

## بررسی شیوع گاستروانتریت‌های ناشی از اشریشیاکلی‌های وروتوکسیژنیک در استان ایلام، پاییز ۱۳۷۶

نورخدا صادقی فرد<sup>(۱)</sup>، علی شیخیان<sup>(۲)</sup>، دکتر محمد مهدی اصلانی<sup>(۳)</sup>، فرید عزیزی جلیلیان<sup>(۴)</sup>

### چکیده

به منظور بررسی آلودگی به اشریشیاکلی‌های وروتوکسیژنیک (VTEC) در نقاط روستایی و شهری استان ایلام طی یک مطالعه مقطعی در پاییز ۱۳۷۶، ۱۵۵۷ نمونه مدفوع به روش نمونه‌گیری خوشه‌ای دو مرحله‌ای، انتخاب و مورد بررسی قرار گرفتند. از تمام اعضای خانوار نمونه‌های شهری و روستایی انتخاب شده، سوآپ مدفوعی تهیه و با روش کشت و تست‌های بیوشیمیایی و سرمی مورد آزمایش قرار گرفتند و نتایج حاصله با متغیرهای سن، جنس، علایم و غیره مورد بررسی واقع شد.

براساس نتایج، ۲۶ نمونه (۱/۷٪) از نظر اشریشیاکلی‌های وروتوکسیژنیک مثبت بودند و اختلاف معنی‌داری بین میزان جداسازی اشریشیاکلی‌های وروتوکسیژنیک و اسهال در نواحی روستایی مشاهده نشد و اکثر افراد حامل اشریشیاکلی‌های وروتوکسیژنیک سالم و بدون علامت اسهالی بودند، اما در نواحی شهری این اختلاف معنی‌دار بود ( $P=0/001$ ). همچنین نتایج نشان داد که اشریشیاکلی‌های تولیدکننده وروتوکسین در استان ایلام از اهمیت برخوردارند و تماس با دام و مصرف شیر خام غیر پاستوریزه از عوامل آلوده‌کننده به شمار می‌روند.

واژه‌های کلیدی: اشریشیاکلی‌های وروتوکسیژنیک، اسهال، وروتوکسین، گاستروانتریت

### مقدمه

اشریشیاکلی‌های وروتوکسیژنیک یکی از انواع مهم آنها هستند. در میان اشریشیاکلی‌های وروتوکسیژنیک، نوع E.Coli O157:H7 اهمیت بیشتری دارد که از سال ۱۹۸۲ از مدفوع افراد مبتلا به اسهال خونی جدا گردیده است [۳].

اشریشیاکلی‌های وروتوکسیژنیک اولین بار از بیماران مبتلا به کولیت خونریزی دهنده و سندرم اورمی همولیتیک جدا شدند. و تحقیقات بعدی نشان داده شد که می‌توانند

اسهال یکی از معضلات مهم بهداشتی کشورهای در حال توسعه است و در مقیاس جهانی، از بزرگترین علل مرگ و میر پس از بیماری‌های قلبی و سرطانی در بسیاری از جمعیت‌هاست [۱] میان عوامل عفونی، اشریشیاکلی از جمله مهم‌ترین عوامل سبب شناختی اسهال کودکان زیر ۵ سال است [۲]. با شناخت هر چه بیشتر خاصیت بیماری‌زایی اشریشیاکلی‌های بیماری‌زا، طبقه‌بندی جدیدی شکل گرفته است که بر اساس این طبقه‌بندی

۱- عضو هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام

۳- عضو هیئت علمی انستیتو پاستور ایران

۲- دانشجوی دکترای ایمنولوژی دانشگاه تربیت مدرس

۴- کارشناس میکروبیشناسی دانشگاه علوم پزشکی ایلام

از آنها در مناطق شهری و ۷۲۰ نفر در مناطق روستایی استان ایلام سکونت داشتند.

