

## بررسی فراوانی عوامل ویرال و باکتریال در مدفوع کودکان مبتلا به اسهال در شهر شیراز

پروین حسن زاده و فرحانه آل یاسین ۲

### خلاصه

در این تحقیق تعداد ۲۲۰ نمونه مدفوع اسهالی کودکان مراجعه کننده به بیمارستان‌های دانشگاه علوم پزشکی شیراز در سنین ۳ الی ۱۲ ماهه و ۱۰۰ نمونه مدفوع کودکان سالم در همان سنین از نظر ویروس و باکتری مورد بررسی قرار گرفتند. از میکروسکپ الکترونی جهت تشخیص ویروس روتا و از روش‌های معمول باکتریولوژیک نیز جهت جدا کردن عوامل باکتریایی استفاده گردید. از مجموع نمونه‌های مورد مطالعه در ۱۱/۴٪ موارد (۲۵ مورد) روتاویروس دیده شد و بیشترین تعداد عامل باکتریایی متعلق به خانواده انتروباکتریاسه بود که در این خانواده گونه‌های اشریشیاکلی ۳۰٪ (۶۶ مورد)، کلبسیلا ۹/۵٪ (۲۱ مورد)، پروتئوس ۲/۲٪ (۵ مورد)، شیگلا ۱/۸٪ (۴ مورد) سالمونلا ۱۴٪ (۲۱ مورد)، عوامل باکتریایی مخلوط ۱۵/۴۵٪ (۳۴ مورد) و عوامل غیر باکتریایی - غیرویروسی ۱۴/۶٪ (۳۲ مورد) را به خود اختصاص دادند. آدنوویروس نیز در ۰/۹٪ (۲ مورد) نمونه‌های اسهالی مشاهده گردید. بیشترین میزان فراوانی روتاویروس در کودکان سنین بین ۷ الی ۹ ماهه در ماه‌های آبان و اردیبهشت دیده شد در حالی که بیشترین شیوع عوامل باکتریایی در کودکان سنین بین ۳ الی ۷ ماهه دیده شد.

واژه‌های کلیدی: عوامل ویرال، اسهال، کودکان، شیراز

### مقدمه

میلیون کودک زیر یک سال هر ساله در اثر اسهال عفونی از بین می‌روند (۱۱). در سال ۱۹۷۵ حدود ۵۰۰ میلیون مورد اسهال در کودکان آسیا، آفریقا و آمریکای لاتین اتفاق

اسهال مسأله جدی مناطق گرمسیری در سراسر دنیا است که سبب بیماری و مرگ و میر کودکان می‌گردد (۳، ۵، ۱۱، ۱۲، ۱۳). حدس زده می‌شود که بیش از چهار

افتاد که منجر به مرگ ۵ تا ۱۸ میلیون نفر در آن سال گردید (۱۵).

در مطالعات گذشته اگرچه اشریشیا کلی، سالمونلا، پروتئوس، کلبسیلا و شینگلا از مدفوع کودکان اسهالی جدا گردیده، ولی عامل ویروسی مانند روتاویروس مورد توجه نبوده است (۳) و به دلیل عدم تشخیص عامل ویروسی، تجویز کورکوران آنتی بیوتیک تنها راه چاره به حساب می آید.

روتاویروس به خانواده رتوویروسها تعلق دارد و دارای لایه دوجداره بیست وجهی به قطر ۶۰ الی ۷۵ نانومتر می باشد. ذره ویروسی شامل یازده قطعه RNA دو رشته ای (وزن مولکولی کل ۱۰×۱۰) و دارای RNA پلیمرز وابسته به RNA می باشد. روتاویروس عامل اصلی اسهال در نوزادان و کودکان در هر دو شکل بومی و همه گیر به شمار رفته و علائمی نظیر اسهال، تب، درد شکمی و استفراغ ایجاد می کند که منجر به از دست دادن آب بدن می شود. بالغین ممکن است به ویروس آلوده شوند اما به ندرت دارای علائم بوده و به ندرت در مدفوع آنها ویروس مشاهده می شود. در هر حال همه گیری های شدید بیماری در بالغین نیز رخ داده است. روتاویروسها تنها عامل مهم التهاب معده ای - روده ای در کودکان هستند. حدود ۵۰ الی ۶۰ درصد از عوامل التهاب معده ای - روده ای حاد در کودکان بستری شده در دنیا به وسیله روتاویروسها ایجاد می شوند. عفونت های روتاویروس معمولاً در طول زمستان بیشتر هستند. طول مدت بیماری بین ۵ روز الی ۳ هفته و معمولاً ۸ روز می باشد. بیشتر کودکان ۵ روز بعد از شروع علائم اگر به بیمارستان مراجعه کنند، بهبود می یابند. عفونت ها در کودکان سنین ۶ ماهه تا ۱۲ ساله شایع تر بوده

