

بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های اشریشیا کلی انتروپاتوژنیک در کودکان اسهالی در شهر زنجان طی سال‌های ۱۳۹۱ تا ۱۳۹۲

مرضیه بیات^۱، فخری حقی^۲، حبیب ضیغمی^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه- پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان
^۲ استادیار باکتری شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

نشانی نویسنده مسئول: زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، دانشکده علوم پایه-پزشکی

E-mail: m.microbiologist@yahoo.com

وصول: ۹۲/۱۰/۱، اصلاح: ۹۲/۱۱/۱۲، پذیرش: ۹۲/۱۲/۵

چکیده

سابقه و هدف: اشریشیا کلی انتروپاتوژنیک دلیل عمده اسهال نوزادان در سرتاسر جهان و تهدید بومی مهمی برای سلامت کودکان در کشورهای در حال توسعه به شمار می آید. افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های پاتوژن به ویژه در کودکان به عنوان یکی از مشکلات بهداشت جهانی محسوب می شود. هدف از این مطالعه بررسی وضعیت مقاومت آنتی بیوتیکی و مقاومت چند دارویی در انتروپاتوژنیک های جدا شده از کودکان مبتلا به اسهال مراجعه کننده به بیمارستان های شهر زنجان می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه توصیفی- مقطعی، ۴۵۰ نمونه مدفوع از کودکان مبتلا به اسهال زیر ۵ سال مراجعه کننده به بیمارستان های شهر زنجان طی سال‌های ۹۱-۹۲ جمع آوری گردید. پس از کشت و تایید ایزوله‌ها با تست‌های بیوشیمیایی، حساسیت آنتی بیوتیکی سویه ها با روش انتشار دیسک طبق توصیه CLSI نسبت به ۱۳ آنتی بیوتیک تعیین گردید. سپس با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن eaeA، سویه های EPEC در نمونه های اسهالی با استفاده از PCR شناسایی شدند.

یافته ها: از ۴۵۰ نمونه مدفوع اسهالی، ۱۴۰ ایزوله (۳۱/۱٪) اشریشیاکلیشناسایی شد. از این تعداد، ۱۳/۶٪ (۱۹ ایزوله) انتروپاتوژنیک شناسایی شد. در این مطالعه، بیشترین میزان مقاومت انتروپاتوژنیک های ایزوله شده به ترتیب در برابر اریترومايسين (۱۰۰ درصد)، آموکسی سیلین و کوآموکسی کلاو (۸۹/۴۷ درصد) مشاهده شد و ایمی پنم با حساسیت (۸۴/۲۱ درصد) فعال ترین آنتی بیوتیک بود. هم چنین ۹۰/۶ درصد ایزوله‌ها نسبت به سه یا تعداد بیش تری آنتی بیوتیک مقاوم بودند و به عنوان ایزوله‌هایی با مقاومت دارویی چندگانه در نظر گرفته شدند.

نتیجه: نتایج این مطالعه افزایش روز افزون مقاومت آنتی بیوتیکی را نشان می دهد. بنابراین به منظور درمان کامل و جلوگیری از گسترش اسهال ناشی از این سویه های مقاوم در کودکان، انجام دقیق تست های آنتی بیوگرام قبل از تجویز آنتی بیوتیک ضروری می باشد.

کلید واژه: اشریشیاکلی، انتروپاتوژنیک اشریشیاکلی، مقاومت آنتی بیوتیکی، کودکان، اسهال

مقدمه

مرتبط با اسهال نوزادان به صورت تک گیر و همه گیر در کشورهای در حال توسعه می‌باشد و از قدیمی ترین پاتوتایپ های شناسایی شده اشریشیاکلی است که در

اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک (Enteropathogenic Escherichia coli; EPEC) از جمله اشریشیاکلی های

