

## تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی گونه‌های شیگلا و اشرشیاکلی انتروپاتوژن جدا شده از کودکان مبتلا به اسهال مراجعه کننده به بیمارستان ولی عصر<sup>ع</sup> بروجن ۱۳۷۷

سیف اله برجیان \*

### خلاصه:

این بررسی از سال ۷۶ - ۱۳۷۷ بر روی نمونه‌های مدفوع ۲۵۹ کودک زیر دو سال مبتلا به اسهال در بیمارستان آموزشی درمانی ولی عصر بروجن بعمل آمد. در ۴۶ مورد (۱۷/۷۶ درصد) از بیماران، باکتریهای بیماری زای روده‌ای جدا گردید، که از بین آنها گونه‌های شیگلا با ۲۰ مورد (۴۳/۴۸ درصد) و سویه‌های اشرشیاکلی انتروپاتوژن با ۱۴ مورد (۳۰/۴۳ درصد) شایعترین باکتریهای جدا شده از بیماران بودند. با انجام تست آنتی بیوگرام بروش Kirby - Bauer روی باکتریهای فوق با استفاده از ۱۲ نوع دیسکهای آنتی بیوتیک، مشخص گردید که ۱۰۰ - ۷۰ درصد از گونه‌های شیگلای جدا شده از بیماران نسبت به تتراسیکلین، آمپی سیلین، پنی سیلین، سفالوتین، اریترومایسین، کوتریموکسازول و آموکسی سیلین مقاوم و ۱۰۰ - ۷۵ درصد نسبت به نالیدیکسیک اسید، جنتامایسین، آمیکاسین، نیتروفوراتوئین و کلرامفنیکل حساس بوده‌اند. بعلاوه، ۱۰۰ - ۸۵ درصد از سویه‌های اشرشیاکلی انتروپاتوژن جدا شده از بیماران نسبت به تتراسیکلین، پنی سیلین، اریترومایسین و کوتریموکسازول مقاوم و ۱۰۰ - ۹۰ درصد نسبت به نالیدیکسیک اسید، جنتامایسین و آمیکاسین حساس بوده‌اند. بیشتر سویه‌های اشرشیاکلی انتروپاتوژن نسبت به آموکسی سیلین، سفالوتین، آمپی سیلین، کلرامفنیکل و نیتروفوراتوئین پاسخ متوسط داده‌اند.

واژه‌های کلیدی: اسهال، شیگلا، اشرشیاکلی انتروپاتوژن، آنتی بیوگرام.

### مقدمه:

و تغذیه‌ای، فاکتورهای محیطی نظیر شرایط جغرافیایی، جمعیت، تسهیلات بهداشتی، منابع آب و غذا نیز در شیوع اسهالهای باکتریایی حتی در کشورهای توسعه یافته و صنعتی بسیار مؤثر بوده، و سالانه علیرغم ایجاد آسیب‌ها و تلفات انسانی باعث صرف هزینه‌های چشمگیر و قابل توجهی می‌شوند (۱، ۵ و ۱۰). اکثر باکتریهای بیماری‌زای گوارشی از جمله گونه‌های

اسهالهای باکتریایی در سراسر جهان بویژه در کشورهای در حال توسعه (۶) از متداولترین بیماریهای عفونی محسوب شده و میتوانند در گروههای مختلف سنی انسان بویژه کودکان منجر به تهدید سلامتی و مرگ و میر تا حدود ۲۰ درصد شوند (۱۱ و ۳). علاوه بر فاکتورهای میزبانی از قبیل سن، جنس و عادات فرهنگی

می‌باشد، مراجعه و با تشخیص اسهال توسط پزشکان متخصص اطفال بستری شدند.

#### ب) وسایل و مواد مورد استفاده:

۱ - محیط‌های کشت معمولی، افتراقی و اختصاصی شامل:

- آگار مغذی (nutrient Agar)، مکانیکی آگار، آبگوشت سلفیت F، محیط SH2 - Indol (SIM)، Motility -، سیترات، آبگوشت اوره و محیط (Methyl Red-Voges Proskauer) MR - VP ساخت شرکت تجاری مرک آلمان.