و به نظر می رسد انتقال از طریق مدفوعی - دهانی صورت می گیرد (۹، ۱۴، ۱۵).

شیوع این ویروس هم در کشورهای توسعه یافته مانند استرالیا، اروپا، آمریکای شمالی و هم در کشورهای در حال توسعه مانند آفریقا و آسیا گزارش شده است (۱۵). ویروس روتا بسیار مسری است و انتقال آن در جامعه حساس به سرعت اتفاق می افتد. مکان های پر جمعیت و تماس نزدیک اشخاص از عواملی هستند که میزان عفونت را افزایش می دهند. بنابراین جدا کردن بیمار اسهالی حاد از آلوده شدن خانواده جلوگیری کرده و انتقال را کاهش می دهد.

Paver و همکارانش در سال ۱۹۷۳، Flewett و همکارانش در سال ۱۹۷۴، گروه Bishop در سال ۱۹۷۴ و Woode و Dennis در سال ۱۹۷۴ از میکروسکپ الکترونی برای تشخیص ذرات ویروسی استفاده کرده اند که به سرعت این روش مورد تأیید قرار گرفت (۶، ۱۵).

اسهال در همه جا، اعم از جامعه شهری و روستایی و یا در افراد بستری در بیمارستان دیده می شود و محدود به مکان خاصی نمی گردد. ولی به طور مسلم تعداد این بیماران در بین افراد بستری در بیمارستان فراوان تر است و این ناشی از وضعیت مساعدتر این بیماران در ابتلاء به اسهال به علت ضعف آنها از یک طرف و وجود باکتری های مقاوم در محیط بیمارستان از طرف دیگر است.

با توجه به اهمیت اسهال و خطر مرگ در کودکان، این بررسی خصوصاً پیرامون عامل ویروسی در شیراز و طی یک سال صورت گرفته است.

مواد و روش کار

باکتری‌هایی چون اش‌ریشیاکلی، کلبسیلا، پروتئوس، شیگلا و در ۳۴ مورد (۱۵/۴۵ درصد) عفونت باکتریایی مخلوط (اش‌ریشیاکلی، سالمونلا، کلبسیلا و...) دیده شد و در ۳۲ مورد (۱۴/۶ درصد) عامل باکتریایی یا ویروسی مشاهده نگردید (جدول ۱).

جدول ۱: عوامل مؤثر در بروز اسهال کودکان در بررسی انجام شده در شهر شیراز

درصد	تعداد موارد	نوع میکروارگانیسم
۳۰	۶۶	اش‌ریشیاکلی
۹/۵	۲۱	کلبسیلا
۱/۸	۴	شیگلا
۲/۲	۵	پروتئوس
۱۴	۳۱	سالمونلا
۱۱/۴	۲۵	روتاویروس
۰/۹	۲	آدنوویروس
۱۵/۴۵	۳۴	عامل باکتریایی مخلوط
۱۴/۶	۳۲	عامل غیرباکتریایی - غیرویروسی
۹۹/۸۵	۲۲۰	جمع

در

این بررسی نشان داده شد که بیشترین میزان شیوع روتاویروس در کودکان سنین ۷ الی ۹ ماهه می‌باشد (جدول ۲). و بیشترین درصد عفونت به علت اش‌ریشیاکلی بوده و بعد از آن سالمونلا درصد بعدی را به خود اختصاص می‌داد در حالی که شیگلا کمترین درصد عفونت را در این کودکان نشان داد.

