

## باکتری های انتروپاتوژن نمونه کودکان کمتر از ۵ سال مبتلا به اسهال

دکتر محمدحسین سالاری<sup>۱</sup> فاطمه حکیمیان<sup>۱</sup>

واژه های کلیدی: باکتری های انتروپاتوژن، کودکان، اسهال

### چکیده

عفونت های حاد دستگاه گوارش یکی از شایع ترین عفونت های انسانی است، به طوری که هر سال بالغ بر ۱۵ درصد کودکان در کشورهای در حال توسعه قبل از ۳ سالگی به علت این بیماری جان خود را از دست می دهند.

در این مطالعه باکتری های انتروپاتوژن موجود در نمونه مدفوع ۵۵۸ کودک مبتلا به اسهال کمتر از ۵ سال را مورد بررسی قرار داده که نتایج بدست آمده بدین صورت است.

۱- باکتری های بی هوازی: کلسترییدیوم دیفیسیل توکسی ژنیک ( توأم باتوکسین باکتری ) ۲ مورد، ۳/۶ درصد و کلسترییدیوم پرفرنجنس انتروتوکسی ژنیک، دیده نشده است.

۲- باکتری های میکروآئروفیل: کامپیلوباکترژوونی ۸ مورد، ۱۴/۶ درصد.

۳- باکتری های هوازی بی هوازی اختیاری: سالمونلا تیفی موریوم ۴ مورد، (۷/۳ درصد) و سالمونلا هاوانا ۱ مورد، (۱/۸ درصد)؛ شیگلا دیسانتری ۴ مورد، (۷/۳ درصد)؛ شیگلا فلکسنری ۸ مورد، (۱۴/۶ درصد)؛ شیگلا بوئیدی ۱ مورد، (۱/۸ درصد)؛ شیگلا سونتی ۷ مورد، (۱۲/۷ درصد)؛ اشریشیاکلی ۱۳ مورد، (۲۳/۶ درصد)؛ یرسینیا انتروکولیتیکا و یریکلرا، دیده نشده است؛ آئروموناس هیدروفیلا ۶ مورد، (۱۰/۹ درصد)؛ پلزیوموناس شیگلویید ۱ مورد، (۱/۸ درصد).

### سراغاز

درمیان عفونت های گوناگون یکی از جدی ترین نوع آن عفونت دستگاه گوارش بوده که سالیانه در آسیا، آفریقا و امریکای لاتین ۱۰ - ۵ میلیون نفر به علت ابتلا به این بیماری جان خود را از دست می دهند. این بیماری را یکی از علل اصلی مرگ و میر انسان در ۵ سال اول زندگی می دانند. اگرچه شرایط اقتصادی، اجتماعی و زیستی در بروز و ظهور این بیماری و دیگر بیماری های عفونی مخصوصاً در کشورهای فقیر و در حال توسعه نقش مهمی دارند، علت اصلی

۱- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران،

بیماری را میکروارگانیزم های مختلفی مانند ویبریوکلا، سالمونلا، شیگلا، اشریشیاکلی، یرسینیا، کامپیلوباکتر، روتاویروس ها، نوروالک ویروس ها، ژیا ریدیا و آمیب آنتامبا هستولیتیکا کریپتواسپریدیوم و از گروه باکتری های بی هوازی کلستریدیوم دیفیسیل، کلستریدیوم پرفرنجنس و حتی باکتریوئیدها و آنروبیواسپریلوم می دانند. کلستریدیوم دیفیسیل ایجاد اسهال یا انتروکولیت شدید و مزمنی می کنند که بیماری اغلب به دنبال مصرف نوعی آنتی بیوتیک عارض شده و علت اصلی بیمار انتروتوکسین و سیتوتوکسین باکتری می باشد.

