

طغیان های غذایی ناشی از شیگلا و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آن در ایران

حسین معصومی اصل^۱، سمانه مطلبی^۲، محمد مهدی سلطان دلالت^{۳*}، عباس رحیمی فروشانی^۴، محمد کاظم شریفی یزدی^۵، نوشین عقیلی^۶، زهرا رجبی^۷

۱. دانشیار، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران و مرکز مدیریت بیماری ها، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی
۲. دانشجوی دوره کارشناسی ارشد، بخش میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳. استاد، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی و بخش میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴. دانشیار گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۵. استاد، مرکز تحقیقات بیماری های مشترک انسان و دام (زئونوز) و بخش میکروب شناسی، گروه علوم آزمایشگاهی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
۶. کارشناس مرکز مدیریت بیماری ها، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی
۷. کارشناس مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

* نشانی برای مکاتبه: مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران، تلفکس: ۰۲۱۸۸۹۹۲۹۷۱، msoltandallal@gmail.com
دریافت مقاله: اردیبهشت نود و سه پذیرش برای چاپ: تیر نود و سه

چکیده

سابقه و هدف: شیگلا یکی از مهم ترین عوامل طغیان های منتقله از غذا در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه می باشد. آگاهی از الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی میکروارگانیسم ها برای درمان بیماری های منتقله از غذا حائز اهمیت است، لذا هدف از این تعیین شایع ترین سروتیپ شیگلا های ایجاد کننده طغیان های ناشی از بیماری های منتقله از غذا در ایران و دست یابی به الگوی مقاومت دارویی آن ها می باشد.

روش کار: در این مطالعه توصیفی در طی یک سال، مجموعاً تعداد ۳۰۵ نمونه مدفوع به دست آمده از افرادی که دارای علائم بالینی یک سان (اسهال، تب و درد شکم) متعاقب مصرف غذای آلوده مبتلا به اسهال شده بودند بررسی گردید. تمامی نمونه ها از نظر کشت میکروبی، سروگروپینگ و آنتی بیوگرام بررسی شدند.

یافته ها: از میان ۳۰۵ نمونه بررسی شده در بین استان های مختلف، نوع شیگلا ۶/۹٪ از کشت های مثبت را به خود اختصاص دادند. شایع ترین گونه شیگلا سونئی با (۷۱/۵٪) بود و استان یزد فراوان ترین موارد را با (۵۲/۳٪) در بر داشت. فراوانی شیگلا در فصل پائیز (۳۹٪) بیش از همه فصول بود. همه سروتیپ ها به سیپروفلوکساسین حساسیت کامل داشتند و به کوتریموکسازول مقاوم بودند.

نتیجه گیری: شیگلا ها یکی از مهم ترین عوامل ایجاد کننده طغیان بیماری های منتقله از غذا می باشند. آگاهی از نوع باکتری ایجاد کننده بیماری های منتقله از غذا و الگوی مقاومت دارویی آن در کاهش شیوع طغیان ها و هزینه های مصرفی درمان و بکارگیری اقدامات لازم جهت کنترل و پیش گیری حائز اهمیت است.

واژگان کلیدی: بیماری های منتقله از غذا، طغیان، شیگلا، حساسیت آنتی بیوتیکی

مقدمه

منظور ارتقاء سطح اطلاعات مصرف کنندگان در تلاش برای ارتقاء ایمنی مواد غذایی هستند (۲).

سازمان بهداشت جهانی بیماری های ناشی از مواد غذایی را به دو دسته تقسیم می کند: عفونت های منتقله از غذا (Foodborn infection) و مسمومیت های منتقله از غذا (Foodborn intoxication or Food poisoning). هم چنین اگر دو نفر یا بیشتر از یک منبع غذایی یا آشامیدنی مشترک استفاده کرده و علائم بیماری مشترکی داشته باشند، یک طغیان غذایی رخ داده است (۳). علل شایع بیماری های منتقله از غذا

پدیده جهانی شدن و افزایش مسافرت ها و توسعه گردش گری و هم چنین افزایش مصرف غذا در خارج از منزل، بیماری های منتقله از غذا را به عنوان یک مشکل بهداشتی جهانی مطرح کرده است. بیماری های منتقله از غذا از مهم ترین مشکلات سلامت عمومی به شمار می روند و همه ساله موجب ابتلاء و مرگ و میر تعداد قابل توجهی از مردم می شوند (۱). ایمنی مواد غذایی از بخش های مهم سلامت جامعه بوده و امروزه دولت ها به دلیل افزایش مشکلات ناشی از ایمنی مواد غذایی و به

