مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۱۷، شماره ٤، پاییز ۱۳۸۸
صفحه ۲۸٤-۲۷۹

Journal of Shaheed Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 17, No 4, Autumn 2009
Pages: 279-284

شناسایی سویه‌های اشریشیاکلی حاوی ژن توکسین شیگا در نمونه‌های اسهال کودکان زیر ۵ سال

ابوالفضل اکبری[۱]، دکتر محمدرضا پورمند[۲]، فاطمه فرد صانعی[۳]، نادیا مردانی[٤]، دکترمحمد مهدی سلطان دلال*[۵]

۳،۱ -کارشناس ارشد میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴،۲- کار شناس میکروب شناسی ، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۵ - استاد میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۳/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۷/۲

چکیده

مقدمه: اشریشیاکلی تولید کننده توکسین شیگا(STEC) از باکتری های نوظهور در کشورهای در حال توسعه می باشد که طیف متنوعی از بیماری ها از اسهال تا سندرم اورمی همولیتیک(HUS) را سبب می شود. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی این سویه ها در اسهال کودکان و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آنها بود.

روش بررسی: ۳۰۰ نمونه مدفوع از اسهال کودکان زیر ۵ سال از بیمارستان علی اصغر(ع) شهر تهران جمع‌آوری و با کمک تست-های باکتری‌شناسی گونه‌های اشریشیاکلی جداسازی شدند. وجود ژن‌های توکسین شیگا (stx1/2) با تکنیک PCR (Qiagen) مورد بررسی قرار گرفت. تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌ها با تست آنتی بیوگرام به روش انتشار دیسک ۱۶ آنتی‌بیوتیک مختلف(MAST) صورت گرفت.

نتایج: از ۳۹ مورد اشریشیاکلی جدا شده، ۹ سویه(۲۳/۱٪) حاوی ژن توکسین شیگا بودند. ۴(۴۴/۴٪) سویه الگوی مقاومت به چند دارو را نشان دادند و ۶ سویه(۶۶/۶٪) حداقل به یکی از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بودند. سویه‌های اخیر همگی به کوتر یموکسازول(SxT) مقاوم بودند.

نتیجه‌گیری: اشریشیاکلی تولیدکننده شیگاتوکسین(STEC) از عوامل باکتریایی متداول در ایجاد اسهال بویژه در کودکان در کشور ما مطرح بوده و در عین نوظهور بودن این سویه‌ها، پیدایش سریع و روز افزون سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌های کلاسیک نظیر کوتریموکسازول چندان دور از انتظار نمی‌باشد. لذا تشخیص دقیق این سویه‌ها و اصلاح برنامه تجویز آنتی بیوتیک‌ها در درمان اسهال ناشی از اشریشیاکلی پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اشریشیاکلی تولید کننده توکسین شیگا(STEC)، اسهال، کودکان، مقاومت آنتی بیوتیکی

*نویسنده مسئول؛ تلفن:۰۲۱۸۸۹۹۲۹۷۱ ؛ آدرس الکترونیکی: soltanirad34@yahoo.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

مقدمه

اشریشیاکلی انتروهموراژیک (EHEC) که گاهی از آن تحت عنوان اشریشیاکلی تولید کننده توکسین شیگا(STEC) و یا اشریشیاکلی تولید کننده ورو توکسین(VTEC) یاد می‌شود به عنوان عامل اسهال خونی، کولیت هموراژیک (HC)، میکروآنژیوپاتی ترومبوتیک یا سندرم اورمیک هموراژیک (HUS) و پورپورای ترومبوتیک ترومبوسیتوپنیک(TTP)، بویژه در بین کودکان، شناخته شده است. این عوارض در موارد شدیدتر می‌توانند حتی به مرگ منجر شوند(۱). از خصوصیات اصلی سویه‌های STEC، تولید توکسین‌های شیگای نوع یک یا دو STX1 و STX2 (یا وروتوکسین‌های VT1 و VT2) می‌باشد که مهمترین عامل در بیماری زایی شناخته شده‌اند. این توکسین‌ها به ترتیب توسط ژن‌های stx1 وstx2 رمزدهی می‌شوند(۱،۲). عفونت‌های انسانی STEC بعلت توانایی در ایجاد بیماری شدید در بسیاری از کشورها بعنوان مشکل بهداشت عمومی مد نظر قرار گرفته است، از این رو به پیشگیری از شیوع و گسترش این پاتوژن‌ها توجه ویژه‌ای معطوف داشته‌اند(۳).