در این پژوهش نمونه‌گیری بصورت خوشه‌ای دو مرحله‌ای انجام گرفت، به این صورت که در مرحله اول کل استان ایلام به ۴۰۰ بلوک تقسیم گردید و ۵۰ بلوک بصورت تصادفی از بین آنها انتخاب شد که از این تعداد ۲۷ بلوک در مناطق روستایی و ۲۳ بلوک در مناطق شهری بود. در مرحله بعدی در هر بلوک یک نقطه با توجه به نمونه‌گیری سطحی انتخاب و به عنوان نقطه نمونه‌گیری مشخص شد و هشت خانوار حول نقطه انتخاب شده به عنوان واحد نمونه‌گیری انتخاب و از تمام اعضای خانواده نمونه‌گیری به عمل آمد.

برای جمع‌آوری داده‌ها بعد از تکمیل پرسشنامه، به تعداد اعضای خانواده، محیط کشت ترانسپورت کاری - بلر و سوآپ استریل در اختیار آنان قرار گرفت و از آنها خواسته شد که بعد از اجابت مزاج، سوآپ استریل را به مدفوع آغشته و به محیط کاری، بلر منتقل کنند، سپس محیط‌های ترانسپورت از خانوارها جمع‌آوری گردید و در شرایط مناسب برودتی به بخش میکروبی‌شناسی انستیتو پاستور ایران منتقل و آزمایشات کشت و تشخیص بر روی نمونه‌ها انجام گرفت و در بخش کشت سلول مراحل بعدی تحقیق پیگیری شد.

#### روشهای آزمایشگاهی

۱- کشت: نمونه‌های مدفوع بر اساس استاندارد ادوارد و اوینگ بر روی محیط‌های جامد زیر کشت داده شدند:  
الف) سور بیتول مکانکی آگار: این محیط از نظر ترکیبی

اسهال آبکی یا خونین نیز ایجاد کنند [۴ و ۵]. آنها بصورت تک‌گیر و یا همه‌گیر باعث ایجاد بیماری می‌شوند و در تمام کشورهایایی که تحقیقاتی در مورد آنها انجام گرفته است، یافت شده‌اند. ابتدا تصور می‌شد که گوشت پخته نشده گاو منبع آلودگی است ولی بعدها انتقال شخص به شخص نیز مشاهده شده است.

تاکنون ۵۲ سروتیپ اشریشیاکلی‌های وروتوکسیژنیک تشخیص داده شده است و میزان بروز آنها در سراسر جهان در حال افزایش است که توجه بیشتری را می‌طلبد [۶]. اشریشیاکلی‌های وروتوکسیژنیک از مدفوع احشام سالم نیز جدا شده است که از لحاظ سروتیپ و نوع سم تولید شده ناهمگون هستند و ۴۰ درصد آنها به سر و تیپ و گروه‌های سرمی تعلق دارند که برای انسان بیماریزا هستند، این مطلب نشان می‌دهد که ممکن است احشام منبع مهم اشریشیاکلی‌های وروتوکسیژنیک در بیماری انسانی باشند. [۷] با توجه به اینکه دام مخزن این باکتری می‌باشد و به لحاظ تماس نزدیک دام و انسان در استان ایلام و آلودگی محیط‌های زندگی مردم با فضولات دام‌ها و مناسب بودن آب و هوای منطقه برای رشد باکتریها، به نظر می‌رسد این سویه‌های اشریشیاکلی، از علل مهم گاستروانتریت در استان ایلام باشند. این مطالعه جهت تحقیق بر روی جدا سویه‌های VTEC<sup>(1)</sup> شده از جمعیت مناطق شهری و روستایی که با یا بدون علائم اسهالی باشند انجام گردید.