جدول ۲: میزان فراوانی ویروس روتا در سنین مختلف کودکان مبتلا به اسهال در بررسی انجام شده در شهر شیراز

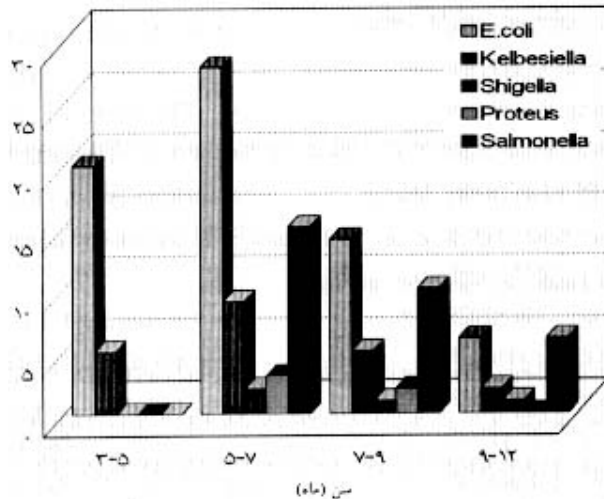
نمونه‌های مدفوع از بیمارستان‌های نمازی، حجازی و دستغیب در ماه‌های آبان، آذر، اسفند، فروردین و اردیبهشت جمع‌آوری گردیدند. جهت بررسی بامیکروسکوپ الکترونی، یک گرم از هر نمونه ابتدا در ۵ میلی‌لیتر (Phosphate Buffered Saline (PBS حل می‌گردید. سپس محلول روی هر نمونه بعد از دو بار سانتریفوژ کردن در دورهای ۱۰۰۰xg به مدت ۵ دقیقه و ۱۰۰۰۰xg به مدت ۲۰ دقیقه، در ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌گردید. ۲۵ میکرولیتر از نمونه بر روی قطعات آگار حاوی گاما‌گلوبولین (حجم مساوی از ۴٪ آگار و گاما‌گلوبولین ۱۱۲/۵ رقیق شده در PBS ۰/۰۱٪ سدیم ازاید) قرار داده و بلافاصله گریدهای مخصوص میکروسکپ الکترونی روی آگار قرار داده می‌شد. بعد از نگهداری در حرارت اتاق به مدت ۳۰ دقیقه، گریدها در محلول ۳ درصد اسید فسفوتنگستیک یا مولیدات آمونیوم با pH ۲/۳= به مدت ۳۰ دقیقه جهت رنگ آمیزی قرار می‌گرفتند و بعد از خشک شدن گریدها بامیکروسکوپ الکترونی رؤیت می‌گردیدند (۸،۷).

نمونه‌های مدفوع بر روی محیط‌های باکتریولوژی مانند EMB و SS کشت داده می‌شدند و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد از کلنی‌های مشکوک جهت تشخیص نهایی، تست‌های بیوشیمیایی اختصاصی به عمل می‌آمد.

### نتایج

در این بررسی ۲۲۰ نمونه اسهالی مورد بررسی ویروسی و باکتریایی قرار گرفتند که از میان آنها در ۲۵ مورد (۱۱/۴ درصد) روتاویروس با میکروسکپ الکترونی مشاهده گردید. هر چند که در تعداد کمی از نمونه‌ها آدنوویروس نیز دیده شد. در ۱۲۸ مورد (۵۸/۸ درصد)

خود اختصاص می‌دادند (نمودار ۱). بیشترین میزان اسهال در این بررسی در ماه‌های آبان و اردیبهشت مشاهده گردید (جدول ۳).



فراوانی عوامل باکتریایی اسهال در سنین مختلف کودکان نیز مورد بررسی قرار گرفت. به طوری که بیشترین مورد راباکتری‌های اشریشیاکلی و سالمونلا به

سن (ماه)	تعداد موارد در هر طبقه سنی	تعداد موارد مثبت	درصد در هر طبقه سنی	درصد کل
۳-۵	۵۳	۰	۰	۰
۵-۷	۶۶	۴	۶/۱	۱۶
۷-۹	۵۰	۱۳	۲۶	۵۲
۹-۱۱	۵۱	۸	۱۵/۷	۳۲
جمع	۲۲۰	۲۵	۱۱/۴	۱۱/۴

سن (ماه)

نمودار ۱: میزان فراوانی باکتری‌های عامل اسهال در سنین مختلف کودکان در بررسی

انجام شده در شهر شیراز

جغرافیایی شناخته‌شود تا درمان این بیماران با واقع‌بینی بیشتری صورت پذیرد. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج حاصله از تحقیقات انجام شده توسط کبیری و همکارانش که با استفاده از روش‌هایی غیر از روش میکروسکوپ الکترونی نظیر (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) ELISA در شهر شیراز صورت گرفته است، مطابقت دارد (۱۰).

