و مابقی را زنان تشکیل میدادند. ۴۲٪ ازنمونه‌های اسهالی جمع‌آوری شده (۳۴۰ نمونه) را موارد اسهال آبکی شامل می‌شد (جدول ۱). در فصول خشک سال نسبت بسیار بیشتری از نمونه‌ها جمع‌آوری شدند و این دقیقاً برعکس فصول سرد سال بود، به طوریکه ۷۲٪ از نمونه های جمع آوری شده این مطالعه در فصول خشک سال جمع آوری گردید.

در بین سویه‌های جدا شده گونه‌های شیگلا، بیشترین گونه باکتریایی جدا شده ۱۵۵ (۴۵/۶٪) بـه شـمار مـی‌رفـت. پـس از آن اشرشـیاکلی اسـهال‌زا ۱۴۳ (۳۸/۸٪)، سویه‌های سالمونلا ۵۱ (۱۳/۸٪) و کمپیلو باکتر ۲۰ (۵/۴٪) رده‌های بعدی را تشکیل دادند. درهیچکدام از موارد اسهال حاد گونه‌های یرسینیا جـدا نگردید.

جدول ۲- توزیع بیماران مبتلا به اسهال حاد بر اساس نوع باکتری و سن بیماران

گروههای سنی مختلف	۵ تا ۱۴ سال	۱۴تا ۶۰ سال	بالای ۶۰ سال	جمع کلی باکتریهای جدا شده	جمع کلی نمونه ها
تعداد بیماران	۲۶۷	۴۹۵	۴۶	۸۰۸	(٪۱۰۰)۸۰۸
تعداد پاتوژنهای روده ای جدا شده	(٪۳۲.۸)۱۲۱	(٪۵۸.۵)۲۱۶	(٪۳.۲)۳۲	(٪۱۰۰)۳۶۹	(٪۴۵.۶)۳۶۹
سویه های شیگلا	۵۲	۹۳	۱۰	(٪۴۲)۱۵۵	(٪۱۹.۲)۱۵۵
شیگلا سونیی	(٪۵۵.۷)۲۹	(٪۲۵.۸)۲۴	(٪۱۰)۱	(٪۳۴.۸)۵۴	(٪۶.۶)۵۴
شیگلا فلکسنری	(٪۳۶.۵)۱۹	(٪۴۵.۱)۴۲	(٪۸۰)۸	(٪۴۴.۵)۶۹	(٪۸.۵)۶۹
شیگلا دیسانتری	(٪۳.۸)۲	(٪۱۷.۲)۱۶	(٪۱۰)۱	(٪۱۲.۳)۱۹	(٪۲.۳۵)۱۹
شیگلا بوییدی	(٪۳.۸)۲	(٪۱۱.۸)۱۱	۰	(٪۸.۴)۱۳	(٪۱.۶)۱۳
سویه های سالمونلا	۱۲	۳۲	۷	(٪۱۳.۸)۵۱	(٪۶.۳)۵۱
سالمونلا پاراتیفی A	(٪۱۶.۷)۲	(٪۴۰.۶)۱۳	(٪۲۸.۶)۲	(٪۳۳.۴)۱۷	(٪۲.۱)۱۷
سالمونلا پاراتیفیB	(٪۸.۳)۱	(٪۶.۲۵)۲	(٪۱۴.۳)۱	(٪۷.۸)۴	(٪۰.۴۹)۴
سالمونلا پاراتیفی C	(٪۵۰)۶	(٪۱۵.۶)۵	(٪۱۴.۳)۱	(٪۲۳.۵)۱۲	(٪۱.۴۸)۱۲
سالمونلا پاراتیفیD	۰	(٪۶.۲۵)۲	۰	(٪۵.۹)۳	(٪۰.۳۷)۳
سالمونلا انتریتیدیس	۰	(٪۳.۱)۱	(٪۱۴.۳)۱	(٪۱.۷)۱	(٪۰.۱۲)۱
سالمونلا تیفی	(٪۲۵)۳	(٪۲۸.۱)۹	(٪۲۸.۶)۲	(٪۲۷.۷)۱۴	(٪۱.۷)۱۴
اشرشیا کلی اسهال زا	۵۱	۸۰	۱۲	(٪۳۸.۸)۱۴۳	(٪۱۷.۶)۱۴۳
انتروپاتوژنیک اشرشیا کلی	(٪۳.۹)۲	(٪۱۱.۲)۹	(٪۸.۳)۱	(٪۸.۴)۱۲	(٪۱.۴)۱۲
انترو هموراژیک اشرشیا کلی	(٪۵۱)۲۶	(٪۴۰)۳۲	(٪۵۰)۶	(٪۴۴.۷)۶۴	(٪۷.۹)۶۴
انترواگریگاتیو اشرشیا کلی	(٪۹.۸)۵	(٪۱۷.۵)۱۴	(٪۸.۳)۱	(٪۱۴)۲۰	(٪۲.۴)۲۰
انتروتوکسیژنیک اشرشیا کلی	(٪۳۵.۳)۱۸	(٪۳۱.۲)۲۵	(٪۳۳.۳)۴	(٪۳۲.۹)۴۷	(٪۵.۸)۴۷
سویه های کمپیلو باکتر	(٪۳۰)۶	(٪۵۵)۱۱	(٪۱۵)۳	(٪۵.۴)۲۰	(٪۲.۴)۲۰

