Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 10, Number 2 (May-June)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Investigation of prevalence of *Shigella sonnei* in children with diarrhea admitted to two hospital Emam Khomeini and Milad in Tehran in1391 with Antimicrobial susceptibility of isolates

Nasim Afshari[1], Bita Bakhshi[2], Azam Mahmoudi Aznaveh[2], Fatemeh Fallah[3], Mohammad Rahbar[4], Sedigheh Rafiei Tabatabaei[3]

1. Department of Microbiology, Islamic Azad University Science & Research Branch, Saveh, Iran
2. Department of Bacteriology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
3. Department of Bacteriology, Pediatric Infection Research Center of Mofid Hospital ,Tehran, Iran
4. Faculty of Medical Microbiology, Iranian Reference Health Laboratory, Tehran, Iran

Article Information

Article history:
Received: 2014/11/18
Accepted: 2015/02/16
Available online:2016/07/24

Article Subject:
Medical Bacteriology

IJMM 1395; 10(2): 16-22

Corresponding author at:

Dr. Bita Bakhshi

Department of Bacteriology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Jalal-Ale-Ahmad Ave. Tehran 14117-13116, Iran.

Tel: +982182884558

Email:
b.bakhshi@modares.ac.ir

Abstract

Background and Aim: *Shigella* infection is one of the prevalent causes of diarrhea disease in most developing countries in children under 10 years old. Conventional microbiological examination to identify *Shigella* species are time-consuming and requires a lot of work and cost. The object of the present research was to isolate and identify of serotypes of *Shigella*, *Shigella sonnei* from patients with bacillary dysentery and to detect their one major virulence genes *ipaH* by using PCR.

Materials and Methods: 3000 stool sample from children with diarrhea admitted in two famous hospitals in1391 in summer & autumn in Tehran were used in this study. The identification of isolated was done by serogrouping and biochemical test & the prevalence of *ipaH* gene determined by PCR method using specific pairs of primers. Antimicrobial susceptibility of isolates was performed according to the CLSI guidelines.

Results: All *Shigella spp* isolates in this study harbored the *ipaH* gene. Out of 160 *shigella* isolates, 50 isolates determined as *S. sonnei* with serogrouping and biochemical test. 90% of isolates were resistant to Tetracycline, Cotrimoxazole, Streptomycin and Minocycline.

Conclusions: We conclude that *ipaH* PCR procedure is more reliable, sensitive, easier, reproducible and specific which is significantly faster than current conventional detection assays such as serologic test. Althuogh in this study we report that among *Shigella .spp* cause diarrhea infection most of them are *S .sonnei* resistant antibiotic.

KeyWords: *Shigell sonnei*, Antibiotic Suspectibility, Pediatric patients

Copyright © 2016 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Afshari N, Bakhshi B, Mahmoudi Aznaveh A, Fallah F, Rahbar M, Rafiei Tabatabaei S. Investigation of prevalence of shigella sonnei isolates among children with diarrhea admitted in to two hospital in Tehran in 1391 with Antimicrobial susceptibility of isolates. Iran J Med Microbiol. 2016; 10 (2) :16-22

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۱۰ – شماره ۲ – خرداد و تیر ۱۳۹۵

Journal homepage: www.ijmm.ir

بررسی فراوانی جدایه های *شیگلا سونئی* از کودکان مبتلا به اسهال مراجعه کننده به دو بیمارستان امام خمینی و میلاد در تهران در سال ۱۳۹۱ و بررسی الگوی حساسیت آنتی بیو تیکی ایزوله‌ها

نسیم افشاری [۱]، بیتا بخشی [۲]، اعظم محمودی ازناوه [۲]، فاطمه فلاح [۳]، محمد رهبر [۴]، صدیقه رفیعی طباطبایی [۳]

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم دانشگاه ازاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات ساوه، ساوه، ایران
۲. گروه باکتری شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تهران، تهران، ایران
۳. گروه باکتری شناسی، مرکز تحقیقات عفونی اطفال بیمارستان مفید تهران، تهران، ایران
۴. گروه میکروب شناسی، ازمایشگاه مرجع سلامت تهران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله
دریافت:۱۳۹۴/۱۰/۲۹
پذیرش:۱۳۹۵/۰۱/۲۱
انتشار آنلاین:۱۳۹۵/۰۵/۰۳
موضوع:
باکتری شناسی پزشکی
IJMM 1395; 10(2): 16-22