روده کوچک تکثیر یافته و موجب اسهال حاد و غیرخونی می‌گردد (۲ و ۱). این ارگانسیم از طریق اتصال به دیواره روده موجب به هم ریختگی ساختار سلول‌های اپی تلیال گشته و ایجاد ضایعات هیستوپاتولوژیک A&E (Attaching and Effacing) در سطح روده می‌کند، که این امر منجر به اختلال در پدیده جذب و دفع روده می‌شود (۳ و ۴). مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها به طور ذاتی وابسته به استفاده از عوامل ضد میکروبی یا آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد که توجه جهان را به خود جلب کرده است و از سال‌های دور یکی از مشکلات بهداشتی درمانی در سطح جوامع می‌باشد (۵). توانایی یک میکروارگانسیم برای تحمل اثر آنتی‌بیوتیک را مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌نامند که به عنوان یکی از مشکلات مهم در درمان و کنترل عفونت‌ها محسوب می‌شود. مقاومت آنتی‌بیوتیکی معمولاً چند سال پس از مصرف بیش از حد آنتی‌بیوتیک‌ها بوجود می‌آید و به صورت‌های مختلف از جمله تک دارویی و یا چند دارویی دیده می‌شود. در واقع با کشف آنتی‌بیوتیک، پیدایش آنتی‌بیوتیک‌های جدید و رواج استفاده از آن‌ها در درمان بیماری‌های عفونی باکتریایی، مقاومت در سویه‌های باکتریایی نیز بروز کرده است. با وجود در دسترس بودن تعداد زیادی آنتی‌بیوتیک مختلف و صرف هزینه‌های چند میلیون دلاری در تحقیقات و تولید آنها هنوز تا حذف باکتری‌ها فاصله زیادی وجود دارد. در بروز مقاومت دارویی فاکتورهای متنوعی دخالت دارند که می‌توان به نوع باکتری عفونت‌زا، محل عفونت در داخل بدن، توزیع آنتی‌بیوتیک در بدن، غلظت دارو و وضعیت ایمنی بیمار اشاره کرد. در حال حاضر روز به روز بر تعداد باکتری‌های مقاوم افزوده می‌شود که این امر موجب نگرانی میکروبیولوژیست‌ها، پزشکان و متخصصان صنایع دارویی شده است (۶ و ۷). امروزه برای درمان اسهال ناشی از اشریشیا کلی و پاتوتایپ انتروپاتوژنیک از آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده می‌شود، افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های پاتوژن مذکور به ویژه در کودکان به عنوان

یکی از مشکلات بهداشت جهانی محسوب می‌شود (۷). با توجه به این که EPEC در ایجاد اسهال در کودکان زیر ۵ سال از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد و از طرف دیگر مقاومت آنتی‌بیوتیکی به خصوص به صورت چند دارویی در حال افزایش روز افزون بوده است، لذا هدف از این مطالعه بررسی وضعیت مقاومت آنتی‌بیوتیکی و MDR در سویه‌های جدا شده از کودکان مبتلا به اسهال بوده است.

مواد روش‌ها

جمع آوری نمونه: در این مطالعه توصیفی - مقطعی، ۴۵۰ نمونه مدفوع از کودکان مبتلا به اسهال زیر ۵ سال مراجعه کننده به بیمارستان‌های منتخب شهر زنجان طی سال‌های ۹۱-۹۲ جمع آوری گردید. پس از انتقال به محیط کشت کری بلر در محیط‌های مک کانکی و ائوزین متیل بلو (شرکت Merck آلمان) کشت داده شد. جهت تایید ایزوله‌ها تست‌های افتراقی انجام شد (محیط‌های بیوشیمیایی نظیر محیط سه قندی حاوی آهن، TSI)، متیل رد / وژپروسکائو (MR/VP)، SIM، اوره، سیمون سیترات و لیزین ایرون آگار، (LIA) (شرکت Merck آلمان). سپس ایزوله‌ها جهت استخراج DNA به محیط TSB (شرکت Merck آلمان) به همراه ۲۰ درصد گلیسرول (شرکت Merck آلمان) انتقال داده و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

بررسی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش دیسک دیفیوژن:

تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های اشریشیا کلی توسط تست آنتی‌بیوگرام (دیسک دیفیوژن) که متداول‌ترین تست مورد استفاده جهت بررسی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی آگار به شمار می‌رود انجام شد. این تست بر اساس انتشار در دیسک و بر اساس دستورالعمل انستیتوملی استاندارد‌های آزمایشگاهی و بالینی آمریکا (Clinical and Laboratory Standards