جدول ۱- توزیع بیماران مبتلا به اسهال حاد بر اساس نوع باکتری و مهمترین علایم بالینی

باکتری عامل بیماری	تعداد باکتریهای جدا شده	اسهال خونی	اسهال دارای موکوس	اسهال آبکی	استفراغ	تب
سویه های شیگلا	(۴۲٪)۱۵۵	(٪ ۲۱.۲)۳۹	(٪۲۲.۶)۳۵	(٪۵۵.۵)۸۶	(٪۴۲.۶)۶۶	(٪۳۴.۸)۵۴
انترو هموراژیک اشرشیا کلی	(٪۱۷.۳۴)۶۴	(٪۳۷.۵)۲۴	(٪۲۰)۱۳	(٪۴۸.۴)۳۱	(٪۳۹.۱)۲۵	(٪۲۰.۳)۱۳
سویه های سالمونلا	(٪۱۳.۸)۵۱	۰	(٪۵۳.۱)۲۷	(٪۴۵.۱)۲۳	(٪۵.۴)۲۰	(٪۳.۶)۱۷
انتروتوکسیژنیک اشرشیا کلی	(٪۱۲.۷)۴۷	(٪۴.۲)۲	(٪۲۹.۸)۱۴	(٪۶۶)۳۱	(٪۶۸.۱)۳۲	(۳۱.۹)۱۵
سویه های کمپیلو باکتر	(٪۵.۴)۲۰	(٪۴۵)۹	(٪۳۵)۷	(٪۴۰)۸	(٪۴۰)۸	(٪۳۰)۷
انترواگریگاتیو اشرشیا کلی	(٪۵.۴)۲۰	(٪۲۵)۲	(٪۳۰)۶	(٪۵۰)۱۰	(٪۴۵)۹	(٪۴۵)۹
انتروپاتوژنیک اشرشیا کلی	(٪۳.۲)۱۲	(٪۸.۳)۱	(٪۵۰)۶	(٪۴۱.۷)۵	(٪۴۱.۷)۵	(٪۴۱.۷)۵