یکی از عمده‌ترین مشکلات شناسایی EHEC این است که این سویه‌ها در بسیاری از خصوصیات مشابه سویه‌های کومنسال اشریشیاکلی(E.coli) می‌باشند. علاوه بر این، سویه های EHEC اغلب تعداد اندکی از کلی فرم‌های موجود در فلور طبیعی مدفوع بیماران را شامل می‌شوند(۴،۳). این ویژگی‌ها و در کنار آن عدم وجود تست‌های تشخیصی مناسب در آزمایشگاه‌ها موجب شده تا این سویه‌ها اغلب از نظر دور بمانند. تنها روش شناسایی دقیق تمام انواع سویه‌های EHEC، شناسایی ژن‌های رمزدهنده STX1 و STX2 یا ژن‌های دخیل در تولید آنها می‌باشد(۵،۴). اکثر روش‌های متداول جهت بررسی وجود سویه‌های EHEC در نمونه‌های غذایی و مدفوع شامل تکنیک‌های مبتنی بر DNA می‌باشند. تکنیک PCR بطور روز افزون و بعنوان یک روش بسیار حساس جهت شناسایی سویه‌های EHEC در نمونه‌های غذایی و مدفوع مورد استفاده قرار می‌گیرد(۵).

نظر به گسترش عفونت‌های انسانی ناشی از انواع سروتایپ‌های EHEC در کشورهای در حال توسعه و افزایش احتمالی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها، در راستای افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی سایر باکتری‌های بیماری‌زا و با توجه به عوارض شدیدی که این سویه‌ها در انسان بویژه کودکان موجب می‌شوند، اهمیت غربالگری آنها در اسهال و سایر عفونت‌های گوارشی واضح می‌باشد. این مطالعه با هدف بررسی فراوانی این سویه‌ها در اسهال کودکان و انجام آزمون تعیین حساسیت آنتی‌میکروبی آنها در جهت درمان بموقع و مناسب بیماری و عدم پیشرفت عوارض آن انجام گرفت.

روش بررسی

در یک مطالعه توصیفی طی مدت ۴ ماه (از فروردین تا تیرماه۱۳۸۷)، ۳۰۰ نمونه مدفوع از اسهال کودکان زیر ۵ سال اعم از پسر یا دختر از بیمارستان علی اصغر(ع) شهر تهران به کمک سواب در محیط انتقالی کری- بلر جمع آوری و پس از ارسال به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، گونه‌های اشریشیاکلی با کمک کشت برروی محیط هکتون انتریک آگار(MERCK) و انجام تست‌های بیوشیمیایی استاندارد، جداسازی شدند. با توجه به شیوع ۴۰-۱۰ درصدی سویه‌های اشریشاکلی مولد اسهال(DEC) در اسهال کودکان زیر ۵ سال در سرتاسر جهان، جهت تعیین حجم نمونه‌گیری در این مطالعه از معادله زیر استفاده و با پیش بینی شیوع ۲۵ درصدی سویه‌های اشریشیاکلی تا ۳۰۰ نمونه مدفوع جمع‌آوری شد:

$$n=\frac{(t)^2\,(p)(q)}{d^2}=\frac{(۱,۹۶)^2(۰,۲۵)(۰,۷۵)}{(۰,۰۵)^2}=۲۸۸$$

استخراج DNA از سویه‌های E.coli: ۵ کلونی از کشت ۲۰ ساعته اشریشیاکلی برروی محیط نوترینت آگار، با ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل در میکروتیوب مخلوط شده و سوسپانسیون حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ظرف آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. ۳ میکرولیتر از مایع رویی(Supernatant) سوسپانسیون اولتراسانتریفیوژ شده در دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه، به عنوان DNAی الگو در آزمون PCR استفاده شد.