به دمای اطاق برسد سپس از لام ها و پبیت های استریل استفاده کرده و یک قطره از هر آنتی سرم (بهار افشان) بر روی لام ریخته و جهت کنترل، یک قطره سرم فیزیولوژی بر روی لام دیگری قرار داده و به وسیله لوب مقداری از پرگنه مشکوک (کشت تازه ۱۶ تا ۱۸ ساعته)، رشد یافته بر روی محیط های غیر مھاری نظیر (TSI) را در قطره آنتی سرم و جداگانه در قطره کنترل برده، کاملا حل کرده به طوری که یک قطره سوسپانسیون غلیظ و یکنواخت بوجود آید لام را به صورت دورانی حرکت داده و واکنش قبل از ۳۰ ثانیه در مقابل یک صفحه سیاه و مات بررسی شد. لخته شدن مشخص و یا آگلوتیناسیون کامل در این مدت، بدون مشاهده لخته در قطره کنترل باید به عنوان واکنش مثبت در نظر گرفته شود.

برای تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی بر روی نمونه های مثبت، تست آنتی بیوگرام به روش Disk Diffusion انجام گرف (۱۳). برای انجام این تست ابتدا ۳-۱ پرگنه را وارد محیط (Heart Infusion Broth. Difco) نموده و سپس این محیط در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت اینکوبه می گردد. آن گاه استفاده از یک محیط جدید Heart Infusion Broth کدورت محیط را با توجه به نیم مک فارلند تعیین کرده سپس توسط سوآپ استریل بر روی محیط مولر هینتون آگار به طوری که تمام سطح محیط را پوشش دهد کشت داده شده سپس دیسک های آنتی بیوتیک (Rusco) بر روی محیط قرار داده شدن. دیسک های استفاده شده عبارتند از : سفیکسیم (5 mcg)، جنتامایسین (10 mcg)، سفتریاکسون (30mcg)، سیپروفلوکساسین (15mcg) ، کوتریموکسازول (10 mcg)، سفالتکسین (30 mcg)، کلیندامایسین (2 mcg) ، سفوتاکسیم (30mcg)، آمپی سیلین (10 mcg)، آمیکاسین (30 mcg) نالیدیکسیک اسید (30mcg)، تتراسایکلین (30mcg). برای تفسیر قطر هاله عدم رشد از جداول CLSI استفاده گردید (۱۴).

یافته ها

در این بررسی از میان ۳۰۵ نمونه اسهال ناشی از طغیان کشوری مورد مطالعه، ۲۱ شیگلا (۶/۹٪) ایزوله شد. در میان شیگلا های جدا شده پس از انجام سروتایپینگ بیش ترین سروتیپ مربوط به شیگلا سونئی با فراوانی (۷۱/۴٪) و سپس شیگلا فلکسنری با ۶ ایزوله (۲۸/۶٪) بود. در این مطالعه ما شاهد سروتایپ دیسانتری و بوبدی نبودیم. در میان استان های مورد بررسی بیش ترین درصد شیوع شیگلوز عامل طغیان منتقله از غذا مربوط به استان یزد (۵۲/۳٪) در شهرستان های صدوق (۲۸/۵٪) و میبد یزد (۲۳/۸٪) بود و شهرستان بهار همدان با (۲۳/۸٪) و قم با (۱۹٪) و گلوگاه مازندران با (۴/۵٪) بیش ترین آمار مربوط به طغیان در شهرستان ها را داشتند.

فراوانی موارد شیگلای جدا شده با توجه با آب و هوای مناطق مختلف کشور، در ۳ فصل بهار (۳۳/۵٪)، تابستان (۲۸/۵٪) و پائیز (۳۸٪) نزدیک بهم بود. در فصل زمستان هیچ شیگلایی جدا نشد. همه سروتیپ های شیگلا به سیپروفلوکساسین حساس و به کوتریموکسازول مقاوم بودند (نمودار ۱).