Institute; CLSI) انجام شده است. در این تحقیق ۱۳ دیسک آنتی‌بیوتیک مختلف، از شرکت MAST انگلستان؛ سفوکستین (۳۰ میکروگرم)، سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، کوآموکسی کلاو (۳۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، آموکسی سیلین (۲۵ میکروگرم)، آزترونام (۳۰ میکروگرم)، ایمی پنم (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۳۰ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۲۵ میکروگرم)، جتتامایسین (۱۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۲۵ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم) مورد استفاده قرار گرفته است. تفسیر نتایج با توجه به استانداردهای CLSI انجام گرفت و بر حسب میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها به ۳ گروه، حساس، حد متوسط و مقاوم تقسیم‌بندی شدند. مقاومت سویه‌ها به حداقل سه یا بیش از سه کلاس آنتی‌بیوتیکی، به عنوان MDR در نظر گرفته شد و در نهایت میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های E.coli و سویه‌های EPEC و non-EPEC مورد بررسی قرار گرفت.

کنترل کیفی دیسک‌ها

تمامی دیسک‌ها قبل از استفاده برای آزمایش، از لحاظ کیفیت کنترل شدند. برای این منظور ابتدا سوسپانسیون میکروبی (معادل نیم مک فارلند) از سویه استاندارد/شریشیا کلی ATCC25922 تهیه شد. سپس توسط سوآپ استریل روی محیط مولر هیتون آگار کشت فشرده یا چمنی داده شد. در نهایت، دیسک‌ها با فاصله ۲۲ میلی‌متر از یکدیگر و ۱۶ میلی‌متر از جداره پلیت بر روی محیط قرار داده شدند (۸).

استخراج DNA:

در این تحقیق جهت استخراج DNA از ایزوله‌های اشریشیاکلی، از روش جوشاندن استفاده شد. چندین کلنی از کشت شبانه باکتری، به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری که حاوی ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل بود منتقل و سوسپانسیونه گردید. سپس این نمونه‌ها با ۸۰۰۰ rpm به مدت ۴ دقیقه سانتریفوژ و این

مراحل دو بار تکرار شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری و ۵ دقیقه در یخ قرار داده شد، این مراحل ۳ بار تکرار شده سپس با ۱۴۰۰۰rpm به مدت ۴ دقیقه سانتریفوژ و محلول رویی در یک میکروتیوب استریل جهت انجام PCR جمع‌آوری گردید (۹).

روش انجام PCR:

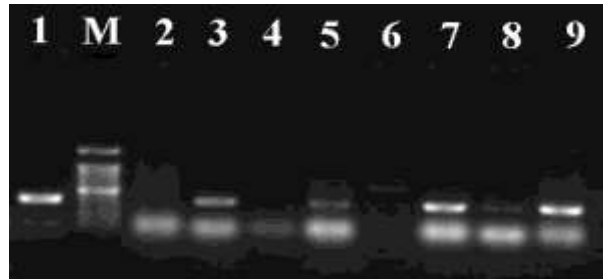
مقدار و غلظت مواد مورد نیاز برای PCR ژن‌های eaeA در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد. که متشکل از: ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X، ۱ میکرولیتر dNTP، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای ۱۰pmol، ۵ میکرولیتر از نمونه DNA استخراج شده، ۱/۵ میکرولیتر آنزیم Taq polymerase، و در نهایت با ۱۳ میکرولیتر آب مقطر استریل به حجم نهایی رسانده شد. از سویه EPEC ATCC 43887 تهیه شده از دانشگاه تربیت مدرس به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و از آب مقطر برای کنترل منفی استفاده گردید. برنامه ریزی دستگاه ترموسایکلر و پرایمرهای استفاده شده جهت تشخیص ژن eaeA در جدول شماره ۱ ذکر شده است. محصول PCR بر روی ژل ۱/۵ درصد حاوی ۲/۵ میکرولیتر اتیدیوم بروماید (جهت رنگ آمیزی ژل) با ولتاژ (۷۰-۸۰V) به مدت ۴۵ دقیقه الکتروفورز و سپس با استفاده از دستگاه ترانس لومیناتور در مجاورت نور ماورای بنفش مشاهده گردید و تصویر آن توسط دستگاه ژل داک (UV Tek انگلیس) تهیه گردید (شکل ۱). جهت شناسایی باند‌های حاصل از الکتروفورز از سایز مارکر، ۱۰۰bp، (شرکت Fermentase) استفاده گردید (۱۰).