در بین سویه‌های شیگلا، بیشترین مقدار را شـیگلا فلکسـنری ۴۴/۵٪ (۶۹ نفر) بخود اختصاص میـداد و بعـد از آن شـیگلا سـونئی ۳۴/۸٪ (۵۴ نفـر) شیگلا دیسانتری۱۲/۲٪ (۱۹ نفـر) و شـیگلا بوئیـدی۸/۴٪ (۱۳ نفـر) قـرار داشتند. در رده سنی ۵-۱۴ شیگلا سونئی۵۵/۷٪ (۲۹ نفر) بیشترین مقدار را داشت در حالیکه در بیماران بزرگسال شیگلا فلکسـنری ۵۰ (۳۲/۲٪) از مقدار بیشتری برخوردار بود. در بین سویه‌های مختلف اشرشیاکلی اسهال‌زا کـه توسـط PCR شناسـایی گردیـد، STEC (۴۴/۷٪)، ETEC (۴۷٪)، EAEC (۱۴٪) و EPEC (۸/۴٪) به ترتیب میزان شیوع قرار داشتند. ژنهـای stx_1 و stx_2 بـه ترتیـب در ۲۲ (۳۴/۳۷٪) و ۲۸ (۴۳/۷۵٪) از سویه‌های STEC یافت شد. و ۱۴ سویه ۲۱/۸۷٪ نیز به طور همزمان هـر دو ژن را داشتند. در بین سویه‌های ETEC ۱۵ سویه (۴٪) توکسـین LT و ۲۵ سویه (۶/۷۷٪) توکسین ST تولید می‌کردند. و ۷ سویه (۱/۸۹٪) هر دو ژن را به طور همزمان داشتند. در بین باکتریهـای پـاتوژن ۶۶ درصـد از سویه‌های ETEC و ۵۵ درصد از سویه‌های شیگلا از نمونـه‌هـای اسـهالی آبکی جدا گردیدند و همچنین ۵۳ درصد از سـویه‌هـای سـالمونلا ازمـوارد مدفوع موکوسی جدا شد.

۱۸ مورد از سویه‌های جـدا شـده (۴/۸٪) مـوارد Mixed Infection بـا یک عفونت باکتریایی دیگر همراه بودند و بیشترین این موارد را عفونتهـای همزمان سویه‌های STEC و EAEC تشکیل می‌دادند. در بین نمونه‌های اسهال خونی سویه‌های STEC و شیگلا بیشترین مـوارد باکتریهـای جـدا شده بودند در حالی که هیچ سالمونلایی از نمونه‌های اسـهال خـونی جـدا نگردید. در بین سویه‌های جداشده سالمونلا، سالمونلا پاراتیفی A (۳۳/۳٪) و تیفی ۱۴ (۲۷/۶٪) به ترتیب بیشترین گونه های جداشده سالمونلا بودند.