نویسنده مسئول:
دکتر بیتا بخشی

گروه باکتری شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تهران، تهران، ایران
تلفن: ۹۸۲۱۸۲۸۸۴۵۵۸

پست الکترونیک:
b.bakhshi@modares.ac.ir

چکیده

زمینه و اهداف: *شیگلا* از عوامل شایع اسهال و مرگ و میر در کودکان زیر ۱۰ سال در کشورهای در حال توسعه شناخته شده است. روش‌های روتین ازمایشگاهی برای جداسازی انواع شیگلا وقت گیر و هزینه بر می‌باشد , در این مطالعه به جداسازی زیر گونه‌های شیگلا سونئی از نمونه بیماران مبتلا به دیسانتری بر اساس اهمیت تشخیص ژن تهاجمی و اختصاصی (*ipaH*) با PCR در مقایسه با روشهای روتین بیوشیمیایی و سرولوژیک پرداخته شده است.

مواد و روش کار: در این مطالعه تعداد ۳۰۰۰ نمونه مدفوع از کودکان مبتلا به اسهال مراجعه کننده به دو بیمارستان امام خمینی و میلاد در تابستان و پاییز ۱۳۹۱ جمع آوری گردید. سپس بر روی نمونه‌ها آزمون‌های استاندارد بیوشیمیایی و سرولوژیک مربوط به گونه‌های *شیگلا* انجام شد. برای تأیید ایزوله‌های *شیگلا* شناسایی شده به وسیله آزمون‌ها بیوشیمیایی، حضور ژن *ipaH* به وسیله PCR مورد ارزیابی قرارگرفت. آزمون سرولوژیک مربوط به زیر گونه‌های شیگلا (تهیه شده از شرکت بهار افشان) انجام شد و سویه *شیگلا سونئی* جداسازی گردید. تست انتی بیوگرام مربوط به ۱۰ آنتی بیوتیک (بر اساس جدول CLSI) بر روی ایزوله‌های *شیگلا سونئی* انجام شد.

یافته‌ها: تعداد ۱۶۰ ایزوله‌ی *شیگلا* جدا سازی شد و حضور ژن *ipaH* در انها تائید گردید و دقت این روش در مقایسه با آزمون‌های روتین سرولوژیک ۱۰۰٪ گزارش می‌شود. از میان ۱۶۰ ایزوله ۵۰ ایزوله (۳۲٪) با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی و همچنین آنتی‌سرم‌های اختصاصی در گروه *شیگلا سونئی* طبقه‌بندی شده‌اند. همچنین ۹۰٪ ایزوله‌های *شیگلا سونئی* مقاومت به تتراسایکلین و کوتریماکسازول و استرپتومایسین و مینو سایکلین نشان دادند.

نتیجه‌گیری: استفاده از روش PCR *ipaH* قابل اطمینان تر، حساس تر، آسان تر و تکرار پذیر تر از روش های مرسوم بیوشیمیایی و سرولوژیک است. همچنین عامل اسهال شایع، *شیگلا سونئی* مقاوم به آنتی بیوتیک ها گزارش می شود.

کلمات کلیدی: *شیگلا سونئی*, حساسیت آنتی بیوتیکی, کودکان بیمار

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

باکتری *شیگلا* به عنوان یکی از عوامل بیماریزای عفونی در جهان مطرح است (۱، ۲، ۶) .این باکتری از خانواده *انترو باکتریاسه* می‌باشد و از لحاظ مورفولوژیک باسیل گرم منفی بدون اسپور می‌باشد که گاهی در کشت‌های جوان به صورت کوکوباسیل نیز دیده می‌شود. این ارگانیسم بی‌هوازی اختیاری بوده، ولی در شرایط هوازی رشد بهتری دارد. باکتری شیگلا دوز عفونی بسیار پایین دارد به طوری که کمتر از ۲۰۰ عدد باکتری قادر به بیماریزایی می‌باشند (۱، ۲). راه‌های انتقال متعدد این باکتری و همچنین پتاسیل بالای بیماریزایی در این باکتریان را مورد اهمیت قرار می‌دهد. دوره کمون بیماری یک تا سه روز می‌باشد. شروع بیماری همراه با تب و کرامپ شکمی و اسهال شدید آبکی همراه است. یک تا دو روز بعد روده بزرگ نیز مانند