انتخاب جفت پرایمرها: در این مطالعه برای تکثیر ژن stx1/2 از جفت پرایمرهای Katia و همکاران(۶) استفاده شد تا در

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

صورت وجود یکی از توکسین‌های نوع یک یا دو، بتوان آنها را تنها در یک واکنش شناسایی کرد. محصول PCR ژن مورد نظر با این پرایمر، ۵۱۸ جفت باز بود.توالی جفت پرایمر مورد استفاده:

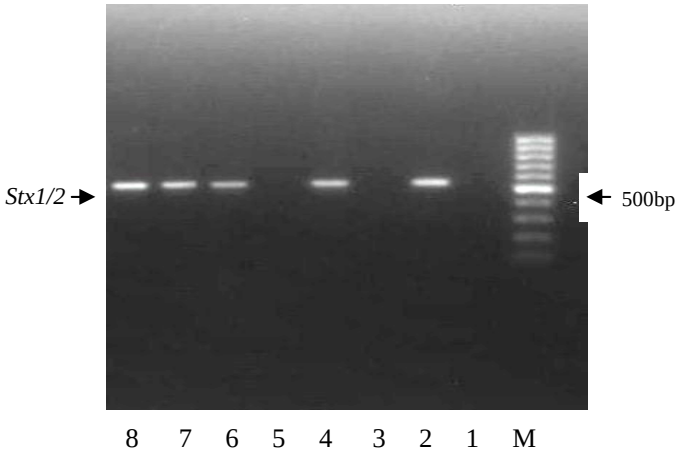
Stx1/stx2 F: 5-GAGCGAAATAATTTATATGTG-3

stx1/stx2 R: 5- TGATGATGGCAATTCAGTAT -3

تکنیک PCR : واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵میکرولیتر از Master Mix (حاوی ۴ میکرولیتر DNTP، ۳ میکرولیتر بافر PCR، ۱میکرولیتر MgCl2 و ۰/۱ واحد آنزیم DNA Taq Polymerase)، ۲/۵ میکرولیتر از Coral Load، ۵ میکرولیتر از آب مقطر DNase free (Qiagen)، ۳ میکرولیتر از DNAی الگو و ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها(فوروارد و ریورز) بود. مراحل برنامه تکثیر ژن Stx1/2 در دستگاه ترموسایکلر شامل واسرشت اولیه(Denaturation) در ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه و ۳۵ چرخه شامل سه مرحله انکوباسیون در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، اتصال (Annealing) در ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و بسط(Extension) در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه و سپس یک مرحله بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه انجام گرفت.

در هر سری آزمایش، به منظور اطمینان از صحت روند کار و مواد واکنشگر و نیز بررسی ویژگی PCR، از سویه استاندارد E.coli ATCC 35218 به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر استریل برای کنترل منفی استفاده شد.

الکتروفورز محصول PCR : ۵ میکرولیتر از محصول PCR با الکتروفورز برروی ژل آگارز ۱٪ حاوی ۵ میکرولیتر رنگ اتیدیوم بروماید در بافر تریس بورات-EDTA (TBE) ۰/۵X و با جریان ۸۰ ولت آشکارسازی شد. تعیین هویت باندهای حاصل به کمک مقایسه با مارکر وزن مولکولی(Ladder) یک کیلوباز انجام شد. تهیه عکس از ژل با استفاده از دستگاه ترانس ایلومیناتور (GelDoc 1000 Bio-Rad system fluorescent imaging) در مجاورت نور ماورای بنفش صورت گرفت.



تصویر ۱- الکتروفورز محصول PCR ژن stx1/2 (518bp)

شماره M مارکر وزن مولکولی(ladder) bp ۱۰۰۰، شماره ۱ کنترل منفی، شماره ۲ E.coli ATCC 35218 کنترل مثبت و شماره‌های ۴ و ۶ و ۷ و ۸ نمونه‌های بالینی STEC در نهایت، تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های STEC با تست آنتی‌بیوگرام و با استفاده از روش انتشار در دیسک کربی- بایر (براساس دستورالعمل کمیته ملی استاندارهای آزمایشگاه بالینی) در مورد ۱۶ دیسک آنتی‌بیوتیکی مختلف (MAST) صورت گرفت(۷).

دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده شامل آنتی‌بیوتیک‌های کوتریموکسازول(SxT)،آموکسی سیلین(A)، تراسایکلین(TET)، سیپروفلوکساسین(CIPR)، استرپتومایسین(S)، نالیدیکسیک اسید(NAL)، کلیستین سولفات(C)، سفوتاکسیم(CTX)، ایمی پنم(IMI)، مروپنم(MRP)، سفالکسین(CFX)،سفتازیدیم(CAZ)، سفتریاکسون(CTR)، جنتامایسین(GEN) کلرامفنیکل(CO) و نیتروفورانتوئین(NI) بودند.