#### مواد و روشها

این تحقیق در پاییز ۱۳۷۶ بصورت مقطعی انجام گرفت. کل جامعه آماری مورد بررسی ۱۵۵۷ نفر بود که ۸۳۷ نفر

1-Verotoxigenic Escherichia coli

## یافته های پژوهش

از تعداد ۱۵۵۷ نفر نمونه مورد بررسی که در مناطق شهری و روستایی استان ایلام ساکن بودند، ۷۲ نفر (۴۶/۲٪) در نقاط روستایی زندگی می کردند که ۳۶۹ نفر زن و ۳۵۱ نفر مرد بودند و از ۸۳۷ نفر (۵۳/۸٪) ساکن در نقاط شهری ۴۳۳ نفر زن و ۴۰۴ نفر مرد بودند.

در خصوص ترکیب سنی، از کل نمونه های مورد مطالعه ۲۹۶ نفر (۱۹٪) کمتر از ۶ سال و بقیه ۱۲۶۱ نفر (۸۱٪) بیش از ۶ سال سن داشتند (جدول شماره ۱). در مورد مقایسه وجود اسهال و محل سکونت از کل جمعیت مورد مطالعه ۱۵۴۵ نفر (۹۹/۲٪) سالم و بدون علامت اسهال و ۱۲ نفر (۸٪) دارای اسهال بودند که ۸ نفر (۶۶/۷٪) افراد اسهالی در روستا و ۴ نفر (۳۳/۳٪) در شهر زندگی می کردند.

در خصوص ارتباط اسهال و سن، از ۲۹۶ افرادی که در گروه کمتر از ۶ سال از آنها نمونه گیری بعمل آمد، ۴ نفر (۱/۴٪) دارای اسهال بودند. از نظر وجود ناراحتی گوارشی و جنسی، در ۲۹ نفر (۳/۵٪) افراد مؤنث و ۳۶ نفر (۴/۳٪) از افراد مذکر ناراحتی گوارشی دیده شد. از نظر اشریشیاکلی های وروتوکسیژنیک و محل سکونت، ۲۶ نفر (۱/۷٪) دارای اشریشیاکلی های وروتوکسیژنیک بودند که از تعداد ۱۲ نفر (۴۶/۲٪) در نقاط روستایی و ۱۴ نفر (۵۳/۸٪) در نقاط شهری زندگی می کردند.

از نظر VTEC و ترکیب سنی، بیشترین میزان آلودگی در گروه سنی ۶ تا ۱۰ سال مشاهده گردید، (جدول ۳) از نظر وجود VTEC با جنس و محل سکونت، ۶ نفر (۱/۶٪) از زنان روستایی و ۹ نفر (۲/۱٪) از زنان شهری و ۶ نفر (۱/۷٪) از مردان روستایی و ۵ نفر (۱/۲٪) از مردان شهری، آلودگی داشتند (جدول ۴).

شبهه مکانکی آگار می باشد و فقط بجای قند لاکتوز دارای قند سور بیتول می باشد و کلنی های سور بیتول منفی بر روی این محیط بی رنگ می شوند. اگر روی سور بیتول مکانکی آگار، کلنی های بی رنگ (سور بیتول منفی) وجود داشت حداقل، ۵ کلنی سور بیتول منفی برداشته و بر روی محیط نگهدارنده برده می شد تا در موقع مناسب از نظر وروتوکسین مورد بررسی قرار گیرد.

ب) مکانکی آگار: پلیت مکانکی آگار برای بررسی کلنی های لاکتوز منفی و تهیه اسویپ کلنی برای استخراج وروتوکسین مورد استفاده قرار گرفت.

۲- تعیین هویت ارگانسیم ها: ارگانسیم ها براساس واکنش های بیوشیمیایی و گروه بندی سرمی زیر مورد شناسایی قرار گرفتند:

الف) تست های بیوشیمیایی: تست های بیوشیمیایی شامل: تخمیر قندها، تست اکسیداز، تولید H<sub>2</sub>S، حرکت، مصرف نیترات، تجزیه اوره، تولید اندل، آزمایش MR-VP، تست لیزین دکربوکسیلاز، تست آرژنین دهیدرولاز و تست اورنیتین دکربوکسیلاز بودند.