بحث

بیماریهای اسهالی که توسط پاتوژنهـای روده‌ای مختلـف ایجـاد مـی گردنـد از موارد اصلی مشکل‌ساز برای بهداشت عمومی می‌باشند و سالانه موارد زیادی از بیماریها را در کشـورهای در حـال توسـعه از جملـه ایـران ایجـاد مـی‌کننـد (۱۳و۱۴). در این مطالعه روشهای بیوشیمیایی و مولکولی مختلف بکـار گرفتـه شد، تا با افزایش دقت و حساسیت، بتوان برآورد مناسبی از شیوع عفونـت‌هـای اسهالی ایجـاد شـده توسـط سـویه‌هـای شـیگلا، اشرشـیاکلی هـای اسـهال زا، سـالمونلا و ارگانیسـم‌هـای مـرتبط بدسـت آورد. از آنجائیکـه اکثـر محققـین مطالعات خود را روی بیماریهای کودکان و اطفال متمرکز نمـوده‌انـد اطلاعـات اندکی در مورد شیوع و اپیدمیولوژی پاتوژنهـای روده‌ای در افـراد بزرگسـال در کشورهای مختلف و هچنین ایران موجود است. از این رو بررسی هر چه بیشـتر و دقیق‌تر این عوامل از نیازهای اساسی و مهم جهت ارتقـای بهداشـت عمـومی جامعه می‌باشند چرا که عفونتهای بزرگسالان علاوه بر ایجاد مشـکلات در ایـن گروه، غالبا باعث انتقال عامل بیماری به کودکان نیز میگردد(۱۷-۱۵). در ایـن مطالعه عوامل باکتریایی شایع تـرین (۴۵٪) علـت اسـهال حـاد تشـخیص داده شدند. بقیه موارد اسهالی را می‌توان به عوامل غیـر عفـونی و عفـونی دیگـر از جمله ویروسها و یا انگل‌های (تک‌یاختـه‌هـا) روده ای مـرتبط دانسـت. میـزان جداسازی باکتریهای پاتوژن مولد اسهالهای حاد در کره جنـوبی ۴/۸٪ گـزارش گردید (۱۸). در قیاس با مطالعات دیگر می‌توان گفت که میـزان جداسـازی در این مطالعه(۴۵٪) نیز مقدار بالایی را تشکیل می‌دهند. از این مقدار سویه‌هـای شیگلا (۴۲٪)، اشرشیاکلی‌های اسـهال‌زا ۳۸/۶۴٪، سـالمونلا(۱۳/۱٪)و کمپیلـو باکتر ۵/۴٪ از نمونه های جداشده را بخود اختصاص می‌دهد.فراوانی سویه‌هـای مختلف شیگلا در بین بیماران دارای اسهال حاد در این مطالعه (۱۹/۱٪) بیشتر از مطالعات قبلی انجام شده (۱۶/۸٪) و (۹-۵٪) در کشـور مـی‌باشـد(۲۱-۱۹). شیگلا یکـی از مهمتـرین پـاتوژن‌هـای روده‌ای ایجـاد کننـده اسـهال حـاد در کشورهای در حال توسعه می‌باشد. و همچنانکه از یافته های این مطالعه بر می آید در این مطالعه نیزاین باکتری میزان بالایی از موارد باکتریهـای جـدا شـده مولد اسهال حاد را بخود اختصاص داده است. این شیوع بـالا مـی‌توانـد بخـاطر تمایل این ارگانیسم به مخاط روده و ایجاد اسهال شدید باشد(۱۴و۱۵). در این مطالعه بیشترین سویه جدا شده از شیگلا، سویه‌های شیگلا فلکسـنری ۴۴/۵٪ بود. این میزان با مطالعات قبلی از ایران و کشورهای در حال توسعه هم‌خـوانی دارد و نشان دهنده اهمیت این ارگانیسم به عنوان یکی از عوامـل مهـم ایجـاد کننده اسهال می باشد.(۱۴و۲۲).در محدوده سنی ۱۴-۵ سـال شـیگلا سـونئی ۵۵/۷٪ از شیوع بالاتری (نسبت به محدوده بالای ۱۴ سـال ۲۵/۸٪) برخـوردار بود این تفاوت میتواند نشاندهنده الگوی متفاوت ارگانیسـمهای درگیـر در هـر رده سنی در کشور باشد .در مطالعهٔ حاضر گونه های شـیگلا بـه عنـوان سـویه غالب در بین باکتریهای جداشده بیشترین شیوع را در بیماران اسـهالی داشـت. در تمام دنیا مطالعات زیادی جهت بررسی پاتوژنهای روده‌ای مولد اسهال حـاد انجام شده و مقایسهٔ آنها نشاندهندهٔ متغیر بودن شیوع این پاتوژنهـا در منـاطق مختلف میباشد (۱۴و۱۸و۲۰) این مطالعـات نشـاندهنده اهمیـت سـویه‌هـای مختلف E.coli به عنوان بیشترین باکتری جدا شده از مـوارد اسـهال حـاد در سراسر دنیا میباشد (۲۳). در بین پاتوژنهای جدا شده شیوع سویه‌های STEC ۳۸/۶٪ مشاهده گردید در حالیکه شیوع این سویه‌ها در نیجریـه ۲۰٪ گـزارش گردیده است (۲۴). همانطور که مشاهده می‌شود یافته های متفـاوتی از شـیوع STEC بـه عنـوان یـک پـاتوژن از قسـمتهای مختلـف دنیـا گـزارش شـده است(۲۵و۲۶). در ایران مطالعات اندکی در مورد فراوانی این پاتوژنها بـه چـاپ رسیده اسـت. سـلمان زاده و همکـاران در مطالعـات