- محیط کشت اتوزین متیلن بلو (EMB) و سالمونلا، شیگلا آگار (SSA)، ساخت شرکت تجاری اکسوتید انگلیس.

- محیط کشت TSI ساخت شرکت بیوریکس فرانسه.

۲ - آنتی سرم‌های شیگلا ساخت شرکت بهار افشان ایران و آنتی سرم‌های اشرشیاکلی انتروپاتوژن ساخت شرکت بیوریکس فرانسه.

۳ - دیسک‌های آنتی بیوتیک ساخت شرکت بیوریکس فرانسه.

۴ - رنگ‌های رنگ آمیزی گرم (و محلول‌های مربوطه) ساخت شرکت مرک آلمان.

۵ - تجهیزات آزمایشگاهی از قبیل:

انکوباتور، ساخت شرکت inculab ایران.  
فور (oven)، ساخت شرکت Memert آلمان.  
اتوکلاو، ساخت شرکت Hirayama ژاپن.  
میکروسکوپ، ساخت شرکت زایس آلمان.  
و سایر وسایل مورد استفاده آزمایشگاه

شیگلا و اشرشیاکلی انتروپاتوژن<sup>(۱)</sup> (EPEC) از روده انسانها یا حیوانات آلوده منشاء گرفته و به طرق مختلف از مسیر مدفوعی - دهانی (Fecal - Oral) وارد بدن افراد می‌گردند، سپس از طریق مکانیزم‌های بیماری‌زای خود باعث التهاب و تخریب مخاط روده و اختلال در تعادل دو طرفه آب و الکترولیتها شده و ایجاد اسهال می‌نمایند (۹، ۱۱ و ۱۲).

از آنجائیکه تشخیص عوامل باکتریایی مولد اسهال و انجام تست آنتی بیوگرام روی هر یک از عوامل جدا شده از بیماران میتواند علاوه بر کمک به درمان مناسب و بموقع آنها (با استفاده از آنتی بیوتیک‌های مؤثر روی ارگانیسم عامل عفونت)، باعث بکارگیری تدابیر صحیح بهداشتی بمنظور پیشگیری و کنترل موارد ابتلاء نیز گردد.

لذا ما در این تحقیق بر آن شدیم تا علاوه بر تشخیص و جدا سازی شایعترین باکتریهای عامل اسهال کودکان زیر دو سال در این منطقه جغرافیایی از کشور، الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی آنها را نیز تعیین و معرفی نماییم تا در جهت نیل به اهداف فوق الذکر قدمی هر چند کوچک بر داشته باشیم.

#### نمونه‌ها، وسایل و روش کار:

##### الف) نمونه‌ها:

نمونه‌های مورد آزمایش و تحقیق عبارت بود از مدفوع یا نمونه مقعدی تمامی ۲۵۹ کودک زیر دو سالی که در طی تحقیق بمدت یکسال از اول آبان ۱۳۷۵ تا آخر مهر ماه ۱۳۷۶ به بیمارستان آموزشی، درمانی بروجن که مجهز به بخشهای تخصصی اطفال و نوزادان

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی و فراوانی نسبی حساسیت و مقاومت ۲۰ گونه شیگلا جدا شده از کودکان مبتلا به اسهال نسبت به آنتی بیوتیک