در کشورهای توسعه یافته عوامل اسهال عفونی در بزرگسالان باکتری هایی مانند شیگلا، کامپیلوباکتر و در مراتب کمتر یرسینیا، ویبریوکلا، سالمونلا و در بین کودکان، سالمونلا، شیگلا، کامپیلوباکتر و در مراتب کمتر اشریشیاکلی، آئروموناس، یرسینیا، ویبریوکلا و کلستریدیوم ها گزارش می شود (۴،۶،۸،۱۳).

### نمونه گیری و روش بررسی

در این مطالعه ۵۵۸ نمونه مدفوع کودکان مبتلا به اسهال کمتر از ۵ سال را ضمن ثبت مشخصات آنها جمع آوری نموده سریعاً به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده بهداشت منتقل کرده، ضمن مطالعه میکروسکوپی (روش لام مستقیم، رنگ آمیزی و فرمل اتر) و ماکروسکوپی هر نمونه، آنها را طبق شرایط ذیل کشت نمودیم.

#### ۱- هوازی:

نمونه ها روی محیط های بلاداگار، سالمونلاشیگلاآگار، دزاکسی کولات سیترات و محیط اختصاصی ویبریوکلا<sup>۱</sup> کشت داده، آنها را حداقل به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار دادیم. سپس با استفاده از تست های اختصاص و افتراقی مانند اندول، متیل رد، وژزپرسکوئر، سیمون سیترات، اوره، سیانورپتاسیم، ژلاتین، لیزین دکربوکسیلاز، آرژنین دهیدروژناز، اورنیتین دکربوکسیلاز، فنیل آلانین دامیناز تخمیر گلوکز، لاکتوز، سوکروز، مانیتول و غیره باکتری ها را مورد شناسایی قرار داده سپس در مورد سالمونلا، شیگلا و اشریشیاکلی با بکارگیری آنتی بادی ضد سروتایپ های اختصاصی، آنها را سروتایپ نمودیم. لازم به ذکر است که در مورد شناسایی سالمونلا قبل از کشت، نمونه را به محیط مایع انتخابی غنی شده سلنیت اف برده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد قرار داده سپس آن را روی محیط مکانکی و یا اتوزین متیلن بلو کشت نمودیم. در مورد یرسینیا به روش اختصاص<sup>۲</sup> عمل کرده سپس با استفاده از محیط های سالمونلاشیگلا آگار و یا مکانکی آن را کشت نموده به مدت حداقل ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار دادیم (۱۰،۱۶).

1- TCBS

2- Cold enrichment

۲- میکروآتروفیل :

نمونه ها را روی محیط های اختصاصی کامپلویباکتر کشت نموده ، با استفاده از گازپک مخصوص آنها را به مدت حداقل ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ و نیز ۴۲ درجه سانتی گراد و شرایط میکروآتروفیل قرار داده سپس با بکارگیری تست های اختصاصی مانند اکسیداز ، کاتالاز ، حساسیت به نالیدیسیک اسید و غیره ، باکتری مورد شناسایی قرار گرفته است (۱۰،۱۶).

۳- بی هوازی :

نمونه ها را روی محیط های اختصاصی<sup>۱</sup> کشت داده با استفاده از گازپک مخصوص به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار دادیم. سپس باکتری های جدا شده را با استفاده از تست های اختصاصی مورد شناسایی قرار داده جهت بررسی توکسین کلسترییدیوم دیفیسیل از کشت سلول هلا به روش ذیل استفاده شده است. باکتری ها را روی محیط مخصوص<sup>۲</sup> کشت داده به مدت ۴ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری می کنیم. با استفاده از فسفات بافر (  $PH = 7/2$  ) از محیط کشت ۴ روزه فوق ( یا نمونه مدفوع ) محلولی با رقت ۱/۱۰ تهیه نموده آن را به مدت ۱۵ دقیقه با دور RPM ۲۵۰۰ سانتریفوژ کرده سپس قسمت فوقانی رسوب را برداشت نموده توسط فیلتر ۰.۴۵ میکرون فیلتر می نماییم.