خـود در سـال ۱۳۸۴، STECبه خصوص O_{157} H_7 را به عنوان سویه‌ای شایع در ایجـاد اسـهال حـاد در کودکـان ایرانـی گـزارش کردنـد (۲۷). روی همرفتـه میتـوان بیـان کـرد شیوع‌های ناگهانی STEC ناشی از غذا می‌تواند تعداد زیادی از افـراد را مبـتلا سازد و به عنوان عامل خطرساز مهمی تلقی شـود کـه بیشـتر از همـه بخـاطر ایجادشدن سندرم همولیتیک اورمیک (HUS) توسط این سویه‌ها می‌باشـد. و از آنجاییکه درمان اختصاصی و سریعی جهت این بیماری وجـود نـدارد دانـش صحیح راجع بـه اپیـدمیولوژی STEC و روشـهای پیشـگیری از عفونـت‌هـای مربوط به آن ضروری می‌باشد.در بین سویه‌های اشرشیاکلی سویه‌های EPEC شیوع پایینی در این مطالعه داشـتند (۸/۴٪). همچنـین در سـومالی (۱۴٪) و تایلند (۵/۵٪) نیز EPEC درصد کمی از سـویه‌هـای اشرشـیاکلی اسـهال‌زا را بخود اختصاص می‌داد درحالیکه در مقابل در شیلی ۳۸/۳٪، کره ۵۶٪ و برزیل ۳۴٪ شیوع بالایی از سویه‌های EPEC مشاهده گردید.البته شیوع EPEC در کشورهای توسعه‌یافته بیشتر از کشورهای در حال توسعه است. در این مطالعـه میزان شیوع ETEC (۳۲/۹٪) بیشـتر از سـویه‌هـای EPEC (۸/۴٪) بـود در حالیکه میزان جداسازی سویه‌های ETEC در کره ۱۷٪ گزارش شده‌اسـت. در این مطالعه شیوع بالای دیسانتری ۱۳/۷٪ در بین بیمـاران دارای اسـهال حـاد بیشتر از مطالعات قبلی در ایران می‌باشد و این نشـاندهنده بـالا بـودن شـیگلا نسبت به بقیه باکتریهـا اسـت.در بـین پاتوژنهـای روده‌ای جداشـده از بیمـاران سویه‌های سالمونلا در ۶/۳٪ از بیماران دیده شـد و از بـین آنهـا نیـز سـالمونلا تیفی A سویهٔ غالب بود. برعکس کشورما درکشـورهای توسـعه یافتـه میـزان جداسازی سویه‌های سالمونلا بسیار بیشتر است به گونه‌ای که میزان جداسازی سالمونلا در ایالات متحده ۲۲٪ و در ایتالیا ۱۸/۵٪ گزارش گردیده است.عوامـل اتیولوژیک اسهال در کشـورهای در حـال توسـعه‌یافتـه متفـاوت اسـت عوامـل باکتریـایی ماننـد سـالمونلا، کمپیلـو بـاکتر و یـا عوامـل ویروسـی همچـون روتاویروسها در کشورهای در حـال توسـعه‌یافتـه و عـواملی همچـون شـیگلا و اشرشیاکلی اسهال‌زا درکشورهای در حال توسعه سویه‌های غالب می‌باشند(۳۶-۳۴). در ایـن مطالعـه سـویه‌هـای کمپیلوبـاکتر درصـد کمـی (۵/۴٪) را بخـود اختصاص دادند اگرچه در سوئد این رقم به حـدود ۱۳٪ مـی‌رسـید (۳۵). ایـن یافته با اطلاعات قبلی مبنی بر پایین بودن شیوع کمپیلوباکتر بـه عنـوان یـک عامل مولد اسهال در کشورهای در حال توسـعه همخـوانی دارد. البتـه شـرایط انتقال، کشت و تشخیص درست این باکتری از جملـه عـواملی اسـت کـه بایـد مورد توجه قرار گیرد.در این مطالعـه بـاکتری شـیگلا بعنـوان سـویهٔ غالـب در بیماران دارای اسهال حاد مشاهده گردید علاوه بر آن اشرشیاکلی‌های اسـهال‌زا در رده بعدی و با شیوع بالا به همراه سویه‌های شیگلا حضوری مهم در ایجـاد اسهال ایفا می‌کردند. اپیدمی‌های اسهال در اثر شیگلا و اشرشیاکلی‌های پاتوژن می‌توانند هزاران انسان را مبتلا کرده و صدمات زیادی بـه بهداشـت عمـومی و سلامت افراد یک جامعه وارد کند. چرا که این عوامل باکتریایی نقش مهمی در انتقال عامل بیماری به کودکان نیـز مـی‌باشـند. در نتیجـه روشـن اسـت کـه تکنیک‌های سریع تشخیص از ابزارهای مهم جهت کم‌کردن میـزان ابـتلا و بـار این بیماریها بر بهداشت و سلامت عمومی افراد می‌باشد. چرا که بـا توجـه بـه هزینه های سنگین تهیه آنتی سرم های H و O در تشـخیص E.coli هـای پاتوژن این میکرو ارگانیسمها در آزمایشگاههای تخیص طبی ارزیـابی نمیشـود در نتیجه استفاده از تکنیکهای سریع مولکولی میتواند جایگزینی مناسب بـرای روش های سنتی جهت تشخیص عوامل فوق باشد. همچنین اطلاعـات صـحیح در مورد اپیدمیولوژی این عوامل نیز می‌تواند به عنـوان پیکـر اصـلی طراحـی و برنامه‌ریزی استراتژی‌های بهداشتی و کنترل بیماریهای اسهالی قلمداد گردد.