این بررسی میزان شیوع روتاویروس را ۱۱/۴ (۲۵) از ۲۲۰ کودکان مبتلا به اسهال نشان داد. همچنین ۰/۹ درصد از نمونه‌ها آدنوویروس را نشان دادند که با نتایج به دست آمده در تحقیقات دیگران برابری داشت (۷،۴). با مقایسه نتایج حاصل از این تحقیق و مطالعات دیگر چنین استنباط می‌شود که عمومی‌ترین عامل اسهال باکتریایی

ماهها	تعداد موارد در ماه	تعداد موارد	درصد در ماه	درصد کل
آبان	۵۰	۱۲	۲۴	۴۸
آذر	۴۰	۳	۷/۵	۱۲
اسفند	۲۰	۰	۰	۰
فروردین	۵۰	۲	۴	۸
اردیبهشت	۶۰	۸	۱۳/۳	۳۲
جمع	۲۲۰	۲۵	۱۱/۴	۱۱/۴

جدول ۳: میزان فراوانی روتاویروس در نمونه‌های اسهالی در

ماه‌های مختلف سال در بررسی انجام شده در شهر شیراز

بحث

با توجه به اهمیت اسهال و عدم بررسی عوامل اسهال در کودکان توسط میکروسکوپ الکترونی در شیراز، لازم بود این موضوع مورد مطالعه قرار گیرد و حتی المقدور عوامل این اسهال‌ها و میزان فراوانی آنها در این منطقه

رودهای (اسهال) و مرگ و میر حاصل از آن از واکنس استفاده می‌شود که توصیه می‌شود واکنس در شش ماهه اول زندگی تجویز گردد □ (۱).

### Summary

The Prevalence of Bacterial and Viral Agents in Fecal Specimens of Children in Shiraz  
P. Hassanzadeh, MSc.,<sup>1</sup> and F. Al-e-Yasin, MSc. 2  
1. Instructor, Biology Department, School of Science, 2. Instructor, Microbiology Department, Medical School, Shiraz University of Medical Sciences and Health Services, Shiraz, Iran

*In the present study 220 diarrheal samples of children aged between 3-12 months and 100 samples from healthy individuals of the same age group referred to Shiraz university hospitals were investigated for bacterial and viral agents. Electron microscopy methods were used for the viral investigations, while conventional techniques of bacteriology were used for isolation of bacterial agents. The prevalence of rotavirus examined by electron microscopy was 25 cases (11.4%). Other pathogenic organisms were E. Coli 66 cases (30%), Klebsiella 21 cases (9.5%), proteus 5 cases (2.2%), Shigella 4 cases (1.8%), Salmonella 31 cases (14%), mixed bacterial agents 34 cases (15.45%) and non bacterial viral agents 32 cases (14.6%). The highest rate of rotavirus infection was seen in children aged between 7-9 months in Aban (October) and Ordibehesht (May), but the highest rate of bacterial infection was seen in children aged between 4-7 months.*

*Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2001; 8(1): 11-16*

**Key Words:** Viral Agents, Diarrhoea, Children, Shiraz

### References

1. Black RE, Merson MH, Huq I, Alim AR and Yunus M. Incidence and severity of rotavirus and Escherichia coli diarrhea in Rural Bangladesh implications for vaccine development. *Lancet* 1981; 1(82/2): 141-143.
2. Coker AO, Dosunmu - Ogunbi O, Odugbemi T, Alabi SAAL and Macaulay SA. A study on the prevalence of rotavirus diarrhoeas in ohaozara