محیط اختصاصی کشت سلول همراه با سلول های هلا<sup>۳</sup> فراهم نموده ، به هر حفره میکروتایتسرپلیت مقدار ۰/۲ میلی لیتر از آن می افزاییم ( در هر میلی لیتر محیط می بایست  $10^4 \times 2/5$  ) عدد سلول باشد ). به هر حفره میکروتایتسرپلیت مقدار ۰/۱ میلی لیتر از محلول سانتریفوژ فیلتر شده فوق با رقت ۱/۴۰ می افزاییم. میکروتایتسرپلیت را در شرایط اتمسفر ۵ و درصد گاز کربنیک به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار می دهیم هر گاه حداقل ۵۰ درصد سلول ها گرد شوند ( بمیرند ) نتیجه آزمایش مثبت درغیراین صورت منفی قلمداد می شود.

جهت کنترل آزمایش می بایست از توکسین و آنتی توکسین اختصاصی و استاندارد باکتری استفاده نمود. ضمناً در این مطالعه برای شناسایی ژناریدیا لامبلیا و آمیب آنتامیبا هیستولیتیکا به روش فرمل اترولام مستقیم کار شده است. (۲،۹،۱۰،۱۱،۱۴،۱۹،۲۰).

یافته ها

نمونه های مربوط به گروه سنی کمتر از ۵ سال را طبق شترنگه شماره یک گردآوری موده آنها را از نظر باکتری های پاتوزن هوازی بی هوازی اختیاری ، میکروآتروفیل ، بی هوازی ————ورد بررسی قرار داده که طبق شترنگه های شماره ۲ - ۳ و نمودارهای مربوطه ۵۵ نمونه

1- Cycloserine cefoxitin fructose agar (CCFA) and brucella agar.

2- Brain heart infusion broth (BHI)

3- Minimum Essential medium + Hella cell

( ۹/۸ درصد ) دارای باکتری های انتروپاتوژن ذیل بودند.

۱- باکتری های بی هوازی :

در مجموع ۲۷ نمونه دارای کلستریدیوم دیفیسیل بود که از این تعداد ۲۲ مورد باکتری غیر توکسین زا و ۵ مورد دیگر توکسین زا بودند. از گروه اخیر ۲ نمونه نیز دارای توکسین باکتری بوده لذا احتمالاً می توان این دو نمونه را مربوط به کودکانی دانست که عامل بیماری آنها کلستریدیوم دیفیسیل بوده است ( شترنگه شماره ۴ و نمودار مربوطه ).

۲- باکتری های میکروآئروفیل :

از این گروه تنها کامپیلوباکتر ژورونی از ۸ نمونه جدا گردید.

۳- باکتری های هوازی - بی هوازی اختیاری :

- سالمونلا ۵ مورد ، گونه های جدا شده این باکتری عبارتند از ۴ مورد سالمونلاتینی موریوم و یک مورد سالمونلا هاوانا.

- شیگلا ۲۰ مورد ، گونه های جدا شده این باکتری عبارتند از : شیگلا فلکسنری ۸ مورد ، از این تعداد دو مورد سروتایپ ۲ ، یک مورد سروتایپ ۳ و یک مورد سروتایپ ۶ میباشد. شیگلا بونیدی یک مورد ( سروتایپ یک ) ؛ شیگلا سونئی ۷ مورد ، از این تعداد ۵ مورد سروتایپ (I) و دو مورد سروتایپ (II) می باشد. شیگلا دیسانتری ۴ مورد ، از این تعداد ۲ مورد سروتایپ ۱ . یک مورد سروتایپ ۱۴ ، یک مورد سروتایپ ۲.