| آنتی بیوتیک      | حساس  |      | مقاوم |      | نیمه حساس |      |
|------------------|-------|------|-------|------|-----------|------|
|                  | تعداد | درصد | تعداد | درصد | تعداد     | درصد |
| نالید یکسیک اسید | ۲۰    | ٪۱۰۰ | ۰     | ٪۰   | ۰         | ٪۰   |
| جنتامایسین       | ۱۸    | ٪۹۰  | ۰     | ٪۰   | ۲         | ٪۱۰  |
| آمیکاسین         | ۱۷    | ٪۸۵  | ۰     | ٪۰   | ۳         | ٪۱۵  |
| نیتروفرانتوئین   | ۵     | ٪۲۵  | ۴     | ٪۲۰  | ۱۱        | ٪۵۵  |
| کلرامفنیکل       | ۳     | ٪۱۵  | ۵     | ٪۲۵  | ۱۲        | ٪۶۰  |
| آموکسی سیلین     | ۲     | ٪۱۰  | ۱۴    | ٪۷۰  | ۴         | ٪۲۰  |
| کو تریموکسازول   | ۱     | ٪۵   | ۱۷    | ٪۸۵  | ۲         | ٪۱۰  |
| اریترومایسین     | ۰     | ٪۰   | ۲۰    | ٪۱۰۰ | ۰         | ٪۰   |
| سفالوتین         | ۰     | ٪۰   | ۲۰    | ٪۱۰۰ | ۰         | ٪۰   |
| پنی سیلین        | ۰     | ٪۰   | ۲۰    | ٪۱۰۰ | ۰         | ٪۰   |
| تتراسیکلین       | ۰     | ٪۰   | ۲۰    | ٪۱۰۰ | ۰         | ٪۰   |
| آمپی سیلین       | ۰     | ٪۰   | ۲۰    | ٪۱۰۰ | ۰         | ٪۰   |

میکروبیولوژی که ذکر آنها ضروری بنظر نمی‌رسد.

#### ج) روش مطالعه:

ابتدا نمونه از نظر خصوصیات ماکروسکوپی (قوام و رنگ مدفوع) بررسی و دو اسمیر جداگانه بمنظور مشاهده مستقیم میکروسکوپی و رنگ آمیزی گرم تهیه و مورد آزمایش قرار میگرفت. براساس نتایج حاصل از اسمیرها و تحلیل‌های لازم، کشت روی محیط‌های کشت افتراقی و اختصاصی مکانیکی آگار (EMB)، SF، و SSA انجام و در انکوباتور ۳۷ بمدت ۲۴ ساعت قرار داده می‌شد تا پس از رشد کلنی و بررسی آن کشت بر روی محیط‌های کشت بیوشیمیائی از نظر چگونگی تخمیر قندها، تولید یا عدم تولید اسید، گاز، اندول،

SH2، آنزیم اوره آز و حرکت، مصرف یا عدم مصرف سیترات یا تست‌هایی که برای تشخیص باکتریهای بیماریزای روده بر حسب تشخیص اولیه لازم می‌باشند، انجام گیرد. پس از کسب نتایج و با مراجعه به جداول مربوطه جنس باکتری تشخیص قطعی داده شده و با کمک آنتی سرم‌های موجود گونه میکروبی شیگلا یا اشرشیاکلی انتروپاتوژن شناسایی می‌گردید.

در خصوص تعیین مقاومت یا حساسیت آنتی بیوتیکی باکتریهای جدا شده با روش ( Kirby - Bauer ) Disl diffusion ۱۲ نوع آنتی بیوتیک مورد آزمایش قرار گرفته و بر اساس قطر هاله شفاف عدم رشد باکتری روی محیط کشت نوتریت آگار و مقایسه با استاندارد،

جدول شماره ۲: توزیع فراوانی و فراوانی نسبی حساسیت و مقاومت ۱۴ گونه و EPEC جدا شده از کودکان مبتلا به اسهال نسبت به آنتی بیوتیکها.

| آنتی بیوتیک      | حساس  |       | مقاوم |       | نیمه حساس |       |
|------------------|-------|-------|-------|-------|-----------|-------|
|                  | تعداد | درصد  | تعداد | درصد  | تعداد     | درصد  |
| نالید یکسیک اسید | ۱۴    | ٪۱۰۰  | ۰     | ٪۰    | ۰         | ٪۰    |
| جنتامایسین       | ۱۳    | ٪۹۲/۹ | ۰     | ٪۰    | ۱         | ٪۷/۱  |
| آمیکاسین         | ۱۳    | ٪۹۲/۹ | ۰     | ٪۰    | ۱         | ٪۷/۱  |
| کلرامفنیکل       | ۱۲    | ٪۸۵/۷ | ۰     | ٪۰    | ۲         | ٪۱۴/۳ |
| آموکسی سیلین     | ۷     | ٪۵۰   | ۲     | ٪۱۴/۳ | ۵         | ٪۳۵/۷ |
| نیتروفورانتوئین  | ۴     | ٪۲۸/۶ | ۳     | ٪۲۱/۴ | ۷         | ٪۵۰   |
| سفالوتین         | ۳     | ٪۲۱/۴ | ۲     | ٪۱۴/۳ | ۹         | ٪۶۴/۳ |
| آمپی سیلین       | ۲     | ٪۱۴/۳ | ۴     | ٪۲۸/۶ | ۸         | ٪۵۷/۱ |
| کوآتریموکسازول   | ۰     | ٪۰    | ۱۲    | ٪۸۵/۷ | ۲         | ٪۱۴/۳ |
| اریترومایسین     | ۰     | ٪۰    | ۱۴    | ٪۱۰۰  | ۰         | ٪۰    |
| پنی سیلین        | ۰     | ٪۰    | ۱۴    | ٪۱۰۰  | ۰         | ٪۰    |
| تتراسیکلین       | ۰     | ٪۰    | ۱۴    | ٪۱۰۰  | ۰         | ٪۰    |