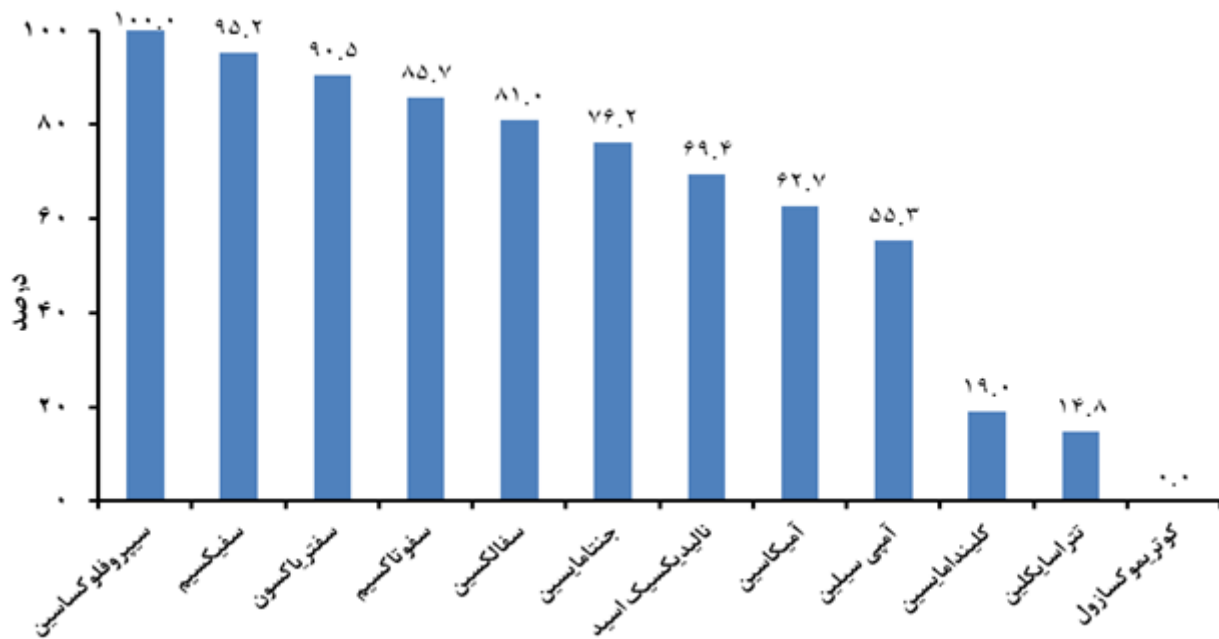
شامل باکتری ها، سموم باکتریایی، ویروس ها و انگل ها هستند (۵۰۴). از میان این عوامل، شایع ترین عامل باکتری ها هستند، چراکه اقدامات نامناسب برای تهیه و جایجایی غذا باعث آلودگی، بقاء و رشد باکتری های بیماری زا می گردد. آلودگی مواد غذایی بار عظیم اجتماعی و اقتصادی را بر سیستم های بهداشت و درمان اعمال می کند در نتیجه تامین سلامت غذا در کنار تلاش برای تهیه غذا از اهمیت زیاد برخوردار است (۷۰).

شیگلا ها یکی از مهم ترین عوامل باکتریایی ایجاد کننده طغیان های منتقله از غذا می باشند. عفونت های شیگلای شایع ترین شکل از دیسانتری اپیدمیک و از علل مهم ایجاد اسهال در کشور های در حال توسعه می باشند که این میزان چند هزار بار بیشتر از میزان آن در ایالات متحده می باشد. مهم ترین راه انتشار بیماری از یک فرد به فرد دیگر می باشد و بروز بیماری اغلب در نتیجه تماس نزدیک ایجاد می شود (۸). بیماری شیگلوزیس با منبع غذایی بیش تر در ماه های گرم سال در مناطق معتدل و در آب و هوای گرمسیری در فصل بارندگی رخ می دهد. میزان ابتلا در هر دو جنس زن و مرد به یک میزان است و در اطفال در سنین قبل از دبستان شیوع بیش تری دارد و این عفونت در مناطق با بهداشت پائین شایع تر بوده و آب و غذای آلوده مهم ترین منبع عفونت محسوب می گردد (۹-۱۱).

در این بررسی با توجه به اهمیت آلودگی های ناشی از شیگلا ها در مواد غذایی و ایجاد طغیان در بین مصرف کنندگان، طغیان های منتقله از غذا با منشاء شیگلا، و شایع ترین سروتیپ ها و مقاومت های دارویی آن ها با روش کشت میکروبی مورد مطالعه قرار گرفت.