اشریشیاکلی ۱۳ مورد ، از این تعداد سه مورد سروتایپ 055K59 . سه مورد سروتایپ 0111K58 ، دو مورد سروتایپ 026K60 ، دو مورد سروتایپ 0126K71 ، یک مورد سروتایپ 0124K72 و یک مورد سروتایپ 028K73 می باشد. آئروموناس هیدروفیلا ۶ مورد و پلزیوموناس شیگلویید یک مورد.

ضمناً لازم به ذکر است که با بررسی های به عمل آمده مشخص گردید که ۱۹ نمونه ( مربوط به ۱۰ کودک مذکر و ۹ کودک مونث ) دارای تک یاخته ژیا ردیالامبلیا بوده . که یک مورد از این نمونه ها علاوه بر تک یاخته مذکور کامپیلوباکتر ژورونی از آن جدا گردید.

### گفتگو و بهره گیری پایانی

بیماری های عفونی دستگاه گوارش یکی از جدی ترین نوع عفونت می باشد که هر سال بالغ بر ۱۰ میلیون نفر در جهان را به کام مرگ می برد. اسهال های عفونی معمولاً در مناطقی از جهان بیشتر شایع است که مردم از فقر ، سوءتغذیه ، کمبود امکانات لازم بهداشتی و درمانی رنج می برند. عامل بروز این بیماری طیف گسترده ای از میکروارگانیسم یعنی تعدادی از باکتری ها، ویروس ها و تک یاخته ها می باشند. باکتری های مهمی که در این رابطه مطرح هستند را می توان گونه های مختلف سالمونلا ، شیگلا ، یرسینیا، ویبریولکرا ، کامپیلوباکتر ، اشریشیاکلی و از گروه باکتری های بی هوازی کلستریدیوم دیفیسیل و تایپ هایی از کلستریدیوم پرفرنجنس نام برد (۴،۱۳).

در این مطالعه فراوانی نسبی باکتری های انتروپاتوژن جدا شده از نمونه کودکان مبتلا به اسهال عبارتند از ۳/۶ درصد کلسترییدیوم دیفیسیل ( توکسی ژنیک ) ، ۱۴/۶ درصد کامپیلوباکتر ژورونی ، ۷/۳ درصد سالمونلاتیفی موریوم ، ۱/۸ درصد سالمونلاهاوانا ، ۷/۳ درصد شیگلادیسانتری ، ۱۴/۶ درصد شیگلافلکسنری ، ۱/۸ درصد شیگلابوییدی ، ۱۲/۷ درصد شیگلاسونتی ، ۲۳/۶ درصد اشریشیاکلی ( انتروپاتوژن و انترواینوسیو ) ، ۱۰/۹ درصد آئروموناس هیدروفیلا و ۱/۸ درصد پلزیموناس شیگلویید.

در رابطه با اپیدمیولوژی و اتیولوژی اسهال های عفونی مخصوصاً در بین کودکان ایران و نیز سایر کشورهای جهان مطالعات نسبتاً وسیعی صورت گرفته است. نتایج پژوهش تعدادی از محققین کشورمان در سال های ۱۹۷۵ ، ۱۹۸۷ ، ۱۹۹۱ ، ۱۹۹۴ ، ۱۹۹۶ و نیز دیگر پژوهشگران داخلی و خارجی کم و بیش مؤید نتایج این تحقیق است لیکن پیرامون نتایج مذکور می توان موارد ذیل را مطرح نمود. (۳،۵،۷،۱۵،۱۷،۱۸).

۱- باتوجه به این که کلسترییدیوم دیفیسیل فلورنرمال روده ۳ درصد افراد سالم و ۶۰ - ۲۰ درصد اطفال ۸ - ۱ ماهه می باشد ، گزارش می شود که این باکتری قادر است ، اغلب در بزرگسالان پس از مصرف نوعی آنتی بیوتیک بیماری های حاد و جدی اسهال و نیز کلیت پسود و ممبران را باعث گردد. اگرچه بروز بیماری های مذکور ناشی از این باکتری در کودکان کمتر گزارش شده است. لیکن نتایج این بررسی ، نیاز تحقیقات بیشتری را روی کودکان مبتلا به اسهال باعث می گردد. نتایج تفصیلی این بررسی در این رابطه بدین صورت است که جمعاً ۲۷ نمونه از کل نمونه های مورد مطالعه واجد باکتری مذکور بود که از این تعداد ۲۲ مورد باکتری غیرتوکسین زا و ۵ مورد دیگر توکسین زا بودند.