ب) گروه بندی سرمی با آنتی سرمهای O157 و H7: اشریشیاکلی های سور بیتول منفی و نیز اشریشیاکلی های وروتوکسیژنیک برای یافتن سروتیپ O157 با آنتی سرمهای O157 باروش اسلاید اگلوتیناسیون و برای آنتی سرم H7 با روش الگوتیناسیون لوله ای سرولوژی گردیدند.

در جهت توصیف اطلاعات از جداول توزیع فراوانی و جهت آزمون فرضیات از آزمون کای دو و آزمون فیشر استفاده شد.

جدول ۳. توزیع فراوانی افراد تحت بررسی بر حسب وجود اشریشیاکلی های وروتوکسیژنیک

جمع		شهری						روستایی				ناحیه نتیجه فراوانی سن	
		VTEC مثبت		VTEC منفی		VTEC مثبت		VTEC منفی		VTEC مثبت			VTEC منفی
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد
۰/۷	۲	۹۹/۳	۲۹۴	۰	۰	۱۰۰	۱۵۵	۱/۴	۲	۹۸/۶	۱۳۹	کمتر از ۶ سال	
۲/۲	۶	۹۷/۸	۲۶۳	۲/۷	۴	۹۷/۳	۱۴۴	۱/۷	۲	۹۸/۳	۱۱۹	۶-۱۰	
۲/۱	۱۳	۹۷/۹	۶۱۴	۲/۱	۷	۹۸/۹	۳۲۲	۲	۶	۹۸	۲۹۲	۱۱-۳۰	
۱/۴	۵	۹۸/۶	۳۶۰	۱/۵	۳	۹۸/۵	۲۰۲	۱/۳	۲	۹۸/۷	۱۵۸	۳۱ و بالاتر	
۱/۷	۲۶	۹۸/۳	۱۵۳۱	۱/۷	۱۴	۹۸/۳	۸۲۳	۱/۷	۱۲	۹۸/۳	۷۰۸	جمع	

جدول ۴. توزیع فراوانی افراد تحت بررسی بر حسب وجود VTEC و جنس و محل سکونت

در استان ایلام، پاییز ۱۳۷۶

جمع		شهری						روستایی				ناحیه نتیجه فراوانی جنس	
		VTEC مثبت		VTEC منفی		VTEC مثبت		VTEC منفی		VTEC مثبت			VTEC منفی
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد
۱/۹	۱۵	۹۸/۱	۷۸۷	۲/۱	۹	۹۷/۹	۴۲۴	۱/۶	۶	۹۸/۴	۳۶۳	زن	
۱/۵	۱۱	۹۸/۵	۷۴۴	۱/۲	۵	۹۸/۸	۳۹۹	۱/۷	۶	۹۸/۳	۳۴۵	مرد	
۱/۷	۲۶	۹۸/۳	۱۵۳۱	۱/۷	۱۴	۹۸/۳	۸۲۳	۱/۷	۱۲	۹۸/۳	۷۰۸	جمع	
$X^2=۰/۴۰$ و $P=۰/۵۳$				$X^2=۰/۹۰$ و $P=۰/۳۴$				$X^2=۰/۰۴$ و $P=۰/۸۳$					

### بحث و نتیجه گیری

VTEC در فصل پاییز در استان ایلام مورد بررسی قرار گرفت هر چند که مقیاس جمعیت مورد بررسی در این مطالعه نسبت به کل کشور بسیار اندک است ولی اطلاعات حاصل از این بررسی نمونه‌ای، می‌تواند

اشریشیاکلی های وروتوکسیژنیک می‌توانند هم کولیت هموراژیک، سندرم اورمی همولیتیک و هم اسهال بدون عارضه ایجاد نمایند. در این تحقیق میزان شیوع گاستروانتریت‌های ناشی از

احشام جداگردید و اکثر افراد خانوارها در اولین آزمایش از نظر VTEC مثبت بودند [۱۰]. با توجه به اینکه استان ایلام یک قطب دامداری است و ارتباط با دام مخصوصاً گاو زیاد می‌باشد این وضعیت موجب تشابه شرایط این تحقیق با شرایط تحقیق ویلسون گردیده است. بالابودن میزان VTEC در این مطالعه ممکن است ناشی از کلونیزه شدن VTEC در لوله گوارش انسان یا عبور موقتی VTEC در دستگاه گوارش باشد.