روش کار

این مطالعه به صورت توصیفی در مدت یک سال بر روی ۳۰۵ نمونه ارسالی دارای علائم بالینی یک سان (اسهال، تب و درد شکم) از استان های مختلف ایران به آزمایشگاه رفرنس میکروب شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران جهت تشخیص و تایید وقوع طغیان های منتقله از غذا برای جداسازی و تعیین سروتیپ های مختلف شیگلا انجام گرفت. تمامی نمونه ها بصورت سوآپ مدفوع در زنجیره سرد روز بعد از طغیان از مرکز بهداشت شهرستان که طغیان رخ داده بود به آزمایشگاه ارسال می شد. جهت جداسازی شیگلا در روز اول سوآپ تمامی نمونه ها بر روی محیط های هکتون انتریک آگار و (Scharlau) XLD کشت خطی داده و به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری در دمای ۳۷°C شد، در روز دوم محیط های کشت داده شده بررسی شد و کلنی های مشکوک، (کلنی های سبز رنگ روی محیط هکتون انتریک آگار و قرمز رنگ روی محیط XLD) انتخاب و بر روی محیط های کشت افتراقی نظیر (TSI (Biolife) ، SIM (Merck) ، Urea(Scharlau) ، MRVP (Merck)، Citrate(Scharlau) کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷°C گرماگذاری شدند. در روز سوم واکنش های مربوط به شیگلا بر روی محیط های افتراقی کشت داده شده بررسی و با جداول تشخیصی انتروباکتریاسه (۱۲) مقایسه و نهایتا جهت تایید بیش تر از کیت API-20E استفاده گردید. در نهایت برای انجام آزمون سروتایپینگ، می بایست آنتی سرم ها از قبل از یخچال بیرون آورده شده و



نمودار ۱: درصد حساسیت به انواع آنتی بیوتیک ها

توسعه یافته دانسته که مقاوت آنتی بیوتیکی در میان همه گونه ها تقریباً یک سان و همگی گونه ها به جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، سفتریاکسون و آمپی پنم حساس و به کوتریموکسازول ۷۰ درصد، تتراسایکلین ۶۶ درصد و به آمپی سیلین ۲۰ درصد مقاوم بودند (۱۹). در کراچی پاکستان، در مطالعه ای بین سال های ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۳، از بین ۴۶۸۸ نمونه کشت مدفوع افراد مبتلا به اسهال، ۴ درصد عفونت ناشی از باکتری شیگلا گزارش شده بود که از این تعداد ۵۸ درصد مربوط به شیگلا فلکسنری، ۱۶ درصد شیگلا سونئی، ۱۵ درصد شیگلا بوئیدی و ۱۱ درصد شیگلا دیسانتری بودند. ۱۰۰ درصد ایزوله ها به سفتریاکسون حساسیت نشان داده و بیشترین مقاومت مربوط به کوتریموکسازول (۸۷/۷۵ درصد) و آمپی سیلین (۵۵/۵ درصد) گزارش شد (۲۰). در مطالعه ای که Nygren و هم کارانش (۲۱) در مورد طغیان های منتقله از غذا با منبع شیگلاها در ایالات متحده آمریکا، بین سال های ۱۹۹۸ تا ۲۰۰۸ انجام دادند، اعلام کرد ۵۸٪ شیوع شیگلوزهای منتقله از غذا، وابسته به رستوران ها و غذاهای تجاری آماده توزیع و غذاهای آماده پخش در نهادها بوده و بیشترین سروتیپ جداسازی شده مربوط به شیگلا سونئی می باشد. Xiao و هم کارانش (۲۲) در بررسی یک طغیان منتقله از غذا در یک مدرسه با تعداد ۱۳۴۱ دانش آموز در جنوب غربی چین ۹۳۷ دانش آموز با علائم بالینی یک سان (اسهال، تب و درد شکم) یافتند که پس از بررسی های بیشتر تر و انجام آزمون های کشت میکروبی از نمونه های مدفوع ۳۳۷ نفر آن ها شیگلا سونئی را جدا کردند. هم چنین مقاومت آنتی بیوتیک در سطح بالا در میان گونه های شیگلا مشاهده شد. در یک مطالعه در کشور ایتالیایی (۲۳) شیگلا فلکسنری با شیوع ۵۴ درصدی، شایع ترین گونه جدا شده از کشت مدفوع بود. در برابر آنتی بیوتیک های