موضوع قابل تامل اینکه با استفاده از کشت سلول مشخص گردید که ۲ نمونه علاوه بر داشتن کلسترییدیوم دیفیسیل توکسین زا دارای توکسین این باکتری نیز بود. این پدیده را شاید بتوان اینطور نتیجه گیری کرد که این دو نمونه مربوط به کودکانی است که عامل بیماری آنها این باکتری است و سه نمونه دیگر به کودکانی تعلق دارد که گرچه عامل بیماری آنها را نمی توان این باکتری دانست بلکه خطر ابتلا به بیماری انتروکولیت ناشی از این باکتری آنها را تهدید می نماید (۱،۱۲).

۲- تفاوت فراوانی باکتری های انتروپاتوژن و نیز عدم حضور بعضی از این باکتری ها در گزارش ها ، مؤید این مطلب می باشد که لیست باکتری های انتروپاتوژن در کشورهای مختلف گاهی تفاوت فاحشی دارد. به طوری که گزارش شده ، در کشورهای توسعه یافته اغلب باکتری های سالمونلا ، شیگلا ، کامپیلوباکتر و در مراتب کمتر اشریشیاکلی ، آئروموناس ، یرسینیا ، ویبریولکرا و کلسترییدیوم را به عنوان عامل اسهال کودک معرفی می نمایند. مطمئناً باتوجه به وضعیت اقتصادی بهداشتی ، آداب و سنن جوامع مختلف ، طیف باکتری های انتروپاتوژن و نیز فراوانی آنها می تواند متفاوت باشد. گرچه در این رابطه نمی توان فاکتورهای دیگری را از جمله تبعر پرسنل آزمایشگاه باکتریولوژی ، وجود امکانات کشت باکتری ها در شرایط مختلف

( هوازی ، بی هوازی ، میکروآتروفیل ) ، فراهم بودن مواد و لوازم مورد نیاز و غیره را نادیده گرفت. (۴،۸،۱۳).

۳- نتایج تحقیقاتی که در مورد کلیه باکتری های انتروپاتوژن گزارش می شود می بایست شرایط رشد کلیه باکتری های انتروپاتوژن را براساس نیاز و یا عدم نیاز آنها به اکسیژن ( هوازی ، بی هوازی و میکروآتروفیل ) و نیز محیط ها و تست های بیوشیمیایی اختصاصی آنها برنامه ریزی نمود. دراین مطالعه سعی شده است علاوه بر کشت نمونه ها در شرایط هوازی ، بی هوازی اختیاری و بی هوازی آنها را نیز در شرایط میکروآتروفیل کشت نماییم. در این رابطه باکتری میکروآتروفیل جدا شده کامپیلوباکترزروزی می باشد که از ۸ نمونه ( ۱۴/۵ درصد ) جدا گردید. دراین مطالعه نیز باتوجه به اهمیت تعدادی از باکتری ها در بروز اسهال کودکان مانند آتروموناس هیدروفیلا و پلزیوموناس شیگلویید و نیز معرفی سروتایپ های غالب بعضی از گونه های باکتری های انتروپاتوژن در ایجاد اسهال کودکان بررسی هایی به عمل آورده که نتایج آن را می توان در شترنگه های ۲ و ۳ ملاحظه نمود.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از آقای دکترمصداقی نیا ، ریاست محترم دانشکده بهداشت ، دانشگاه علوم پزشکی تهران ، استاد ارجمند سرکار خانم دکترمعظمی از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران ، همکاران بخش باکتریولوژی دانشکده بهداشت ، خانم ها حافظی ، شریعتی ، قریشی ، ایرانپرست و آقای ثابت زاده و از مرکز آموزش و تحقیقات بهداشتی یزد ، آقای غلامرضاحسن پور، محمدمهدی حکیمیان و خانم سحر امیرمعافی صمیمانه تشکر می نماید.