مقاومت یا حساسیت باکتریها به دیسکهای آنتی بیوتیک تعیین گردید (۴).

#### نتایج:

از کل نمونه‌های ۲۵۹ کودک مبتلا به اسهال زیر دو سال که شامل ۱۷۱ (۶۶/۰۲ درصد) پسر و ۸۸ (۳۳/۹۸ درصد) دختر بوده و مورد مطالعه قرار گرفتند. جمعاً از ۴۶ مورد (۱۷/۷۶ درصد) آنها باکتریهای بیماریزا جدا گردید.

در بین این عوامل، گونه‌های شیگلا شامل شیگلا فلکسنوری ۲۳/۹۱ درصد، شیگلا دیسانتریه ۱۰/۷۸ درصد، شیگلا سونه‌ای و بوبیدی هر کدام ۴/۳۵ درصد و با مجموع ۴۳/۴۸ درصد شایعترین گونه باکتریایی عامل

اسهال جدا شده از بیماران بوده و اشرشیاکلی اتروپاتوزن با ۳۰/۴۳ درصد در مرحله بعدی شیوع قرار داشت.

تمامی این عوامل مورد بررسی آنتی بیوگرام واقع شده و نتایج آن در جداول ۱ و ۲ تعیین و سایر باکتریهای جدا شده از این تحقیق به‌مراه دو باکتری فوق با درصد شیوع در جدول ۳ ارائه شده است. درصد مبتلایان بر حسب گروههای سنی در نمودار مشاهده می‌شود که نتایج، بر اساس تقسیم کودکان به سه گروه سنی نوزادان (زیر یک ماه)، کودکان ۶ - ۱ ماهه و کودکان ۲۴ - ۷ ماهه ارائه شده و همانطور که دیده می‌شود مبتلایان گروه سنی ۲۴ - ۷ ماهه از بالاترین درصد

جدول شماره ۳: توزیع فراوانی و فراوانی نسبی باکتریهای جدا شده از بیماران

| نوع باکتری           | فراوانی | تعداد  | درصد |
|----------------------|---------|--------|------|
| شیگلا فلکسنری        | ۱۱      | ۲۳/۹۱  |      |
| شیگلا دیسانتریه      | ۵       | ۱۰/۸۷  |      |
| شیگلا سونه‌ای        | ۲       | ۴/۳۵   |      |
| شیگلا بویدی          | ۲       | ۴/۳۵   |      |
| EPEC                 | ۱۴      | ۳۰/۴۳  |      |
| سالمونلاتیفی         | ۲       | ۴/۳۵   |      |
| سالمونلا پاراتیفی B  | ۲       | ۴/۳۵   |      |
| پروتئوس              | ۳       | ۶/۵۲   |      |
| کلبسیلا              | ۳       | ۶/۵۲   |      |
| یرسینیا اتروکولیتیکا | ۲       | ۴/۳۵   |      |
| جمع                  | ۴۶      | ۱۰۰/۰۰ |      |