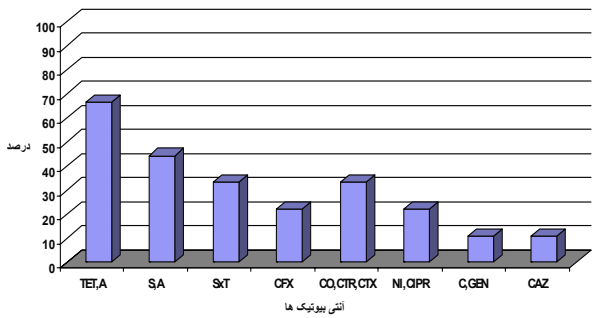
نتایج

۹ سویه از ۳۹ ایزوله اشریشیاکلی(۲۳/۱٪) دارای ژن توکسین شیگا بودند و با تکنیک PCR به عنوان سویه‌های STEC مورد تأیید واقع شدند. ۵ سویه متعلق به پسر بچه‌ها و ۴ سویه متعلق به دختر بچه‌های زیر ۵ سال بودند که از این میان ۳ سویه مربوط به کودکان زیر ۱ سال و ۶ سویه مربوط به کودکان بالای ۱ سال بود.

نتایج تست آنتی بیوگرام نشان داد که یک سویه (۱۱/۱٪) به طور

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

کامل به تمامی آنتی‌بیوتیک‌ها حساس می‌باشد. این سویه از یک دختربچه یک ساله جدا شد. تمامی سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی پنم(IMI)، مروپنم(MRP)، نیتروفورانتوئین(NI) و جنتامایسین(GEN) حساس بودند. ۴(۴۴/۴٪) سویه الگوی مقاومت به چند آنتی‌بیوتیک را نشان دادند. سویه‌های اخیر همگی به کوتری موکسازول(SxT) مقاوم بودند. مشخصات این سویه‌ها در جدول۱ آمده است. همچنین مشخص شد که ۶ سویه(۶۶/۶٪) حداقل به یکی از آنتی بیوتیک ها مقاوم می‌باشند(نمودار۱).



نمودار۱: درصد سویه های STEC مقاوم به آنتی‌بیوتیک های مختلف

جدول ۱: مشخصات سویه های STEC مقاوم به چند آنتی بیوتیک

آنتی‌بیوتیک‌ها	سن	جنس	شماره
SxT, C, NAL	۱۰ ماه	دختر	۱
SxT, S, TET, CTX, CTR, CFX, A, CAZ	۲ سال	دختر	۲
SxT, A, C, S	۵ ماه	دختر	۳
SxT, NAL, S, CIP	۲ سال	پسر	۴

بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر به نظر می‌رسد اشریشیاکلی تولیدکننده شیگاتوکسین(STEC) می‌تواند به عنوان یکی از عوامل باکتریایی متداول در ایجاد اسهال بویژه در کودکان در کشور ما مطرح باشد که بایستی برای شناسایی آنها از تکنیک‌های جدید و مبتنی بر DNA بهره گرفت. شناسایی سویه‌های STEC در موارد اسهال باکتریایی و متعاقب آن، تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها در کشور ما بویژه در جمعیت کودکان به چند دلیل ذیل می‌تواند حایز اهمیت زیادی باشد: ۱- پیدایش سروتایپ‌های بیماری‌زای جدید و در راستای آن مقاومت روزافزون این سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های کلاسیک، ۲- عدم وجود تکنیک‌های تشخیصی مناسب و متداول جهت شناسایی دقیق سویه‌های تولید کننده توکسین شیگا و تمایز آنها از میکروفلور طبیعی مدفوع و در نتیجه عدم توجه کافی به آنها، ۳- ایجاد طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها و عفونت‌ها و پیشرفت آنها به عوارض شدید سندرم اورمیک همولیتیک، کم خونی، نارسایی حاد کلیوی و حتی مرگ(۱).

در این راستا مطالعه ما با هدف شناسایی این سویه‌ها در کودکان زیر ۵ سال شهر تهران و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها به منظور پیشگیری، اتخاذ برنامه‌های درمانی مناسب و تجویز آنتی‌بیوتیک های مؤثر صورت گرفت.

با توجه به نتایج این مطالعه فراوانی STEC به عنوان عامل اسهال کودکان، ۳/۲٪(۹/۲۷۸)گزارش گردید. به عبارت دیگر، از ۳۹ ایزوله باکتری اشریشیاکلی، ۹ سویه (۲۳/۱٪)STEC با تست PCR شناسایی شدند که از این ۹ سویه، ۶ سویه از کودکان دختر و ۳ سویه از کودکان پسر جدا شدند.