### شترنگه ۱ - توزیع فراوانی بیماران مورد مطالعه برحسب سن و جنس

جمع (درصد)	مونث (درصد)	مذکر(درصد)	جنس سن به سال
۱۷۴ (۳۱/۲)	۷۹ (۲۹/۹)	۹۵ (۳۲/۳)	< ۱
۱۱۴ (۲۰/۴)	۵۴ (۲۰/۴)	۶۰ (۲۰/۴)	۱ - ۲
۱۳۱ (۲۳/۴)	۶۱ (۲۳/۱)	۷۰ (۲۳/۸)	۳ - ۴
۱۳۹ (۲۵)	۷۰ (۲۶/۵)	۶۹ (۲۳/۴)	۴ - ۵
۵۵۸ (۱۰۰)	۲۶۴ (۱۰۰)	۲۹۴ (۱۰۰)	جمع

شترنگه ۲ - توزیع فراوانی باکتری های انتروپاتوژین جدا شده از ۵۵ نمونه بیمار مبتلا به اسهال  
بر حسب جنس

جمع(درصد)	مونث(درصد)	مذکر(درصد)	باکتری انتروپاتوژن	
			گونه	جنس
۲ (۳/۶)	۱ (۳/۶)	۱ (۳/۷)	دیفیسیل	کلستریدیوم
-	-	-	پرفرنجنس انتروتوکسی ژنیک	کلستریدیوم
۸ (۱۴/۵)	۷ (۲۵)	۱ (۳/۷)	زوزونی	کامپلوباکتر
۴ (۷/۳) ۱ (۱/۸)	۱ (۳/۶) -	۳ (۱۱/۱) ۱ (۳/۷)	تیفی موریوم هاوانا	سالمونلا
۴ (۷/۳) ۸ (۱۴/۵) ۱ (۱/۸) ۷ (۱۲/۷)	- ۴ (۱۴/۳) - ۳ (۱۰/۷)	۴ (۱۴/۸) ۴ (۱۴/۸) ۱ (۳/۷) ۴ (۱۴/۸)	دیسانتري فلکسنري بوئیدی سوننی	شیگلا
۱۳ (۲۳/۶)	۹ (۳۲/۱)	۴ (۱۴/۸)	کلی	اشرشیا
-	-	-	انتروکولیتیکا	یرسینیا
-	-	-	کلرا	ویبریو
۶ (۱۰/۹)	۲ (۷/۱)	۴ (۱۴/۸)	هیدروفیلا	آئروموناس
۱ (۱/۸)	۱ (۳/۶)	-	شیگلویید	پلزیموناس
۵۵ (۱۰۰)	۲۸ (۱۰۰)	۲۷ (۱۰۰)		جمع