تشکر و قدر دانی

نگارندگان این مقاله مراتب سپاسگزاری و قدر دانـی خـود را از اسـتادان عزیـز آقای دکتر محمد مهدی فیض آبادی, دکتر محمـد مهـدی اصـلانی, همچنـین همکاران محترم سرکار خانم پریسا ترابی, محمد امین پور حسین قلی و سرکار خانم هاله عدالت خواه بـه خـاطر مسـاعدت هایشـان در انجـام ایـن مطالعـه و همچنین جناب آقای دکتر جار اللهـی وسـرکار خـانم لـیلا کاشـی بـه خـاطر کمکهای ایشان در جمع آوری و ارسال نمونه اعلام میدارند.

REFERENCES

1. Guerrant RL, Hughes JM, Lima NL. Diarrhea in developed and developing countries: magnitude, special settings, and etiologies. Rev Infect Dis; 1990 Jan-Feb 12 Suppl 1, S41-50.

2. Baudry B, Savarino SJ, Vial P. A sensitive and specific DNA probe to identify enteroaggregative Escherichia coli, a recently discovered diarrheal pathogen. J. Infect. Dis; 1990 161; 1249-1251.

3. Guerrant RL, Kosek M, Moore S. Magnitude and impact of diarrheal diseases. Arch Med Res; 2002; 33; 351-355.

4. Black R. Epidemiology of travelers'' diarrhea and relative importance ofvarious pathogens. Rev Infect Dis; 1990 12(Suppl 1); S73- 78.

5. Jertborn M and Svennerholm AM. Enterotoxin-producing bacteria isolatedfrom Swedish travellers with diarrhoea. Scand J Infect Dis; 1991; 23; 473- 479.