در ایران، در مطالعه نهائی و همکاران در تبریز فراوانی اشریشیاکلی انتروهموراژیک ۳/۳٪ گزارش شد(۸) که با مطالعه ما (۳/۲٪) همخوانی دارد. صادقی فرد و همکاران در ایلام فراوانی این سویه‌ها را ۱/۷٪ گزارش نمودند(۹). اکثر مطالعات کشورهای دیگر نیز حاکی از فراوانی اندک این سویه ها نسبت به سایر عوامل اسهال می‌باشند(۱۰،۱۱). در مطالعهBahia (۱۲) و Prerea (۱۳) فراوانی این سویه‌ها در کودکان به ترتیب ۰/۶٪ و ۱/۸٪ گزارش شد. با این حال به علت اهمیت بالینی این سویه‌ها و ظهور سویه‌های بیماری زای جدید بایستی مدنظر قرار گیرند.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

در کشور ما مطالعات معدودی در زمینه تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های تولید کننده توکسین شیگا صورت گرفته است. در مطالعه نهائی حساسیت سویه‌های STEC به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، سفالکسین و سیپروفلوکساسین ۱۰۰٪ گزارش شد(۷). در حالیکه در مطالعه ما یک سویه مقاوم به سیپروفلوکساسین و دو سویه مقاوم به سفالکسین مشاهده شدند که می‌تواند هشداری برای افزایش تدریجی این سویه‌ها به آنتی بیوتیک های جدید باشد. در مطالعه حاضر یک سویه مقاوم به سفتازیدیم، یک سویه مقاوم به سفتریاکسون و یک سویه مقاوم به سفوتاکسیم مشاهده شدند. از این رو می‌توان انتظار داشت تا در آینده‌ای نزدیک درصد سویه‌های مقاوم به این آنتی‌بیوتیک‌ها نیز افزایش یابد.

هر چند یک سویه (۱۱/۱٪) به طور کامل به تمامی آنتی بیوتیک‌ها و تمامی سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی پنم(IMI)، مروپنم(MRP)، نیتروفورانتوئین(NI) و جنتامایسین(GEN) حساس بودند اما ۴(۴۴/۴٪) سویه، الگوی مقاومت به چند آنتی‌بیوتیک را نشان دادند. سویه‌های اخیر همگی به کوتری موکسازول(SxT) مقاوم بودند. از آنجایی که کوتری موکسازول از آنتی‌بیوتیک‌هایی می‌باشد که تا کنون به طور رایج جهت درمان عفونت‌های گوارشی ناشی از اکثر انتروباکتریاسه تجویز می‌شده است(۱۴)، نگرانی‌هایی در برنامه تجویز این آنتی‌بیوتیک در آینده پیش‌بینی می‌شود. همچنین گزارش شده است که این آنتی‌بیوتیک می‌تواند موجب افزایش تولید توکسین برخی سویه‌های STEC نظیر سروتایپ O157 شود، بنابراین استفاده از این آنتی‌بیوتیک در چنین مواردی می‌تواند حتی موجب تشدید بیماری شود(۱۵،۱۴). از این رو ضرورت تست تعیین مقاومت به آنتی بیوتیک ها در تجویز آنها بیشتر مشخص می شود.

با توجه به الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی بدست آمده در این مطالعه به نظر می‌رسد برنامه درمان آنتی‌بیوتیکی در موارد اسهال ناشی از STEC بایستی اصلاح شود. بدیهی است که تعیین دقیق الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی مستلزم بررسی سویه‌های بیشتری می‌باشد تا بتوان در این مورد به طور مطمئن تری قضاوت نمود که این مسئله انجام مطالعات گسترده‌تری را در سرتاسر کشور می‌طلبد.

نتیجه‌گیری

اشریشیاکلی تولیدکننده شیگاتوکسین(STEC) می‌تواند به عنوان یکی از عوامل باکتریایی متداول در ایجاد اسهال بویژه در کودکان در کشور ما مطرح باشد که بایستی برای شناسایی آنها از تکنیک‌های نوینی بهره گرفت. همچنین در عین نوظهور بودن این سویه‌ها، پیدایش سریع و روز افزون سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های درمانی رایج و کلاسیک نظیر کوتری موکسازول چندان دور از انتظار نمی باشد. از این رو تعیین تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آنها در برنامه درمان و تجویز آنتی‌بیوتیک‌ها و بالطبع عدم پیدایش سویه‌های مقاوم در آینده بسیار کارآمد خواهد بود.