روده کوچک درگیر می‌شود. اسهال حالت آبکی ندارد، ولی همراه خون و بلغم دفع می‌گردد. درد در ناحیه شکم و اسپاسم معقدی به دنبال دارد. معمولاً عفونت خود محدود شوند می‌باشد. عوارض شدید متعدد فیزیولوژیکی ایجاد می‌کند و بیشتر دهیدراتاسیون موجب مرگ در بیماران می‌شود (۱، ۲). در کودکان با سوء تغذیه, سپتی سمی نیز گزارش شده است. سندروم رایتر که در درصد کمی از افراد آلوده *باشیگلا فلکسنری* دیده می‌شود. عوارض گوراشی مانند هپاتیت ضعیف، سوراخ شدگی روده، مگاکولون توکسین نیز گزارش شده است. آنتی‌بادی ترشح شده در خون افراد بیمار نیز فرد را در برابر عفونت محدود محافظت نمی‌کند (۱، ۲). بیماری شیگلوز از فردی به فرد دیگر از طریق مدفوعی-دهانی و به وسیله افراد با دست آلوده و کمتر توسط آب و غذا منتقل می‌شود. شیگلا به وسیله تهاجم و تکثیر در سلولهای آسترکولون ایجاد بیماری می‌کند. پروتئین‌های ژن ساختاری , اتصال ارگانیسم به سلولها و همچنین تهاجم آنها، تکثیر داخل سلولی و انتشار سلول به سلول را واسطه گری می‌کند. این ژن‌ها روی پلاسمید بیماری‌زایی بزرگ (*lorge virulence plasmid*) حمل می‌شوند اما به وسیله ژنهای کروموزومی تنظیم می‌شوند. مطالعات نشان داده که *شیگلا* در رتبه سوم به عنوان عامل اسهال در کودکان می‌باشد و در کشورهای در حال توسعه شیوع بیشتری دارد. این بیماری تقریباً در تمام نقاط جهان بومی است ولی در نقاطی که وضعیت بهداشتی ضعیف و جمعیت زیاد است به صورت اپیدمی ظاهر می‌شود (۳، ۴). با توجه به اهمیت باکتری *شیگلا* در بیماریزایی در کودکان و سالمندان و اپیدمی‌های گزارش شده در ایران, در این تحقیق به بررسی سویه *شیگلا سونئی* و بررسی مقاومت انتی بیوتیکی این باکتری در کودکان مبتلا به اسهال مراجعه کننده به بیمارستان در تهران پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

جمع آوری نمونه

دراین بررسی تعداد ۳۰۰۰ نمونه مدفوع از کودکان مبتلا به اسهال از دو بیمارستان امام خمینی ومیلاد در تهران در سالهای ۱۳۹۰-۱۳۹۱ جمع اوری شد. این نمونه‌ها بیشتر در فصل تابستان و پاییز و از کودکان با سن کمتر از ده سال با علائم بالینی مانند تب و کرامپ شکمی وتب و بی حالی جدا شده‌اند. سواپ آغشته به نمونه‌های مدفوع ابتدا در محیط مغذی سلنیت (SF) به مدت ۱۶ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری و سپس بر روی محیط SS آگار (*سالمونلا شیگلا اگار*) کشت داده شده‌اند. در بررسی پلیت ها بعد از ۲۴ ساعت کلنی‌هایی که به رنگ صورتی کمرنگ بودند واز لحاظ مورفولوژی به *شیگلا* شباهت داشتند بر روی محیط مغذی نوترینت اگار برده وبه مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند. بعد از ان کلنی‌ها مورد ارزیابی سرولوژیک و بیو شیمیایی قرار داده‌شدند ,به این ترتیب که تست‌های بیوشیمیایی از جمله TSI، سیترات، اوره و دکربوکسیلاسیون لیزین برای جداسازی *شیگلا سونئی* بر اساس فنوتیپ و مقایسه با رفرنس WHOبرای جنس *شیگلا* انجام شد (۵). سرو تایپینگ ایزوله‌ها به کمک انتی سرم اختصاصی *شیگلا سونئی* تهیه شده از شرکت بهار افشان صورت گرفت.