اشریشیاکلی و سالمونلایمی باشد که در این بررسی به ترتیب ۶۶ و ۳۰ درصد گزارش شده است (۱۵،۱۲،۱۱،۱). در این تحقیق طول مدت اسهال در کودکان اسهالی با روتاویروس و عامل باکتریایی نیز مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که اختلافی بین کودکان عفونی با روتاویروس و آنهایی که به اشریشیاکلی سم‌زا مبتلا بودند، در ازدست دادن مقدار آب و الکترولیت و یا وجود تب مشاهده نشدولی کودکان مبتلا به اسهال با عوامل باکتریایی طول مدت اسهال کوتاه‌تری نسبت به کودکان اسهالی با روتاویروس دارند. این مطلب را Echeverria و همکارانش در سال ۱۹۷۷ نیز نشان دادند. از طرف دیگر در این بررسی مشاهده گردید که اکثر کودکان مبتلا به اسهال با روتاویروس دچار استفراغ می‌شوند درحالی که علائم استفراغ در کودکان اسهالی با اشریشیاکلی مشاهده نگردید □ (۴).

با توجه به اینکه روتاویروس و عوامل مربوط به این ویروس عفونی تا سال ۱۹۷۳ ناشناخته بودند (۲)، بنابراین در این راستا، لازم بود تحقیقاتی انجام شود تا بتوان در رابطه با اسهال‌های حاد و مزمن در ایران اطلاعاتی بدست آورد.

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که در کشورهای توسعه یافته با وجود در دسترس بودن آب سالم باز هم آلودگی‌های روتاویروسی باقیمانده و اقدامات بهداشتی، کافی به نظر نمی‌رسد. در نتیجه برای کاهش بیماری‌های

- Local government area, Imo state, Nigeria and the Lagos university teaching hospital, Lagos Nigeria. *East Afr Med J* 1987; 64(9): 586-589.
3. Echeverria P, Blacklow NR, Vollet JL, 3rd et al. Reovirus-like agent and entero-toxicogenic Escherichia coli infections in pediatric diarrhea in the Philippines. *J Infect Dis* 1978; 138(3): 326-332.

etiology of pediatric diarrhea in Taiwan. *J Infect Dis* 1977; 136(3): 383-390.

5. Echeverria P, Taylor DN, Leksomboon U, *et al.* Case-control study of endemic diarrheal disease in Thai children. *J Infect Dis* 1989; 159(3): 543-548.
6. Flewett TH, Bryden AS, Davies H and Robertson MJ. Diagnostic electron microscopy of faeces. *J Clin Pathol* 1974; 27(8): 608-614.
7. Flewett TH, Davies H, Bryden AS and Robertsson MJ. Acute gastroenteritis associated with reovirus-like particles. *J Clin Pathol* 1974; 27: 608-614.
8. Grauballe PC, Vestergaard BF, Meyling A and Genner J. Optimized enzyme-linked immunosorbent assay for detection of human and bovine rotavirus in stools: Comparison with electron-microscopy, immunoelectro osmophoresis, and fluorescent antibody techniques. *J Med Virol* 1981; 7(1): 29-40.
9. Haffejee TE. The epidemiology of rotavirus infections: a global perspective. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 20(3): 275-286.

4. Echeverria P, Ho MT, Blacklow NR, and *et al.* Relative importance of viruses and bacteria in the 10. Kabiri M, Aleyassin F, Hooshman H, Alborzi A. Demonstration of rotavirus antigen in children with diarrhea by enzyme immunoassay in Shiraz. The sixth international congress of geographical medical Shiraz university of medical sciences and Hedjazi hospital, Shiraz, Iran. 1993.
11. Kain KC, Barteluk RL, Kelly MT, *et al.* Etiology of childhood diarrhea in Beijing China. *J of Clin Microbiol* 1991; 29(1): 90-95.
12. Molbak K, Wested N, Hejlyng N, *et al.* The etiology of early childhood diarrhea: A community study from Guinea-Bissau. *J Infect Dis* 1994; 169(3): 581-587.
13. Ogunsanya TI, Rotimi VO and Adenuga A. A study of the aetiological agents of childhood diarrhoea in Lagos, Nigeria. *J Microbiol* 1994; 40(1): 10-14.
14. Paje-Villar E, Co BG, Caradang EH, *et al.* Non-bacterial diarrhoea in children in the Philippines. *Ann Trop Med Parasitol* 1994; 88(1): 53-58.
15. Walker Smith J. Rotavirus gastroenteritis. *Arch Dis Child* 1978; 53(5): 355-362.