نتایج

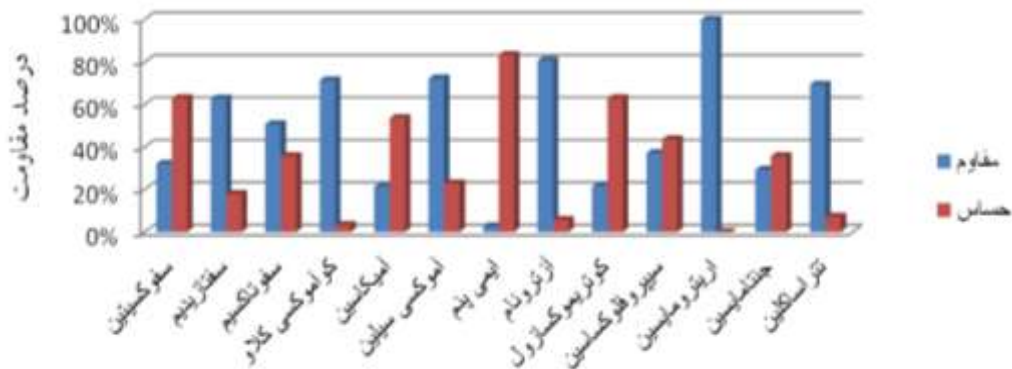
از کل نمونه‌های جمع‌آوری شده از بیماران اسهالی، ۲۸۳ نفر (۶۲/۹ درصد) مذکر و ۱۶۷ نفر (۳۷/۱ درصد) مونث بودند. ۱۴۰ ایزوله (۳۱/۱ درصد) بیماران (اشریشیا کلی از نمونه‌های مدفوع اسهالی جداسازی شد والگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله

جدول ۱: پرایمرها و برنامه PCR جهت تکثیر ژن eaeA

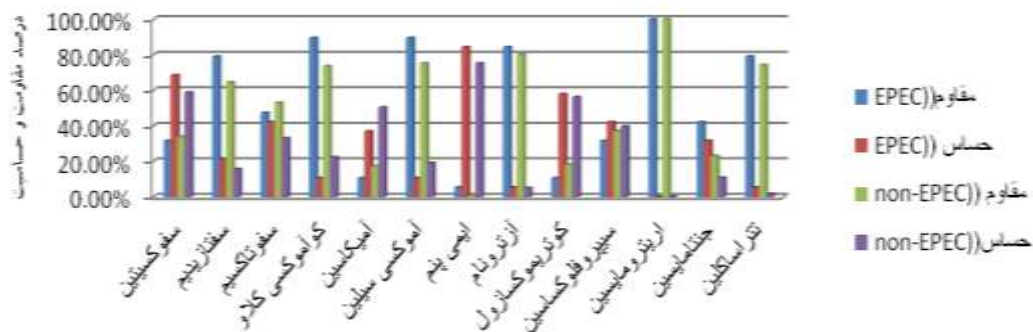
نام ژن	توالی نوکلئوتیدی	اندازه محصول
eaeA (F)	5' ACACACGAATAAACTGACTAAAATG 3'	376bp
eaeA (R)	5' AAAAACGCTGACCCGCACCTAAAT 3'	
PCR condition	94°C5min/1 ;(94°C, 60s;58° ,60s; 72°C,60s/30); 72°C,8min/1	



شکل ۱: محصول PCR ژن eaeA بر روی ژل آگارز ۱/۵٪. چاهک M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، چاهک های ۱: کنترل مثبت، چاهک ۲: کنترل منفی، چاهک های ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹: نمونه های بالینی حامل ژن eaeA. چاهک های ۱۰ و ۱۱: نمونه های بالینی فاقد ژن eaeA.



نمودار ۱: الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله های اشریشیا کلی جدا شده از نمونه های مدفوع اسهالی



نمودار ۲: مقایسه الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی پاتوتایپ های اشریشیا کلی انتروپاتوژنیک (EPEC) با Non-EPEC

بیوتیک بوده است. ۸۶/۴ درصد ایزوله ها نیز نسبت به سه یا تعداد بیشتری از آنتی بیوتیک ها مقاوم بودند و به عنوان ایزوله هایی با مقاومت دارویی چند گانه در نظر گرفته شدند.