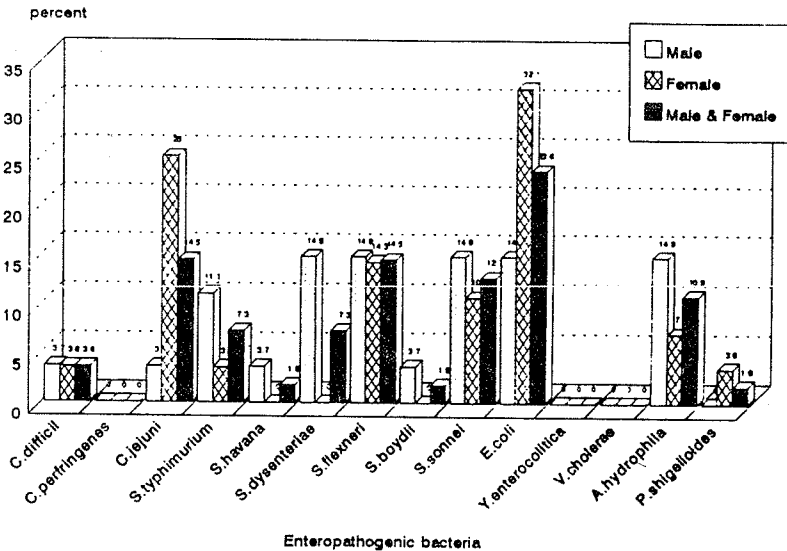
شترنگه ۳ - فراوانی سروتایپ های سالمونلا ، شیگلا و اشرشیاکلی جدا شده از نمونه های مورد مطالعه

سروتایپ	گونه یا گروه	جنس
۴ (۱.۴.۵.۱۲) ۱ (۱۳.۲۳)	تیفی موریوم هاوانا	سالمونلا
۱ (۲) ، ۱ (۱۴) ، ۲ (۱) ۱ (۶) ، ۱ (۳) ، ۲ (۲) ۱ (۱) ۲ (II) ، ۵ (I)	دیسانتري فلکسنري بوئیدی سوننی	شیگلا
۳ (0111K58) ، ۳ (055K59) ۲ (0126 K71) ، ۲ (026 K60) ۱ (028 K73) ، ۱ (0124K72)	انتروپاتوژنیک آئروپاتوژنیک	اشرشیاکلی

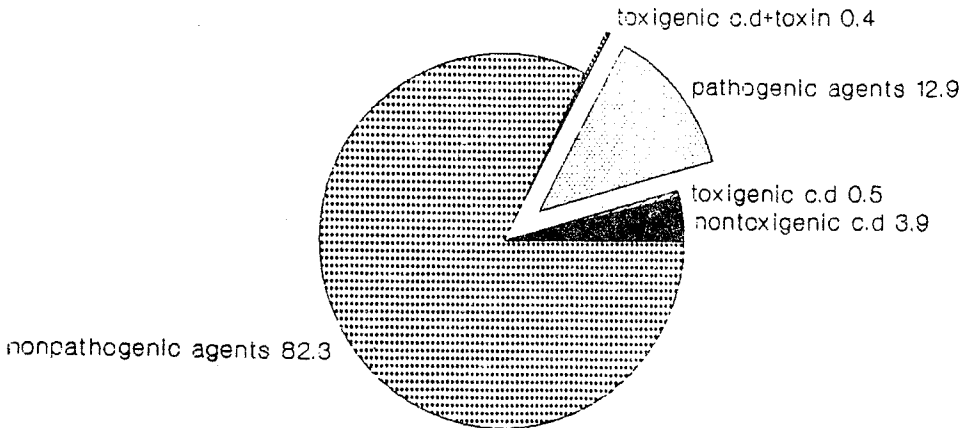
شترنگه ۴ - فراوانی میکروارگانسیم های پاتوژن و انواع کلستریدیوم دیفیسایل جدا شده از ۵۵۸ نمونه مورد مطالعه

درصد	تعداد	میکروارگانسیم *
۱۲/۹	۷۲	پاتوژن
۸۲/۳	۴۵۹	غیرپاتوژن
		کلستریدیوم دیفیسایل
۳/۹	۲۲	غیرتوکسین زا
۰/۵	۳	توکسین زا
۰/۴	۲	توکسین زاهمراه با توکسین باکتری در نمونه
۱۰۰	۵۵۸	جمع