بررسی حساسیت انتی بیوتیکی *شیگلا سونئی*

این بررسی به روش کربی بائر (Kirby bauer) و تهیه نیم مک فارلند از ۵۰ ایزوله *شیگلا سونئی* و کشت بر روی محیط مولر هینتون آگار به همراه ۱۰ آنتی بیوتیک تهیه شده از شرکتMAX آلمان شامل: آموکسی سیلین کلاوونیک اسید (۲۰ میکروگرم), کوتریماکسازول (۲۵ میکروگرم), تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم), مینوسایکلین (۳۰ میکروگرم), سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم), آموکسی سیلین (۲۵ میکروگرم)، سیپروفولوکساسین (۵ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، استرپتومایسین (۳۰ میکروگرم) و نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکرو گرم) انجام گرفته است. انتخاب انتی بیوتیک های نامبرده بر اساس جدول CLSI (۲۰۱۲) می‌باشد (۲۱، ۲۰، ۱۹).

تأیید مولکولی ایزوله‌ها با استفاده از PCR

DNA باکتری‌ها به روش جوشاندن استخراج شد و از آن به عنوان DNA الگو در PCR استفاده گردید. تأیید ایزوله‌های جداشده *شیگلا سونئی* با تست‌های بیوشیمیایی به وسیله تکثیر ژن *ipaH* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی جنس *شیگلا* صورت گرفت (۱۸).

Forward: 5'-TGGAAAAACTCAGTGCCTCT-3'
Reverse:5'-CCGTCCGTAAATTCATTCT-3'

مخلوط واکنش طبق مقادیر زیرمی باشد:

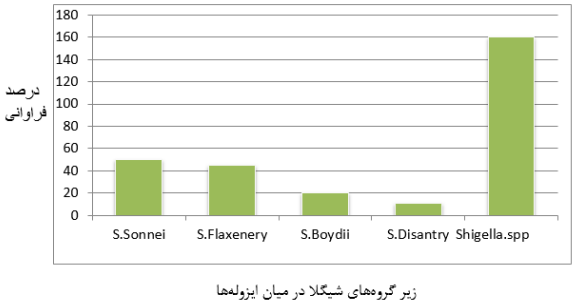
آب دو بار تقطیر ۱۱/۵ میکرلیتر ,(DW) کلرید منیزیم ($MgCl_2$) ۲ میکرولیتر، اغازگر F و R هر کدام ۰/۵ میکرولیتر,

آنزیم *taq* پلیمراز ۰/۵ میکرولیتر *taq polymerase* (تهیه شده ازشرکت سیناژن) DNA، مورد هدف ۵ میکرو لیتر و حجم نهایی واکنش ۲۰ میکرو لیتر می‌باشد.

مراحل ازمایش: وا سرشتگی اولیه ۹۵ درجه سلسیوس ۵ دقیقه یکبار، واسرشتگی ۹۵ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، اتصال ۵۸ درجه سلسیوس ۳۰ ثانیه، تکثیر ۷۲ درجه سلسیوس ۱ دقیقه (۳۲ تکرار)، تکثیر نهایی ۷۲ درجه سلسیوس ۱ دقیقه یکبار.

الکتروفورز محصول PCR:

ابتدا بافر ۰/۵X TBE میکرولیتر را آماده و به مقدار مورد نیاز در تانک الکتروفورز ریخته شود. سپس ژل ۱٪ اگارز تهیه کرده و مقدار ۷ میکرولیتر از رنگ Safe red دران حل کرده و درون قالب ریخته و بعد از شانه گذاری و بستن ژل مقدار ۶ میکرولیتر از محصول PCR را به همراه یک قطره بافر لودینگ در چاهک ریخته و در ولتاژ ۹۵ درجه به مدت ۱ ساعت الکتروفورز انجام گردد. سپس محصول الکتروفورز رادر دستگاه GEL DUCT عکسبرداری شود. سویه استاندارد جهت کنترل مثبت (*Shigella sonnei ATCC 9290*) از WHO تهیه گردد.