6. Nataro JP and Kaper JB. Diarrheagenic Escherichia coli. Clin Microbiol Rev; 1998; 1; 142-201.

7. Pershing D. Automated Molecular Diagnostics. Gen Eng Biotech; 2007; 27; 35-39.

8. Jamal WY, Rotimi VO, Chugh TD. Prevalence and susceptibility of Shigella species to 11 antibiotics in a Kuwait teaching hospital. J. Chemother; 1998; 10; 285-290.

9. Sonawala M, Saraswathi K, Deodhar LP. Serogroup prevalence of Shigellae in Bombay. J. Postgrad. Med; 1995; 41; 104-106.

10. Olsvik O, Strockbine NA. PCR detection of heat-stabl, heat-labile and shiga-like toxin genes in Escherichia coli. In: Persing DH, Smith TH, Tenover F, White TJ, editors. Diagnostic molecular microbiology-Principles and applications. Washington DC. USA: A. S. M; 1993; 25, 2761-2765.

11. Kell Y MT, Brenner J and Farmer JJ. Enterobacteriaceae .In: Manual of clinical microbiology, 4th edn. Clennette, E.H., Ballows, A.tausler, Jr., W.J. and Shadomy, ASM press Washington DC H J EDs; 1985; 263-277.

12. Thiem VD, Sethabutr O, Seidlein L. Detection of Shigella by a PCR Assay Targeting the ipaH Gene Suggests Increased Prevalence of Shigellosis in Nha Trang, Vietnam. J. Clin. Microbiol; 2004; 42; 2031–2035.

13. Navia MM, Ruiz J, Vila J. Molecular characterization of the integrons in Shigella strains isolated from patients with traveler's diarrhea. Diagn Microbiol Infect Dis; 2004; 48; 175-179.

14. MoezArdalan K, Zali MR, Soltan Dallal. Prevalence and Pattern of Antimicrobial resistance of Shigella species among Patients with Acute Diarrhoea in Karaj, Tehran, Iran. J Health Popul Nutr; 2003; 21; 96-102.

15. Katouli, M., Jaafari, A., Farhoudi, A.A. Aetiological studies of diarrhoeal diseases in infants and young children in Iran. J Trop Med Hyg; 1990; 93; 22-28.

16. Svanteson B, Thorén A, Castor B. Acute diarrhoea in adults: aetiology, clinical appearance and therapeutic aspects. Scand. J. Infect. Dis; 1988; 20; 303-314.

17. Munk Petersen A, Vinther Nielsen S, Meyer D. Bacterial gastroenteritis among hospitalized patients in a Danish county, 1991–93. Scand. J. Gastroenterol; 1996; 31; 906–911.

18. Cho SH, Kim JH, Kim JC. Surveillance of bacterial pathogens associated with acute diarrheal disease in the republic of Korea during one year, 2003. J. Microbiol; 2006; 44; 327-335.

19. Katouli M, Jaafari A, Moghaddam AA. Aetiological studies of diarrhoeal diseases in infants and young children in Iran. J. Trop. Med. Hyg; 1990; 93, 22-27.

20. Katouli M, Pachenary A, Jaafari A, et al. The role of Shigella spp. in childhood diarrhoeal in Iran and their antibiotic resistance. Scand. J. Infect. Dis; 1989; 21; 415-419.

21. Nikkah J and Movahead A. Antibiotic resistance among Shigella species isolated in Tehran, Iran. Ann. Trop. Med. Parasitol; 1988; 82; 481-483.

22. Kotloff KL, Winickoff JP, Ivanoff B. Global burden of Shigella infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. Bull. World.Health. Organ; 1999; 77; 651-666.