تعدادی از اپیدمیهای عفونت VTEC در ارتباط با مصرف شیر خام یا تماس با احشام بوده است [۱۱، ۱۳ و ۱۴]. از آنجاکه در استان ایلام نیز در مزارع و دامداریها تماس گسترده‌ای با احشام و فضولات دامی وجود دارد و این افراد بطور معمول از شیر غیر پاستوریزه استفاده می‌کنند، بنابراین در معرض خطر بالای تماس با ارگانیزم موجود در فضولات احشام هستند.

در مطالعه ویلسون درصد بالایی از احشام حامل VTEC می‌باشند و اکثر سروتیپ‌های VTEC که در آن مطالعه و دیگر مطالعات تشخیص داده شد مشابه با سرو تیپ‌هایی هستند که در اشخاص با اسهال یافت شده‌اند [۱۱ و ۱۵].

### تشکر و قدردانی

از مسئولین محترم دانشگاه علوم پزشکی ایلام، کارکنان محترم بخش میکروبیولوژی و کشت سلول انسیتوپاستور ایران، آقایان سایه‌میری، ناصری فر، جمالوندی و پرسنل محترم شبکه‌های بهداشت شهرستانها، درمانگاهها، خانه‌های بهداشت که در تمام مراحل این تحقیق از هیچ کمکی دریغ ننمودند، صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

راهنمایی برای مطالعات اپیدمیولوژیک گسترده در کل کشور باشد.

تعداد موارد اسهالی در این مطالعه ۱۲ مورد (۰/۰۸٪) بود و بیشترین میزان اسهال در گروه سنی زیر ۶ سال مشاهده شد (۱/۴٪)، که این نشان می‌دهد در استان ایلام اسهال یکی از بیماریهای مهم کودکان زیر ۶ سال می‌باشد.

میزان آلودگی به VTEC، ۲۶ مورد (۱/۷٪)، که ۱۲ نفر در مناطق روستایی و ۱۴ نفر در مناطق شهری زندگی می‌کردند. در میزان آلودگی VTEC در نقاط شهری و روستایی تفاوت معنی داری مشاهده نشد. میزان بالای آلودگی به VTEC می‌تواند ناشی از عواملی چون شرایط اجتماعی، اقتصادی و بهداشتی پایین‌تر و ارتباط بیشتر بین انسان و دام چه در مناطق شهری و چه روستایی باشد. در مطالعه‌ای که توسط پیرارد و همکاران در بلژیک بر روی ۱۰۲۴۱ نمونه مدفوع انجام گرفت ۱۰۰ نمونه ۰/۹۸٪ از نظر VTEC مثبت بودند که قابل مقایسه با نتایج این تحقیق می‌باشد [۸].

مطالعات متعدد انجام شده در آمریکای شمالی و انگلستان سروتیپ O157:H7 از VTEC را بعنوان عامل عمده اسهال و با شیوعی نزدیک به سالمونلا و کمپیلوباکتر معرفی می‌کند [۸].

در مطالعه‌ای که در بلگراد توسط کوبلژیک و همکاران انجام گرفت سویه‌های VTEC را تنها از ۸ مورد (۰/۳٪) از ۲۶۳۸ نمونه مدفوع بیماران دارای اسهال حاد جدا کردند که با نتایج این تحقیق مغایرت دارد [۹].