بحث

طغیان های ناشی از بیماری های منتقله از غذا با تظاهرات بالینی (اسهال، تب و درد شکم) در اثر گونه های مختلف باکتری شیگلا و افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در نقاط مختلف دنیا به عنوان یک مشکل اساسی مطرح می باشد. اطلاع از حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی برای درمان نقشی اساسی دارد. در یک بررسی در آمریکا میزان مقاومت به کوتریموکسازول از ۳ درصد در سال ۱۹۸۳ به ۲۱ درصد در سال ۱۹۸۵ افزایش نشان می دهد (۱۵). تحقیقات گذشته نگر بین سال های ۲۰۰۰-۱۹۹۶ در تایلند بر روی نتایج نمونه های کشت مدفوع ۹۹۱۴ کودک زیر ۱۵ سال، نشان دهنده ابتلاء ۵/۳ درصد کودکان به شیگلوزیس بوده که شیگلا سونئی به میزان ۶۲/۸ درصد شایع ترین گونه بوده است و حساسیت آنتی بیوتیکی به کوتریموکسازول ۲/۳ درصد، آمپی سیلین ۸۴ درصد و سیپروفلوکساسین ۱۰۰ گزارش شده است (۱۶). سلطان دلال و هم کاران در بررسی های که در سال ۲۰۰۳ بر روی کودکان زیر ۱۲ سال بستری در یک بیمارستان در تهران انجام داده بودند شیگلا سونئی را گونه شایع در بین افراد معرفی کرده که ۹۴ درصد از گونه های شیگلا سونئی مقاوم به کوتریموکسازول بودند (۱۷). در بررسی هایی که Samba-Ba و هم کارانش در بین سال های ۲۰۰۱ تا ۲۰۱۰ در سنگال انجام دادند گونه شیگلا فلکسنری را بعنوان گونه غالب شناخته که بطور کلی شیوع گونه های شیگلا در مناطق گرمسیری و در فصول بارانی بیشتر بوده و ۹۵ درصد گونه ها به کوتریموکسازول و ۶۰ درصد به آمپی سیلین و ۵۵ درصد به تتراسایکلین مقاومت نشان داده و تنها ۱۰ درصد گونه ها به سفالوسپورین ها مقاوم بودند (۱۸). Akçali و هم کارانش شیگلا سونئی را یکی از شایع ترین عوامل گاستروانتریت های عفونی در کشورهای در حال توسعه و

ندارد و هم چنین در مطالعات مختلف حساسیت بالا به سیپروفلوکساسین و نسل سوم سفالوسپورین ها گزارش شده است (۲۳،۲۰،۱۸،۱۶) که با مطالعه ما مطابقت دارد. در مورد حساسیت آنتی بیوتیکی به نسل سوم سفالوسپورین ها، بررسی های انجام شده در کشورهای صنعتی در سال های اخیر نتایج مشابهی را ارائه می دهد (۱۵،۱۰،۹). بنابراین اگرچه حساسیت و مقاومت نسبت به بعضی از آنتی بیوتیک ها تشابهاتی را در نقاط مختلف دنیا نشان میدهد، اما تفاوت قابل ملاحظه در اکثریت مناطق و زمان های مختلف غیر قابل انکار است.

نتیجه گیری

شیگلا سونئی در ایران، مانند سایر کشورهای در حال توسعه یکی از عوامل اصلی در وقوع طغیان های منتقله از آب و غذا می باشد. اگرچه در این تحقیق بالاترین حساسیت مربوط به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین بود اما به دلیل خطر ایجاد عوارض مفصلی، مصرف آن در سنین زیر ۱۸ سال توصیه نمی شود. درمان آنتی بیوتیکی غیر ضروری باعث مقاومت دارویی شده و باید از آن پرهیز شود. پیش نهاد می شود که، به علت افزایش طغیان های ناشی از بیماری های منتقله از غذا، مطالعات دوره ای بر روی این قبیل بیماری ها، عوامل باکتریال ایجاد کننده و مقاومت های دارویی آن ها صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد ۲۰۳۴۵ مورخ ۹۲/۵/۷ می باشد. بدین وسیله از مدیریت اداره بیماری های منتقله از آب و غذا بخاطر هم کاری و هم اهنگی های همه جانبه در زمینه اطلاع رسانی به مراکز بهداشت شهرستان ها تشکر و قدردانی می گردد.

