



پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد: زهرا شهسوار، ۱۳۹۴

## بررسی میزان شیوع ای کلای H7: O157 در کودکان کمتر از پنج سال استان های خراسان رضوی و شمالی به کمک تکنیک کشت و مولکولی

اشریشیا کلی O157:H7 معروف‌ترین سروتیپ باکتری‌های اشریشیاکلی مولد وروتوکسین می‌باشد. ازنقطه‌نظر بالینی و بهداشتی این سویه تاکنون به‌عنوان مهم‌ترین سروتیپی بوده که در سطح جهان باعث ایجاد بیماری اسهال خونی شده است. کودکان مبتلا به عفونت‌های دستگاه گوارش ناشی از Ecoli O157:H7 در معرض خطر ابتلا به سندروم اورمی همولیتیک (HUS) قرار دارند، این بیماری به علت ایجاد نارسایی حاد کلیوی می‌تواند کشنده باشد. دامنه علائم بالینی آلودگی با این سویه وسیع بوده و اغلب تشخیص را دشوار می‌کند. این پژوهش باهدف بررسی میزان شیوع اشریشیا کلی O157:H7 در کودکان اسهالی کمتر از 5 سال استان‌های خراسان رضوی و شمالی با استفاده از روش کشت سلولی و مولکولی انجام شد. در این بررسی 37 نمونه مدفوعی کودکان مبتلابه اسهال جمع‌آوری و برای شناسایی سویه موردنظر مراحل مختلف کشت سلولی روی نمونه‌ها انجام شد. در مرحله بعد DNA باکتری‌ها جهت بررسی‌های مولکولی استخراج و واکنش PCR برای شناسایی ژن‌های مولد شینگاتوکسین stx1A و stx2A انجام شد. محصولات PCR بر روی ژل آگارز، الکتروفورز گردید و سپس با دستگاه Gel document مورد بررسی قرار گرفت. روش‌های کشت سلولی و PCR به‌طور مشابه وجود این سویه را در یک نمونه شناسایی کردند. بر اساس واکنش PCR سویه شناسایی شده دارای هر دو ژن stx1A و stx2A بود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که Ecoli O157:H7 به میزان 2.7% در بروز بیماری اسهال کودکان کمتر از 5 سال استان‌های یادشده نقش داشته است. تشخیص این سویه به‌طور معمول در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی امکان‌پذیر نیست. با توجه به حساسیت، سرعت و ویژگی مناسب روش PCR در تشخیص باکتری E.coli O157:H7، لازم است استفاده از این روش به‌عنوان یک روش معمول در آزمایشگاه‌های مرجع مورد استفاده قرار گیرد و یا اینکه حداقل برای شناسایی موارد مشکوک در مراکز طبی به کار گرفته شود.

کلیدواژه‌ها: stx1A- stx2A- PCR- HUS -Ecoli O157:H7- شیوع

شماره‌ی پایان‌نامه: ۱۲۷۳۰۵۶۰۹۴۱۰۰۵

تاریخ دفاع: ۱۳۹۴/۱۱/۱۷

رشته‌ی تحصیلی: زیست فناوری (بیوتکنولوژی) گرایش میکروبی

دانشکده: علوم پایه

استاد راهنما: دکتر علی‌اکبر جنت‌آبادی

استاد مشاور: دکتر محمدرضا سعیدی اصل

**M.A. Thesis:**



## Survey of prevalence of Ecoli o: H in children less than 5 years in razavi and north khorasan provinces in Iran by culture and PCR

Escherichia coli O157: H7 is the most popular verotoxin-producing Escherichia coli bacteria serotype. From the standpoint of clinical and public health, this strain has been the most important serotype which caused dysentery disease in the world. Children with gastrointestinal infections caused by E Coli O157: H7 are exposed to the risk of hemolytic uremic syndrome (HUS). This disease can be fatal due to acute renal failure. The range of clinical signs of infection with this strain is extensive and makes the diagnosis difficult. This study is to investigate the prevalence of E. coli O157: H7 in diarrheic children less than 5 years in Khorasan Razavi and Khorasan Shomali provinces using cell and molecular culture method. This study collected 37 stool samples of children with diarrhea. To identify the desired strain, different stages of the cell culture were performed on samples. In the next step, bacterial DNA was extracted for molecular studies. PCR test was done to detect shiga toxin-producing genes of stx1A and stx2A. PCR products on agarose gel were electrophoresed and investigated by gel document device. Cell testing methods and PCR similarly identified the presence of this strain in a sample. According to PCR reaction, the detected strain had both genes, stx1A and stx2A. The results of this study showed that Ecoli O157:H7 has played a role at the rate of 2.7% in the incidence of diarrhea in children less than 5 years of the mentioned provinces. Diagnosis of this strain is not normally possible in clinical laboratories. With respect to sensitivity, speed and good features of PCR method in detection of E Coli O157: H7 bacteria, it is necessary to use this method as a routine procedure in reference laboratories or in the medical centers to identify suspected cases.