هم چنین بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله های انتروپاتوژنیک و مقایسه آن با ایزوله های غیر انتروپاتوژنیک در نمودار ۲ نشان داده شده است، بیش

اشریشیا کلی های جدا شده از نمونه های مدفوع اسهالی تعیین گردید، از این تعداد، ۱۳/۶ درصد (۱۹ ایزوله) انتروپاتوژنیک شناسایی شد. در نمودار ۱ الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله های اشریشیا کلی ذکر شده است. بیش ترین درصد مقاومت مربوط به آنتی بیوتیک اریترومایسین با ۱۰۰ درصد مقاومت به دست آمد و ایمی پنم با حساسیت ۸۳/۳ درصد نشان داد که فعال ترین آنتی

ترین درصد مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک اریترومايسين با ۱۰۰ درصد مقاومت و کمترین درصد مقاومت مربوط به ایمی پنم با ۵/۲۶ درصد مقاومت می باشد. میزان مقاومت چند دارویی در این پاتوتایپ ۹۰/۶ درصد مشاهده شد و در نمودار ۲ با سویه های غیر انتروپاتوژنیک مقایسه شده است. در این مقایسه نشان داده شد اختلاف قابل توجهی بین سویه های EPEC و non-EPEC در مورد حساس ترین و مقاوم ترین آنتی بیوتیک ها وجود ندارد.

بحث

در این تحقیق ۱۴۰ ایزوله اشریشیا کلی از بیماران جدا گردید که فراوانی اشریشیا کلی انتروپاتوژنیک در بیماران اسهالی ۱۹ ایزوله (۱۳/۶ درصد) نشان داده شد. این یافته ها نشان دهنده این نکته هستند که EPEC را می توان از علل مهم اسهال در شهر زنجان تلقی نمود. در حال حاضر استفاده بیش از حد و خودسرانه از آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از دلایل مهم شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مناطق مختلف می‌باشد (۶). به واسطه اهمیت باکتری اشریشیا کلی در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی مطالعاتی در رابطه با میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری در نقاط مختلف ایران و کشورهای دیگر صورت گرفته است. در مطالعه ما بیش ترین میزان مقاومت سویه های اشریشیا کلی انتروپاتوژنیک در برابر اریترومايسين (۱۰۰ درصد) ، آموکسی سیلین و کوآموکسی کلاو هر کدام (۸۹/۴۷ درصد) مشاهده شد و بیش ترین میزان حساسیت گزارش شده مربوط به آنتی بیوتیک های ایمی پنم (۸۴/۲۱ درصد) و سفوکسیتین (۶۸/۴۲ درصد) و میزان MDR ، (۹۰/۶ درصد) بود. در این مطالعه الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی در ایزوله های اشریشیا کلی نسبت به آنتی بیوتیک های رایج در درمان عفونت های گوارشی باکتریایی نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه در مورد مقاومت دارویی نشان داد که میزان

MDR ، ۸۶/۴ درصد می باشد. در بررسی که توسط معین الدین و همکاران در سال ۱۹۸۹ در آمریکا بر روی EPEC انجام گرفت، میزان مقاومت دارویی به تتراساکلین ۳۹/۳ درصد و به کوتریموکسازول هیچ یک از نمونه ها مقاوم نبوده و هم چنین ۶۴ درصد آنها به چند دارو مقاوم بودند (۱۱)، در صورتی که در مطالعه ما تمام نمونه ها به تتراساکلین مقاوم بوده و نسبت به کوتریموکسازول در مقایسه با مطالعه فوق الذکر، از خود مقاومت بیشتری نشان دادند، که این بیانگر مصرف زیاد این آنتی بیوتیک ها در شهر زنجان می باشد. در مطالعه ایی دیگر استردا و همکارانش که در سال ۲۰۰۵ در مکزیک انجام دادند مقاومت به تتراساکلین را ۱۰۰ درصد ، کوتریموکسازول را ۶۷ درصد و میزان MDR در پاتوتایپ EPEC در کودکان زیر ۵ سال را ۶۷ درصد گزارش نموده اند (۱۲)، که از نظر مقاومت به تتراساکلین با مطالعه ما مطابقت دارد، ولی در بررسی استردا ، نسبت به آنتی بیوتیک کوتریموکسازول نسبت به مطالعه ما مقاومت بیشتری نشان داده شده است. اوچا و همکاران در سال ۲۰۰۹ طی بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی اشریشیا کلی های اسهال زا در پرو ، بیش ترین مقاومت آنتی بیوتیکی را به ترتیب به آمپی سیلین (۸۵ درصد)، کوتریموکسازول (۷۹ درصد)، تتراساکلین (۶۵ درصد) گزارش کردند (۱۳). در حالی که در مطالعه ما بیش ترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در اشریشیا کلی های اسهال‌زا به ترتیب؛ نسبت به اریترومايسين (۱۰۰درصد)، آزترونام (۸۱ درصد) و آموکسی سیلین (۷۴/۴ درصد) مشاهده شد. اوچا هم چنین مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به EPEC را به این صورت گزارش کرده است که، کوتریموکسازول ۷۲ درصد ، تتراساکلین ۵۰ درصد، بیشترین مقاومت را نشان دادند و در صورتی که نسبت به جنتامایسین و سیپروفلوکساسین ۱۰۰ درصد حساس بودند و میزان MDR در پاتوتایپ EPEC را ۴۷درصد گزارش نمودند (۱۳). نتایج اخیرالذکر در مقایسه با گزارش ما کوتریموکسازول با ۱۰/۵۳ درصد مقاومت