نمودار ۱: نمودار درصد فراوانی زیر گروه‌های شیگلا در میان ایزوله‌ها

یافته‌ها

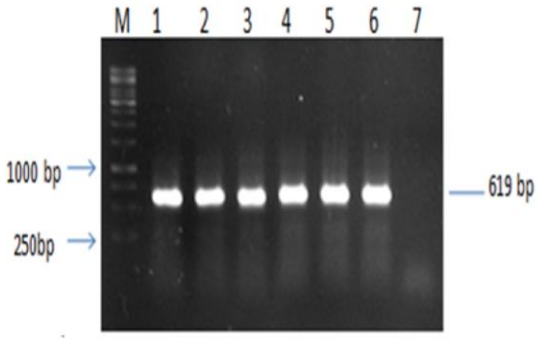
تعداد ایزوله‌های شیگلای شناسایی شده

نتایج حاصل از تست‌های بیوشیمیایی در جنس *شیگلا* لاکتوز منفی, ساکاروز منفی, تولید گاز هیدروژن سولفور منفی, سیترات منفی, هیدرولیز اوره منفی ومتیل رد مثبت می‌باشند وایزوله های *شیگلا* جداسازی گردید. همچنین تست شناسایی سویه شیگلاسونئی اورنیتین دکربوکسیلاز منفی و تولید اندول منفی و تخمیر مانیتول مثبت وازمون ONPG که در سویه سونئی بر خلاف سایر سویه‌ها و همچنین جنس *اشریشیا* مثبت می‌باشد، صورت گرفت.

از مجموع ۳۰۰۰ نمونه جمع اوری شده از دو بیمارستان در تهران تعداد ۱۶۰ نمونه به وسیله تست‌های بیوشیمیایی و PCR به عنوان جنس شیگلا تأیید شدند. از این تعداد نیز در پاسخ به تست‌های سرولوژیک, ۵۰ ایزوله (۳۲٪) متعلق به *شیگلا سونئی* و ۴۵ (۲۵٪) ایزوله *شیگلا فلکسنری* و ۲۰ ایزوله (۱۲/۵٪) شیگلا بوییدی و ۱۱ ایزوله (۶/۷٪) شیگلا *دیسانتری* شناسایی شدند (نمودار شماره ۱).

تأیید نمونه‌ها با استفاده از PCR

محصول مورد انتظار از PCR ژن *ipaH* باند ۶۱۹ جفت بازی بود که در همه ۱۶۰ ایزوله شیگلا مشاهده شد (شکل ۱).



شکل ۱ : تکثیر ژن *ipaH* برای تشخیص جنس شیگلا. M: size marker 1kbp)چاهک ۱: کنترل مثبت (*Shigella sonneiATCC 9290*) ، چاهک ۲ تا ۶: سویه‌های دارای باند ۶۱۹ جفت باز هستند که *ipaH*+ می‌باشند. چاهک ۷: کنترل منفی

نتایج حاصل از انتی بیوگرام *شیگلا سونئی*

در این مطالعه بیشترین حساسیت در سویه *شیگلا سونئی* نسبت به سیپروفلوکساسین مشاهده شد. بیشترین مقاومت نسبت به استرپتومایسین، تتراسایکلین، مینوسایکلین و کوتریماکسازول گزارش می‌شود. نتایج حاصل از آنتی بیوگرام به همراه درصد مقاومت آن‌ها در جدول شماره ۱ مشخص شده است.

جدول ۱ درصد توزیع مقاومت آنتی بیوتیکی در میان ایزوله‌های *شیگلا سونئی*

در صد مقاومت	آنتی بیوتیک
۲۸/۵	کوآموکسی کلاو
۴۲/۸۵	آموکسی سیلین
۹۴/۳	تتراسایکلین
۹۳	مینوسایکلین
۲/۸۵	جنتامایسین
۹۸	استرپتومایسین
۰	سیپروفلوکساسین
۸/۵	نالیدیکسیک اسید
۹۷/۱۴	کوتریماکسازول
۲	سفوتاکسیم

بحث

شیگلا یکی از عوامل اسهال حاد آبکی در کودکان جهان معرفی شده است (۵). مطالعه اخیر در ایران نشان داده است که *شیگلا* یکی از عوامل مهم دیسانتری باسیلی بوده و مقاومت آنتی بیوتیکی آن در طیف وسیعی گزارش شده است (۶).