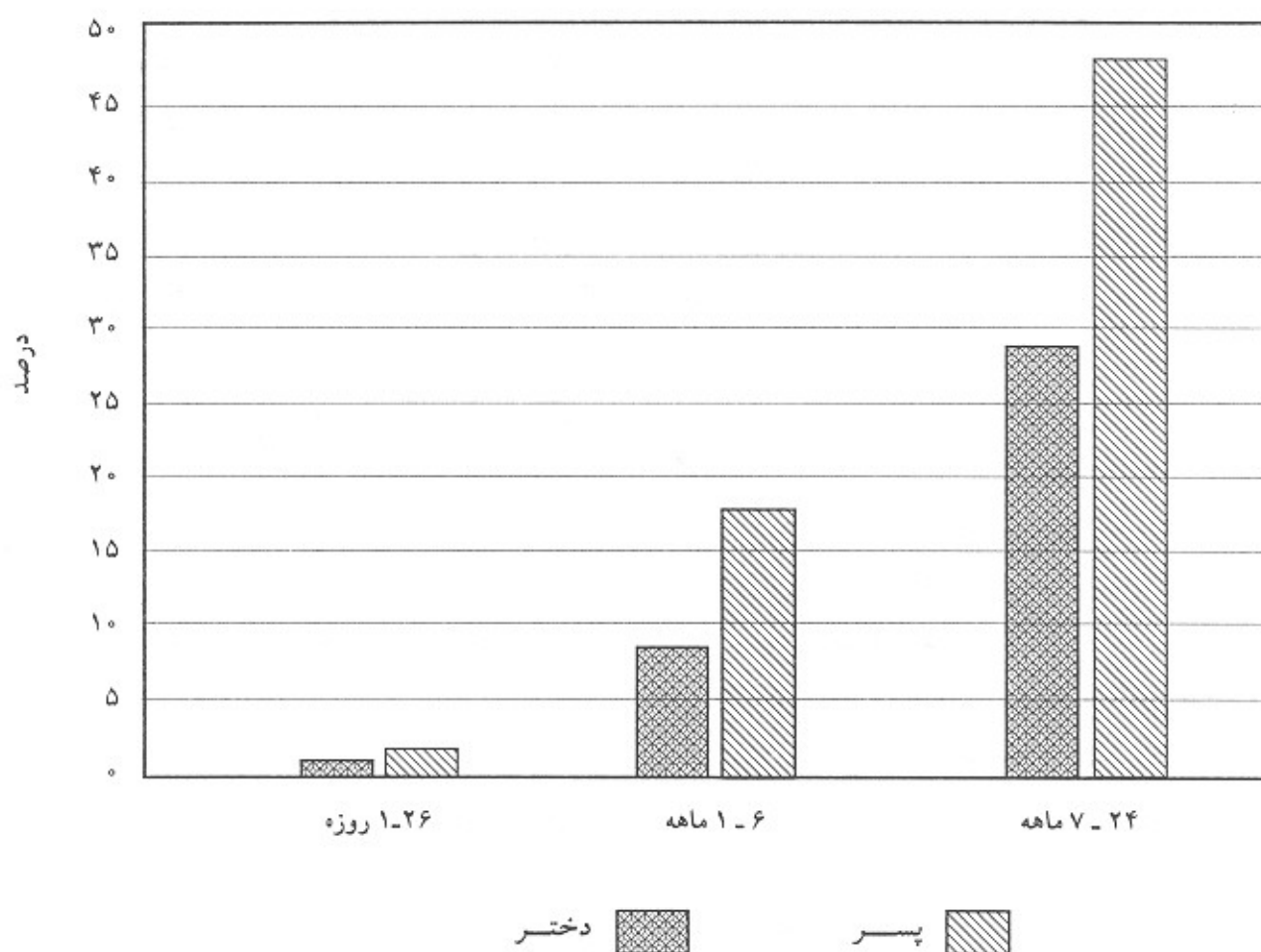
(۷۱/۴۳ درصد) برخوردار بوده‌اند.