می شود با توجه به یافته های مطالعه ما نسبت به مطالعات دیگر مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها بدون تجویز پزشک در شهر زنجان یکی از علل اصلی میزان بالای MDR در این منطقه می باشد. با توجه به نتایج این مطالعه نشان داده شد، میزان مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های اشریشیا کلی اسهال زا بسیار بالاست. در نتیجه تاکید بیشتری بر شناسایی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی (دیسک دیفیوژن) این سویه ها توصیه می گردد. شناخت پزشکان در کشور ما و به ویژه شهرستان زنجان از الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی EPEC در اتخاذ راه کارهای مناسب بهداشتی و درمانی اهمیت بسزایی دارد.

تشکر و قدردانی

از اساتید محترم دانشگاه علوم پزشکی شهر زنجان که مرا در انجام این تحقیق یاری رساندند و از جناب آقای دکتر محمدپور به پاس مساعدتی که داشتند، صمیمانه تقدیر و تشکر می گردد.

کمتر، در حالی که جنتامایسین با ۴۲/۱ درصد، سیپروفلوکساسین با ۳۱/۵۸ درصد مقاومت بیش تری در پاتوتایپ EPEC از خود نشان دادند. تصور می شود با توجه به یافته های مطالعه ما، مصرف بی رویه آنتی بیوتیک بدون تجویز پزشک یکی از علل اصلی میزان بالای مقاومت در این منطقه باشد. در مطالعه مطلبی و همکاران در سال ۲۰۱۰ در کاشان که بر روی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های EPEC انجام شده است، تمامی سویه ها به آمپی سیلین (۱۰۰ درصد) مقاوم بوده اند و میزان مقاومت نسبت به سفنازیدیم ۳۹/۲ درصد، سیپروفلوکساسین ۳۵/۳ درصد گزارش شده است (۱۴)، که در مطالعه ما، سفنازیدیم و سیپروفلوکساسین درصد بالاتری را نشان داده است. به نظر می رسد این تفاوت به علت مصرف بیش تر این آنتی بیوتیک ها در این منطقه می باشد. در این مطالعه هیچ یک از نمونه ها به ایمی پنم مقاوم نبودند، در مقابل در مطالعه ما ۵/۲۶ درصد به ایمی پنم مقاومت نشان دادند که این مسئله حاکی از افزایش روزافزون مقاومت به این آنتی بیوتیک می باشد. تصور