در مطالعه‌ای که بوسیله ویلسون و همکارانش بر روی ۳۳۵ نفر شاغل در دامداریها و ۱۴۵۰ راس از احشام موجود در آن دامداریها در جنوب انتاریو صورت گرفت، سویه‌های VTEC از ۲۱ نفر (۶/۳٪) از افراد و ۴۶٪ از

- Science Inc,USA,1994.
- 9- Cobelsjic M,et al; Infrequent Finding of VTEC in diarrheal Stools in Belgrade , Serbia; Scand-J-infect-Dis , 1995,Vol 27(4):428-8.
- 10- Tamura K,et al; Serotyping and categorization of E.Coli Strains isolated between 1958 and 1992 from diarrheal disease in Asia;J-Med-Microbio,1996,Vol 45(5):353-358.
- 11- Keene WE,et al; A prolonged outbreak Of E.coli 0157:H7 infections caused by commercially distributed raw Milk ; J infect Dis,1997,Vol176:815-18.
- 12- Blanco M,et al ; Prevalence and characteristics of E.coli Serotype 0157:H7 and other vero toxin - Producing E.coli in healthy cattles; Epidemiol Infect ,1996,Vol17(2):251-7.
- 13- Duncon L, et al ; outbreek of gastro intestinal disease in ontario; con-Dis-Weekly-Rep , 1987,Vol 13:5-8.
- 14- Sandhuks, et al ; prevalence of the eacA gene in VTEC strains from dairy cattle in Southwest ontario ; Epidemiol Infect, 1996,Vol 16 (1):1-7:
- 15-Blanco M,et al ; Prevalence and characteristics of Human and bovin VTEC strains Isolated in Golicia; Eur J Epidemiol, 1996,Vol12(1):13-19.
- 1- Walah JA, and worren K w; Selective Primary health care: An interime Strategy for disease Control in developing countries; N-Engl-J-Med, 1979,Vol 301:967.
- 2- Vwlayati AA,et al; A study Of Salmonella, Shigella and enteropathogenic E.coli Serotypes in acute gastroenteritis, Children under the age of five; Med-J-Islamic Rep Iran ,1987,Vol1:22-31.
- 3- Levine MM ; E.coli that Cause diarrhea: enterotopigenic , enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic and enteroadherent; J infect Dis,1987,Vol 155:377-89.
- 4-Cravioto A, 2 etal;Aodhesive factor found in Strains of E.coli Belonging to the trodiqional infantile enteropathogenic serotype; Current Microbio,1979,Vol3:95-99.
- 5- Riley LW ,et al;Hemorrhagic coliqis associated with rate E.Coli Serotype;N-Engl-J-Med ,1982,Vol 308:81-85.
- 6- Puzova H,et al ; Verotoxin as an important factor in the Virulence Of E.coli Strains; Bratisl Lek Liaty , 1993,Vol 94(6):297-301.
- 7- Montenenegro MA, et al ; Detection and Choracterization of Faecal Verotoxin - Producing E.coli from health ; J-Clin-Microbio,1990,Vol 28(6):4117-21.
- 8- Pierard D,et at;Three Years Pcr Screening for Vtec in Human Stools in Brussels ; Elsevier

**Prevalence of gastro enteritis due to verotoxigenic E.Coli in  
Ilam. (Autumn, 1997)**

Sadeghi Fard N., Sheikhan A., Dr. Asslani M.M., Azizi Jalilian F.

**ABSTRACT:**

This cross-sectional study was performed on 1557 stool samples in a bi-stage cluster way of sampling to assess the infection rate to verotoxigenic E.Coli at rural and urban areas. stool samples, taken from families' members, were tested by plantation, serum & biochemical examinations at both the places. the achieved results were compared with the variables of sex, age, etc.

No significant difference was seen between the rate of separating verotoxigenic E.Coli and diarrhea in rural areas.

This difference was significant in urban places, ( $P=0.001$ ). the findings implied that E.Colis as the producers of verotoxin (VTEC) are of importance in Ilam, and animal contacts as well. as using non-pasteurized raw milk are regarded as contaminants.

**KEY WORDS:** Vero toxigenic E.Coli, diarrhea, verotoxin, gastroenteritis.