23.Nishikawa Y, Zhou Z, Hase A. Surveillance Team. Diarrheagenic Escherichia coli isolated from stools of sporadic cases of diarrheal illness in Osaka City, Japan between 1997 and 2000: prevalence of enteroaggregative E. coli heat-stable enterotoxin 1 gene-possessing E. coli. Jpn J Infect Dis; 2002; 55; 183-190.

24. Okeke IN, Ojo O, Lamikanra A.Etiology of Acute Diarrhea in Adults in Southwestern Nigeria. J. Clin. Microbiol; 2003; 41; 4525–4530.

25. Valentiner-Branth P, Steinsland H, Fischer TK.Cohort study of Guinean children: incidence, pathogenicity, conferred protection, and attributable risk for enteropathogens during the first 2 years of life. J. Clin. Microbiol; 2003; 41; 4238-4245.

26. Van Pelt W, De-Wit MA, Wannet WJ. Laboratory surveillance of bacterial gastroenteric pathogens in The Netherlands, 1991-2001. Epidemiol Infect; 2003; 130; 431-441.

27. Salmanzadeh-Ahrabi S, Habibi E, Jaafari F, Zali MR. Molecular epidemiology of Escherichia coli diarrhoea in children in Tehran. Ann. Trop. Paediatr; 2005; 25;35-39.

28. Casalino M, Yusuf MW, Nicoletti M. A two-year study of enteric infections associated with diarrhoeal diseases in children in urban Somalia. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg; 1988; 82; 637-641.

29. Echeverria P, Orskov F, Orskov I. Attaching and effacing enteropathogenic Escherichia coli as a cause of infantile diarrhea in Bangkok. J. Infect. Dis; 1991; 164; 550-554.

30. Vine MM, Prado V, Robins-Browne R. Use of DNA probes and Hep-2 cell adherence assay to detect diarrheagenic Escherichia coli. J Infect Dis; 1988; 158; 224-228.

31. Gomes TAT, Rassi V, MacDonald KL. Enteropathogens associated with acute diarrheal disease in urban infants in São Paulo, Brazil. J Infect Dis; 1991; 164; 331-337.

32. Rees JR, Pannier MA, McNees A. Persistent diarrhea, arthritis, and other complications of enteric infections: a pilot survey based on California Food Net surveillance, 1998-1999. Clin. Infect. Dis; 2004; 38; Suppl 3, S311-317.

33. Saporito L, Colomba C, Scarlata F. Clinical and microbiological features of Salmonella gastroenteritis in children. Infez. Med. Mar; 2007; 15; 24-29.

34. Al-Gallas N, Bahri O, Bouratbeen A. Etiology of Acute Diarrhea in Children and Adults in Tunis, Tunisia, with Emphasis on Diarrheagenic Escherichia coli: Prevalence, Phenotyping, and Molecular Epidemiology. Am J Trop Med Hyg; 2007; 77; 571-582.

35. Stutman HR. Salmonella, Shigella, and Campylobacter: common bacterial causes of infectious diarrhea. Pediatr Ann; 1994; 23; 538-543.

36. Hassanzadeh P, Motamedifar M. Occurrence of Campylobacter jejuni in Shiraz, Southwest Iran. Med. Princ. Pract; 2007; 16; 59-62.

37. Fernandez H. Thermotolerant Campybacter species associated with human diarrhea in latin Ameica. J. Braz. Ass. Adv. Sci; 1992; 44; 39-43.

38. Fernandez H, Kahler K, Salazar R. Prevalence of thermotolerant species of Campylobacter and their biotypes in children and domestic birds and dogs in Southern Chile. Rev Inst Med Trop; 1994; 36; 433-436.

39. Feizabadi MM, Dolatabadi S, Zali MR. Isolation and drug-resistant patterns of Campylobacter strains cultured from diarrheic children in Tehran. Jpn. J. Infect. Dis; 2007; 60; 217-219.

40. Hassanzadeha P, Motamedifar M. Occurrence of Campylobacter jejuni in Shiraz, Southwest Iran. Med Princ Pract; 2007; 16; 59-62.