در این مطالعه از میان ۱۶۰ ایزوله *شیگلا*، ۳۲٪ به عنوان *شیگلا سونئی* به وسیله سروتایپینگ مشخص شدند. Nowroozi و همکاران در سال ۲۰۰۶ در میان ۳۵۰ ایزوله *شیگلا* ۱۴۲(۴۰/۵۷٪) ایزوله *شیگلا فلکسنری* را جداسازی و به عنوان ایزوله غالب در میان نمونه‌ها گزارش نمودند (۲۲). که این آمار با توجه به بررسی‌های اخیر نشاندهنده شیفت این باکتری *از شیگلا فلکسنری* به *شیگلا سونئی* می‌باشد. بر اساس گزارشات مختلف، نسبت بروز *شیگلا فلکسنری* و *شیگلا سونئی* در یک ناحیه جغرافیایی منعکس کننده وضعیت استاندارد بهداشتی آن ناحیه است؛ هنگامیکه سطح عمومی بهداشت شخصی و محیطی بالا رود، میزان شیوع *شیگلا فلکسنری* سروگروه (B) کاهش می‌یابد در حالیکه نسبت بروز *شیگلا سونئی* سروگروه (D) بالاتر می‌رود. با وجود اینکه ایران یک کشور در حال توسعه است، شیوع *شیگلا سونئی* به عنوان سروگروه غالب مشابه کشورهای پیشرفته‌ای همچون کانادا و امریکا است و نیز مانند این کشورها عفونت ناشی از *شیگلا* در کودکان بیشتر از بزرگسالان گزارش شده‌است (۸, ۹) واین نشان دهنده ارتقا سطح بهداشت در جامعه می‌باشد. طبق مطالعه‌ای که توسط Sivapalasingam و همکاران در سال ۲۰۰۲ انجام شده است در جامعه که بهداشت رعایت می‌شود درصد شیوع *شیگلا فلکسنری* کاهش و *شیگلا سونئی* افزایش می‌یابد (۷). در حالی که در کشورهایی مانند تایوان و بنگلادش این عنوان و درصد فراوانی به *شیگلا فلکسنری* تعلق دارد (۱۱). همچنین Eftekhari و همکاران در سال ۲۰۱۳ در بررسی در دو شهر خراسان رضوی و تهران بین ۷۰۰ نمونه مدفوع ۳۲ ایزوله شیگلا بدست آورده ودر این میان ۷۰/۸٪ شیگلا سونئی شناسایی کردند (۹). در مطالعه‌ای که توسط Farshad و همکاران در سال ۲۰۰۳ روی ۸۲ سویه *شیگلا* انجام شد ۷۴/۳٪ سویه‌ها به عنوان *شیگلا سونئی* گزارش شده است (۶). همچنین در مطالعه‌ای که Ranjbar و همکاران در سال ۲۰۰۸ در میان ۳۲ ایزوله *شیگلا*، ۵۸/۹٪ به عنوان *شیگلا سونئی* گزارش شدند (۵). Soltandallal و همکاران در سال ۲۰۱۳ در بررسی خود در میان ۳۶ ایزوله *شیگلا* ۹ ایزوله *شیگلا* سونئی تهاجمی را جداسازی نمودند (۱۶).

در این مطالعه ژن *ipaH* جهت تأیید جنس *شیگلا* به کار گرفته شد این ژن تهاجمی هم بر روی کروموزوم و هم برروی پلاسمید قرار دارد با توجه به اینکه استاندارد شناسایی گونه *شیگلا* روش‌های بیوشیمیایی و سرولوژیک می‌باشد درصد حساسیت تست به کار رفته یعنی شناسایی ژن نامبرده به کمک PCR در ایزوله‌ها با فرمول [(تعداد ایزوله‌های شناسایی شده از دو روش PCR و بیو شیمیایی)/ (تعداد ایزوله‌های شناسایی شده به روش بیوشیمیایی) × ۱۰۰] محاسبه گردید. طبق فرمول مورد استفاده همخوانی نتایج حاصل از تست‌های سرولوژیک و بیوشیمیایی با روش تاییدی ژن هدف *ipaH* به روش PCR ۱۰۰٪ تخمین زده شد و این روش در کنار تست‌های سرولوژیک و بیوشیمیایی جهت تست تاییدی در تشخیص عامل بیماری شیگلوز مورد استفاده می‌باشد و از این حیث که قربانیان اصلی و آسیب پذیر مورد تهاجم این باکتری کودکان و سالمندان می‌باشند تشخیص دقیق و سریع این باکتری در پروسه درمان نقش به سزایی ایفا می‌کند. طبق مطالعات گذشته راه سریع جهت تمایز این جنس در خانواده *انتروباکتریاسه PCR* می‌باشد (۱۵). در مطالعه‌ای که توسط Thong و همکاران بر روی ایزوله‌های *شیگلا* صورت گرفته نشان داده شد که ژن *ipaH* در همه ایزوله‌های *شیگلا* حضور دارد (۱۱). همچنین Farshad و همکاران نیزدر بررسی که بر روی ۸۲ ایزوله شیگلا انجام دادند مشاهده کردند که نتایج حاصل از تست‌های سرولوژیک تعیین جنس *شیگلا* با نتایج PCR ژن‌های *ipaH* بیماران مشابه است و