\* ۵۵ مورد باکتری انتروپاتوژن و ۱۹ مورد ژیاوردیلامبلیا







نمودار ۲ - درصد کلستریدیوم دیفیسیل و دیگر میکروارگانیسم های جدا شده از نمونه ها

#### کتابنامه

- 1- Andrejak , M. ; Schmit , J.I. and Tondriaux , A. (1991): The clinical significance of antibiotic associated pseudomembranous colitis. Drug saf. 6(5): 339 - 349.
- 2- Atisch , M. (1987): Detection of *clostridium difficile* toxin in various tissue culture monolayers. Journal of Clinical Microbiology. 1992 - 2000.
- 3- Badalian , K. ; Sheiban , F. ; Nategh , R. et al. (1975): Distribution of enteropathogens associated with diarrhea among infants and children of high and low socio - economic classes in Tehran. Iranian J. Publ. Hlth. 4: 107 - 121.
- 4- Bishop , W.P. (1988): Bacterial gastroenteritis. Pediatr Clin North Am. 53: 69 - 77.
- 5- Bokaian , M. (1991): Study of *Campylobacter* in gastroenteritis of Zahedan region. M.S.P.H. dissertation , Faculty of Health. Tehran University of Medical Sciences , Tehran.

- 6- Bowie , M.P. (1992): Descriptive terminology of diarrheal disease in infants and young children. J. Trop. Pediatr. 38: 55-56.
- 7- Chitsaz , M. (1991): Study of *Yersinia enterocolitica* and enteropathogenic *E. coli* in children suffering from diarrhea. M.S.P.H. dissertation , Faculty of Health , Tehran University of Medical Sciences , Tehran.
- 8- Davies , J.C. (1990): Disease of the gastrointestinal and liver. London : churchill livingston. 1990 , 543 - 555.
- 9- Dowell , V.R. ; Howkings , T.M. (1977): Laboratory method in anaerobic bacteriology cdc. Atlanta.
- 10- Ellen , J.D. ; Fingold , S.M. (1990): Diagnostic Microbiology. Mosby company.
- 11- Idaluzz , A.C. (1980): Detection of clostridial toxin in stool from children with diarrhea. J. Med. Microbiol. 22: 29-31.
- 12- Larson , H.E. ; Price , A.B. and Honour , P. (1978): *Clostridium difficile* and the etiology of pseudomembranouse colitis. Lancet. 1:1063.
- 13- Mandell , G.L. (1990): Principles and practice of infectious disease New york: Churchill livingston. 837 - 850.
- 14- Ryan , R.W. ; Kwasnik , I. and Tilton , R.C. (1980): Rapid detection of clostridium difficile toxin in human feces. J. Clin Microbial. 12: 776-776.
- 15- Soltan Dallal , M.M. ; Chitsaz , M. (1996): Prevalence of *Yersinia enterocolitis* in pediatric dysentery. The Journal of faculty of medicine. Tehran University of medical sciences and health services. 54th year , Number 1.
- 16- Sonnenwirth , A.C. and Gradwohls , S. (1980): Clincial laboratory methods and diagnosis. Mosby company. chapter 79.
- 17- Taravati , M.R. (1987): Study of different *salmonella* , *Shigella* and enteropathogenic *E. coli* serotypes of acute gastroenteritis in children under five years and determination of the identified serotypes resistant to drug M.S.P.H. dissertation , Faculty of Health. Tehran University of Medical Sciences , Tehran.
- 18- Velayati , A.A. ; Ghazi Saidi , K. and Hosseinzadeh , H. (1994): Study of bacterial agents of intestine in infants under one year of age suffering gastroenteritis observed among the Iraqi refugees residing at Iran , S western camp. Medical Journal of the Islamic Republic of Iran. Volume 7. Number 4: 227-233.
- 19- Viscidi , R. (1983): Serum antibody response to toxin A and B *Clostridium difficile*. J infect disease. 148 - 193.
- 20- Whaley , D.N. ; Gorman , G.W. (1977): An inexpensive device for evacuating the gassing anaerobic systems with in house vacuum. J. Clin. Microbial. 5: 668-669.