References

1. Nguyen RN, Taylor LS, Tauschek M, Robins-Browne RM. Atypical enteropathogenic Escherichia coli infection and prolonged diarrhea in children. *Emerg Infect Dis*. 2006;12(4):597-603.
2. Prere MF, Bacrie SC, Baron O, Fayet O. Bacterial aetiology of diarrhoea in young children: high prevalence of enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) not belonging to the classical EPEC serogroups. *Pathologie Biologie*. 2006;54(10):600-2.
3. Scaletsky IC, Aranda KR, Souza TB, Silva NP. Adherence factors in atypical enteropathogenic Escherichia coli strains expressing the localized adherence-like pattern in HEp-2 cells. *Journal of clinical microbiology*. 2010;48(1):302-6.
4. Unsworth KE, Mazurkiewicz P, Senf F, Zettl M, McNiven M, Way M, Holden DW. Dynamin is required for F-actin assembly and pedestal formation by enteropathogenic Escherichia coli (EPEC). *Cellular microbiology*. 2007;9(2):438-49.
5. Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis*. 2008;8(3):159-66.
6. Tenover FC. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *Am J Med*. 2006; 119 (6): S3-S10.
7. Denton M. Enterobacteriaceae. *International Journal of Antimicrobial Agent* 2007; 29(3): S9 – S 22.
8. Cheesbrough, M, 2010. District laboratory practice in tropical countries, Second Edition, Cambridge University press, The Edinburgh Building, Cambridge, United Kingdom.
9. Nessa K, Dilruba A, Johirul I, Lutful Kabir FM, Anowar Hossain M. Usefulness of a multiplex PCR for detection of diarrheagenic Escherichia coli in a diagnostic microbiology laboratory setting. *Bangladesh J Med Microbiol*. 2007;1(2):38-42.
10. Vilchez S, Reyes D, Paniagua M, Bucardo F, Mollby R, Weintraub A. Prevalence of diarrhoeagenic Escherichia coli in children from Leon, Nicaragua. *J Med Microbiol*. 2009; 58:630-7.
11. Moyenuddin M, Wachsmuth IK, Moseley SL, Bopp CA, Blake PA. Serotype, antimicrobial resistance, and adherence properties of Escherichia coli strains associated with outbreaks of diarrheal illness in children in

- the United States. *J Clin Microbiol.* 1989;27(10):2234-9.
12. Estrada-García T, Cerna JF, Paheco-Gil L, Velázquez RF, Ochoa TJ, Torres J, DuPont HL. Drug-resistant diarrheogenic *Escherichia coli*, Mexico. *Emerging infectious diseases.* 2005;11(8):1306.
 13. Ochoa TJ, Ruiz J, Molina M, Del Valle LJ, Vargas M, Gil AI, Ecker L, Barletta F, Hall ER, Cleary TG, Lanata CF. High frequency of antimicrobial resistance of diarrheogenic *E. coli* in Peruvian infants. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;81(2):296-301.
 14. Motallebi M, Piroozmand A, Rohani M, Akbari H, Khorshidi A. Multiple drug resistance of enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from children with diarrhea in Kashan, Iran. *African Journal of Microbiology Research.* 2011;5(20):3305-9.

Antimicrobial resistance of Enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from diarrheal children in Zanjan during 2012-13

Bayat M., MSc

Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Zanjan Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

Haghi F., PhD

Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran.

Zeighami H., PhD

Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran.

Received:22/12/2013, Revised:01/02/2014, Accepted:24/02/2014

Correspondence author:

Zanjan, Zanjan Islamic Azad University, Department of Microbiology, Faculty of Basic and Medical Sciences.
m.microbiologist@yahoo.com

Abstract

Background: Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) is the predominant cause of infant diarrhea worldwide and represents a major endemic health threat to children living in developing countries. The increase in antibiotic resistance in pathogenic bacteria, especially in children, is considered as one of the world's health problems. The aim of this study was to evaluate the antibiotic resistance and multi-drug resistance in EPEC which isolated from children with diarrhea admitted to the hospital in Zanjan.

Materials and Methods: In this cross sectional study, 450 stool specimens were collected from children with diarrhea <5 years of age who referred to hospitals in Zanjan during 2012-2013. After culture and verifying of isolates by biochemical tests, Antimicrobial susceptibility was performed using the disk diffusion method (Bauer-Kirby) as recommended by CLSI to 13 antibiotics. Using PCR with specific primer pair's for *eaeA* gene, we detected EPEC in diarrheal and control samples.

Results: From 450 children with diarrhea in this study, 140 (31.1%) isolates of *E. coli* were identified. The frequency of EPEC isolated were 13.6% (19 isolates). The most prevalent resistance profile were showed for erythromycin (100%), amoxicillin and co-amoxiclav 89/47% , respectively. Imipenem was found as an effective antibiotic with susceptibility rate of 84.21%. Also 90.6% of isolates were resistant to three or more agents and considered as Multidrug resistance (MDR).

Conclusion: The results showed increase in profile for antibiotic resistance. Therefore it suggest that application of antibiogram test is necessary before antibiotic prescription for successful treatment and prevention of diarrhea caused by multi-drug resistance agents.

Keywords: *Escherichia coli*, Enteropathogenic *Escherichia coli*, children , Diarrhea, Antibiotic resistance