با توجه به دقت و سهولت روش PCR این تست جهت مطالعات اپیدمیولوژیک نسبت به روشهای متداول سرولوژیک ارجحیت دارد (۶). برای تأیید ژنتیکی *شیگلا* می‌توان از حضور یا عدم حضور این ژن (*ipaH*) بهره برد اما به کارگیری روش‌های بیوشیمیایی و سرولوژیک استاندارد در کنار این روش برای کاهش خطا الزامی است.

درمان مناسب آنتی بیوتیکی شیگلوز در عوارض بیماری و حدت وحتی در شیوع آن تأثیر به سزایی دارد. باتوجه به اینکه در مطالعات اخیر مقاومت بالایی در *شیگلا* نسبت به سایر سویه‌ها گزارش شده است و همچنین در نظر گرفتن اینکه طبق گزارشات درصد بالایی از این گونه مربوط به شیگلا سونئی می‌باشد بررسی مقاومت آنتی بیوتیک‌ها در این باکتری در این مطالعه مورد توجه قرار گرفته است. در این مطالعه نمونه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلو کساسین و سفوتاکسیم حساسیت نشان دادند و بالای ۹۰٪ به مینو سایکلین, کوتریماکسازول و استرپتومایسین مقاومت نشان دادند. Savadkoohi و همکاران در ۲۰۰۷ بیشترین مقاومت انتی بیوتیکی درایزوله های شیگلا را نسبت به کوتریماکسازول (۷۳/۸٪) گزارش نمودند (۱۹). Rahbar و همکاران در ۲۰۰۷ در بررسی خود ایزوله‌های شیگلا را ۹۸٪ مقاوم به کوتریماکسازول گزارش دادند (۲۰). Mirnejad و همکاران در ۲۰۱۳ در بررسی به عمل آمده بر روی ایزوله‌های شیگلا بیشترین مقاومت را نسبت به استرپتومایسین و کوتریماکسازول و کمترین مقاومت به سیپروفلوکساسین اعلام کردند (۲۱). در اپیدمی‌ها برنامه‌های درمانی باید به گونه‌ای طراحی شود که سویه‌های مقاوم چند دارویی جدید به وجود نیایند. در این مطالعه برخی ایزوله‌های *شیگلا سونئی*به بیش از چهار آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دادند که این مسئله نگران کننده است و باید نظارت بیشتری در استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در خود درمانی بیماران صورت گیرد.

تقدیر و تشکر

از کلیه پرسنل مرکز تحقیقات عفونی اطفال بیمارستان مفید که دراین مطالعه ما را یاری نمودند کمال سپاس و تشکر را داریم.

تعارض منافع:

بین نویسندگان و مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران هیچ گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