سپاسگزاری

مجریان طرح لازم می‌دانند تا بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران که هزینه‌های طرح را فراهم نمودند صمیمانه سپاسگزاری و قدردانی شود. ضمناً این مقاله نتیجه بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد ۷۷۴۹ مورخ ۱۳۸۷/۱۱/۱۰ می‌باشد.

منابع:

1- Christian WO, Bertil K. ***Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC).*** Scandinavian J Infec Dise 2005; 37: 405-16.

2- Nataro JP, Kaper JB. ***Diarrhoeagenic Escherichia coli***. Clin Microbiol Rev . 1998;11:142-201.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

3- Paton JC, Paton AW. ***Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing Escherichia coli infections.*** Clin Microbiol Rev 1998; 11: 450-79.

4- Pulz M, Matussek A, Monazahian M, Tittel A, Nikolic E, Hartmann M, et al. ***Comparison of a Shiga toxin enzyme linked immunosorbent assay and 2 types of PCR for detection of Shiga toxin-producing Escherichia coli in human stool specimens.*** J Clin Microbiol 2003; 41:4671-5.

5- Welinder-Olsson C, Badenfors M, Cheasty T, Kjellin E, Kaijser B. ***Genetic profiling of enter hemorrhagic Escherichia coli strains in relation to clonality and clinical signs of infection***. J Clin Microbiol 2002; 40: 959-64.

6- Aranda KR, Fabbricotti SH, Fagundes-Neto U, Scaletsky IC. ***Single multiplex assay to identify simultaneously enteropathogenic, enteroaggregative, enterotoxigenic, enteroinvasive and Shiga toxin producing Escherichia coli strains in Brazilian children .*** FEMS Microbiol Lett 2007 Feb;267(2):145-50

7- Skov R, Frimodt-Moller N, Menday P, Espersen F. ***Susceptibility testing of urinary isolates of Escherichia coli to mecillinam using NCCLS methodology***. Int J Antimicrob Agents 2005 Mar;25(3):198-204.

8- Nahaei MR, Akbari Dibavar M, Sadeghi J, Nikvash S. ***Frequency of enterohaemorrhagic Escherichia coli isolated from patients with acute diarrhea in Tabriz hospitals***. Iranian J Medi Microbiol 2007; 1(3):39-46(Persian).

9- Sadeghifard NK, Aslani MM, Azizi Jalilian F, Sheikhian A***. Isolation, Verotoxin assay and serogrouping of Enterohemorrhagic E.coli (EHEC) strains in Ilam province***. J Shahid Sadoughi Uni Medi Sci Health Services 2002;10(1):48-53(Persian).

10- Olesen B, Neimann J, Bottiger B, Ethelberg S, Schiellerup P, Jensen C, et al. ***Etiology of diarrhea in young children in Denmark: a case-control study***. J Clin Microbiol 2005; 43(8):3636-41.

11 Ji-Rong Y, Fang-Tzy W, Jin-Lai T, Jung-Jung M, Ling-Fen L, Kuang-Lo C,et al. ***Comparison between O Serotyping Method and Multiplex Real-Time PCR to Identify Diarrheagenic Escherichia coli in Taiwan***. J Clin Microbiology 2007 Nov; 45(11):3620-5.

12- Bueris V, Sircili MP, Taddei CR,dos Santos MF,Franolin MR,Martinez MB et al. ***Detection of diarrheagenic Escherichia coli from children with and without diarrhea in Salvador, Bahia, Brazil***. Mem Inst Oswaldo Cruz 2007 Nov; 102(7):839-44.

13- Prerea MF , Cohen Bacriea S, Barona O***. Bacterial etiology of diarrhea in young children: high prevalence of Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) not belonging to the classical EPEC serogroups***. Patho Bio 2006; 54: 600-2.

14- Strockbine NA, Margues LR, Holmes RK, Brien AD. ***Characterization of monoclonal antibodies against shigalike toxin from Escherichia coli.*** Infec and Immunity 1985; 50:695-700.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

15- Karch H, Strockbine NA, O'Brien AD. ***Growth of Escherichia coli in the presence of trimethoprim–sulphamethoxazole facilitates detection of shiga like toxin producing strains by colony blot assay***. FEMS Microbiol Letters 1986; 35:141-5.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]