تتراسایکلین، کوتریموکسازول و آمپی سیلین ۷۵ درصد مقاومت وجود داشت و گونه های شیگلا ۱۰۰ درصد به جنتامایسین، ۹۷/۳ درصد به نالیدیسیک اسید حساسیت نشان دادند. Shiferaw و هم کاران (۲۴) برای دست یابی به الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی از میان ۱۳۷۶ گونه ی مختلف شیگلا های جدا شده در شبکه مراقبتی فعال بیماری های منتقله از غذا (FoodNet) که توسط آزمایشگاه های سیستم پیش مقاومت آنتی میکروبیال ملی (NARMS) در آمریکا بین سال های ۲۰۱۰-۲۰۰۰، مورد آزمایش قرار گرفته بودند، بیان کرد از ۱۱۱۸ مورد شیگلا، ۸۲۶ مورد آن ها (۷۴٪) به آمپی سیلین، ۶۴۹ مورد (۵۸٪) به استرپتومایسین، ۴۰۲ مورد (۳۶٪) به کوتریموکسازول، ۳۱۲ مورد (۲۸٪) به تتراسایکلین، ۱۹ مورد (۲٪) به نالیدیسیک اسید و ۶ مورد (۰/۵٪) به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند. بنابر این در بین ۲۵٪ از کل نمونه های شیگلا مقاومت به کوتریموکسازول و آمپی سیلین مشاهده شد و ۵٪ به سه داروی کوتریموکسازول، آمپی سیلین و کلرامفنیکل مقاوم بودند و تنها در کمتر از ۵٪ کل نمونه ها دارای مقاومت چند دارویی بودند. Nandy و هم کارانش (۲۵) در مطالعه ای که بر روی بیماری های منتقله از غذا در هندوستان از سال ۲۰۰۹ تا ۲۰۱۰ انجام دادند شیگلا را بعنوان یکی از علل عمده بیماری های منتقله از غذا معرفی کرده و اظهار داشتند که شیگلا فلکسنری و شیگلا دیسانتری گونه غالب در مناطق استوایی بوده و شیگلا سونئی در کشورهای صنعتی نسبت به کشورهای در حال توسعه بیشتر رخ می دهد و بیماری خفیف تر از شیگلا دیسانتری و فلکسنری ایجاد می گردد. در مطالعات انجام گرفته در کشورهای صنعتی (۲۲،۲۱،۱۱،۱۰) شیگلا سونئی به تنهایی شایع ترین گونه از شیگلا بوده در حالی که در کشورهای در حال توسعه (۲۳،۲۰،۱۷،۱۶) و هم چنین در مطالعه حاضر شیگلا سونئی و شیگلا فلکسنری در مجموع بیش ترین موارد را تشکیل می دهند. از نظر مقاومت آنتی بیوتیکی افزایش مقاومت به آمپی سیلین (۱۶ تا ۷۵ درصد) تتراسایکلین (۶۴ تا ۷۵ درصد) و کوتریموکسازول (۲۱ تا ۱۰۰ درصد) در تحقیقات اشاره شده در کشورهای مختلف مشاهده گردیده است که تفاوت چندانی با مقاومت های آنتی بیوتیکی در مطالعه ما

REFERENCES

1. Newell DG , Koopmans M , Verhoef L, Duizer E, Aidara-Kane A, Sprong, et al. foodborn disease the challenge of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. Int J Food Microbiol. 2011; 145 (2 – 3): 493 – 498
2. Potter ME, Tauxe RV, Epidemiology of foodborne disease: Tools and application word – health Q. 1997; 50 (1-2): 9 – 24
3. Guidelines for strengthening a National Food Safety program: WHO/FNU/FOS. 1996; (2): 96
4. Baldursson S, Karanis P . Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreak – An update 2004 – 2010. Water Research .2011; 45: 6603 – 6614