References

1. Rajakumar K, Sasakawa C, Adler B. Use of a novel approach, termed island probing, identifies the Shigella flexneri she pathogenicity island which encodes a homolog of the immunoglobulin A protease-like family of proteins.(IAI) Infect and Immuny. 1997;65(11):4606-14.
2. Hale TL. Genetic basis of virulence in Shigella species. Microbiol Mol Biol Rev. 1991;55(2):206-24.
3. Vila J, Gascon J, Abdalla S, Gomez J, Marco F, Moreno A, et al. Antimicrobial resistance of *Shigella* isolates causing traveler's diarrhea. Antimicrob Agents Chemother**.** 1994;38(11):2668-70.
4. Shears P. Shigella infections. Ann Trop Med Parasitol. 1996;90(2):105-14.
5. 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.
6. Farshad S, Sheikhi R, Japoni A, Basiri E, Alborzi A. Characterization of Shigella strains in Iran by plasmid profile analysis and PCR amplification of ipa genes .J Clin Microbiol. 2006;44(8):2879-83.
7. Sivapalasingam S, Nelson JM, Joyce K, Hoekstra M, Angulo FJ, Mintz ED. High prevalence of antimicrobial resistance among Shigella isolates in the United States tested by the National Antimicrobial Resistance Monitoring System from 1999 to 2002. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50(1):49-54.
8. Faruque SM, Khan R, Kamruzzaman M, Yam Vala MH, Nowroozi J, Ghazi F, Tabatabai PN, Haghighi S. Comparing invasive and non-invasive of isolated Shigella flexneri by electron microscopy of cell culture, SDS-Page and Congo red method. Iran Biomed J. 2007;11(1):47-52.
9. Eftekhari N, Bakhshi B, Pourshafie MR, Zarbakhsh B, Rahbar M, Hajia M, et al. Genetic Diversity of Shigella spp. and Their Integron Content. Foodborne Pathog Dis. 2013;10(3):237-42.
10. Dutta S, Chatterjee A, Dutta P, Rajendran K, Roy S, Pramanik K, et al. Sensitivity and performance characteristics of a direct PCR with stool samples in comparison to conventional techniques for diagnosis of Shigella and enteroinvasive Escherichia coli infection in children with acute diarrhoea in Calcutta, India. J Med Microbiol. 2001;50(8):667-74.

11. Thong KL, Hoe SL, Puthucheary S, Yasin RM. Detection of virulence genes in Malaysian Shigella species by multiplex PCR assay. BMC Infect Dis. 2005;5(1):8.

12. Madiyarov RS, Bektemirov AM, Ibadova GA, Abdukhalilova GK, Khodiev AV, Bodhidatta L, et al. Antimicrobial resistance patterns and prevalence of class 1 and 2 integrons in Shigella flexneri and Shigella sonnei isolated in Uzbekistan. Gut Pathog. 2010;2(1):18.

13. Winn WC, Koneman EW. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Lippincott Williams & Wilkins; 2006.

14. Mirza SH, Beeching NJ, Hart CA. Multi-drug resistant typhoid: a global problem. J Med Microbiol 1996;44(5):317-9.

15. Bhutta ZA, Farooqui BJ, Sturm AW. Eradication of a multiple drug resistant Salmonella paratyphi A causing meningitis with ciprofloxacin. J Infect. 1992;25(2):215-9.

16. Soltandallal MM, Rahimi-Forushani A, Aminharati F, Ohadian-Moghadam s, Nikmanesh B, Rastegare-Lari A. Investigation the Shigella serotypes invasive cells isolated from patients with diarrhea in HEp-2 cell culture. J Shahrekord Univ Med Sci Research. 2013;15(6):100-8.

17. Asaki S, Ahmad QS, Azim T, et al. Isolation of Shigella dysenteriae type 1 and S. flexneri strains from surface waters in Bangladesh: comparative molecular analysis of environmental Shigella isolates versus clinical strains. Appl Environ Microbiol. 2002;68(8):3908-13.

18. Sethabutr O, Venkatesan M, Yam S, Pang LW, S moak BL, Sang WK, et al. Detection of PCR products of the ipaH gene from Shigella and enteroinvasive Escherichia coli by enzyme linked immunosorbent assay. Diagn Microbiol Infect Dis. 2000;37(1):11-6.

19. Savadkoohi, R.B.; Kacho A.M.Prevalence of Shigella Species and Their Antimicrobial Resistance Patterns at Amirkola Children's Hospital, North of Iran. Iran J Ped. 2007; 17(2): 118-22

20. Rahbar M, Deldari M, Hajia M. Changing prevalence and antibiotic susceptibility patterns of different Shigella species in Tehran, Iran. The Internet J Microbiol. 2007;3(2).

21. Mirnejad R, Vahdati AR, Rashidiani J, Erfani M, Piranfar V. The antimicrobial effect of lactobacillus casei culture supernatant against multiple drug resistant clinical isolates of Shigella sonnei and Shigella flexneri in vitro. Iran Red Crescent Med J. 2013;15(2):122-6.

22. Nowroozi J. Plasmid profile, antibiotic resistance, and phenotypic virulent strains of S. flexneri. Iranian J Pub Health. 2006;35(4):43-8.