5. Koek AG, Bovée L, Hoek VD, Bos AG. Additional value of typing Noroviruses in gastroenteritis outbreaks in Amsterdam, The Netherlands Original Research Article Journal of Clinical Virology. 2006; (35): 167-172
6. Greig G.j, Raval A. Analysis of foodborn outbreak data reported internationally for source attribution. Original Research Article. International journal of Microbiology. 2009; 130: 77 –87.
7. Norval J.C. Strachan , Michael P. Doyle , Kasuga F ,Rotariu O , Iain D .Dose response modelling of Escherchia coli O157 incorporating data from foodborn and environmental outbreak .Original Research Article. International journal of Food Microbiology. 2005; 103: 35 – 47.
8. World Health Organization Division of Diarrhoeal and Acute Respiratory Disease Control. Integrated management of the sick child. Bull W.H.O. 1995;73:735-40
9. Deniss K, Eugene B, Anthony SF. Harrison,s Principles of Internal Medicin, 17 th ed, McGraw-Hill companies New york: USA, 2008; 902-6.
10. Gerald LM, John EB, Raphael DM. Douglas, and Bennett,s Principles and Practics of infectious diseases, 7 th ed, churchill livingstone company. Philadelphia: USA, 2009;2363-8.
11. Richard EB, Robert MK, Hal BJ. Nelson Textbook of Pediatrise, 19 th ed, Saunders company. Philadelphia: USA, 2011;912-20.
12. Sagha HR. Comprehensive Textbook Of Laboratory Equipments & Diagnostic Products, 1th ed, Iranian Laboratory Development Corporation (Behima-Teb). 2002;2:2224-227.
13. www.cdc.gov/lab/disk diff.htm, Disk Diffusion Susceptibility Testing .2007.
14. www.CLSI.org. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition. Table 2A Enterobacteriaceae M02 and M07. 2012;32(3):44-60
15. Griffin PM, Tauxe RV, Redd SC, Puhr ND, Hargrett-Bean N, Blake PA. Emergence of highly trimthoprim-sulfamethoxazol-resistant, Shigella in a native American population Epidemiologic study. J Epidemiol. 1989;129(5):1042-51.
16. Hiranrattana A, Mekmullica J, Chatsuwana T, Pancharoen C, Thisyakorn U. Childhood shigellosis at King Chulalongkorn Memorial Hospital bankok, Thiland: a 5-years review (1996-2000). Southeast Asian J Top med public Health. 2005 36(3):683-5.
17. Ranjbar R, Soltan Dallal MM, Talebi M, Pourshafie MR .Increased isolation and characterization of Shigella sonnei obtained from hospitalized children in Tehran, Iran.J Health Popul Nutr. 2008 ;26(4):426-30.
18. Sambe-Ba B, Seck A, Wane AA, Fall-Niang NK, Gassama-Sow A .Sensitivity to antibiotics and genetic support to resistance of Shigella flexneri strains isolated in Dakar from 2001 to 2010. Bull Soc Pathol Exot. 2013;106(2):89-94.
19. Akçali A, Levent B, Akbaş E, Esen B .Typing of Shigella sonnei strains isolated in some provinces of Turkey using antimicrobial resistance and pulsed field gel electrophoresis methods]. Mikrobiyol Bull. 2008;42(4):563-72.

20. Zafar A, Sabir N, Bhutta ZA. Frequency of Isolation of shigella serogroup/serotypes and their antimicrobial susceptibility pattern in children from slum areas in Karachi. *J Pak Med Assoc.* 2005;55(5):184-8
21. Nygren BL, Schilling KA, Blanton EM, Silk BJ, Cole DJ, Mintz ED. Foodborne outbreaks of shigellosis in the USA, 1998-2008. *Epidemiol Infect.* 2012;24:1-9
22. Xiao GG, Fan J, Deng JJ, Chen CH, Zhou W, Li XH. A school outbreak of *Shigella sonnei* infection in China: clinical features, antibiotic susceptibility and molecular epidemiology. *Indian Pediatr.* 2012;49(4):287-90.
23. Asrat D. shigella and salmonella serogroup and their antibiotics susceptibility patterns in Ethiopia. *East mediterr Health J.* 2008;14(4):760-7.
24. Shiferaw B, Solghan S, Palmer A, Joyce K, Barzilay EJ, Krueger A, Cieslak P. Antimicrobial susceptibility patterns of *Shigella* isolates in Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet) sites, 2000-2010. *Clin Infect Dis.* 2012 Jun;54 Suppl 5:S458-63.
25. Nandy S, Dutta S, Ghosh S, Ganai A, Rajahamsan J, Theodore RB, et al. Foodborne-associated *Shigella sonnei*, India, 2009 and 2010. *Emerg Infect Dis.* 2011;17(11):2072-4.