#### بحث و نتیجه‌گیری:

در طی این مطالعه مشخص شد که گونه‌های شیگلا با ۴۳/۴۸ درصد و اشرشیاکلی انتروپاتوژن با ۳۰/۴۳ درصد بترتیب شایع‌ترین باکتریهای مولد اسهال در کودکان زیر دو سال این ناحیه بوده و اطفال گروه سنی ۲۴ - ۷ ماهه با ۷۱/۴۳ درصد بیشترین درصد فراوانی را شامل شده‌اند. در مطالعه مشابهی که در اهواز (۲) بر روی اسهالهای باکتریائی در کودکان زیر ۵ سال بعمل آمده نیز این دو باکتری بالاترین درصد شیوع را داشته اما گونه‌های اشرشیاکلی انتروپاتوژن با ۲۹/۴ درصد نسبت به گونه‌های شیگلا با ۲۶/۷ درصد از شیوع بیشتری برخوردار بوده‌اند. این دو تحقیق و گزارشات مربوط به مطالعات انجام شده در ایالات متحده (۵)، هندوستان (۶)، و ایتالیا (۷)، نشان می‌دهند که ارگانیزمهای فوق از

مهمترین عوامل شایع مولد اسهال کودکان در نقاط مختلف کشور، و سایر کشورهای جهان میباشد، بطوریکه علاوه بر کشورهای در حال توسعه در کشورهای صنعتی و توسعه یافته نیز گزارش شده‌اند. در همین رابطه شیوع سالانه شیگلا در ایالات متحده حدود ۳۰۰/۰۰۰ گزارش گردیده است.

در مطالعه‌ای که در لودیانا بر روی منابع آب و فراورده‌های غذایی و بیماران مبتلا به اسهال بعمل آمده (۱۰)، باکتریهای مختلف مولد اسهال، از جمله شیگلا و اشرشیاکلی انتروپاتوژن را از نمونه‌های مربوطه جدا نموده‌اند. این موضوع از این جهت حائز اهمیت است که علاوه بر فاکتورهای ویروالانس باکتریها نظیر عوامل اتصال (adhesins)، پیلی، توکسین و تهاجم به مخاط روده (۹ و ۱۲)، فاکتورهای محیطی، تسهیلات و عادات فرهنگی و بهداشتی و منابع آب و غذا در شیوع و



نمودار فراوانی نسبی دیسانتری باکتریال برحسب گروه‌های سنی و جنس اطفال

اریترومایسین، کوتریموکسازول، آمپی سیلین و سفالوتین نشان داده‌اند.

با مقایسه الگوی حساسیت و مقاومت گونه‌های دو باکتری فوق از تحقیق ما چنین نتیجه‌گیری می‌شود که نالیدیکسیک اسید، جنامایسین و آمیکاسین حداقل بر اساس invitro داروهای مناسبی جهت درمان این بیماران می‌باشند و اگر چه هر دو نوع باکتری نسبت به تتراسیکلین، پنی سیلین، اریترومایسین و کوتریموکسازول بطور مشابه مقاومت نشان داده‌اند، اما نسبت به سایر آنتی بیوتیک‌های تست شده در مقایسه با یکدیگر الگوی مقاومت و حساسیت نسبتاً متفاوتی

ابتلا به اسهالهای باکتریائی مؤثر بوده و در زمینه کنترل بیماری باید مورد توجه قرار گیرند (۱۰ و ۱۱).

از نظر بررسی الگوی حساسیت و مقاومت دارویی نتایج حاصله از تحقیق، نشان داد که گونه‌های شیگلا بیشترین حساسیت را بترتیب به نالیدیکسیک اسید، جنتامایسین و آمیکاسین و بیشترین مقاومت را بترتیب تتراسیکلین، پنی سیلین، آمپی سیلین، سفالوتین، اریترومایسین، کوتریموکسازول و آموکسی سیلین نشان داده‌اند. گونه‌های اشرشیاکلی انتروپاتوژن نیز بیشترین حساسیت را به نالیدیکسیک اسید جنتامایسین و آمیکاسین و بیشترین مقاومت را بترتیب به تتراسیکلین، پنی سیلین،

داشته‌اند.

در مطالعه انجام شده در اهواز (۲) مقاومت اشرشیاکلی انتروپاتوژن و شیگلا نسبت به آمپی سیلین، کوتریموکسازول، تتراسیکلین و سفالوتین گزارش شده و نظیر این تحقیق و مطالعه ما از این نتایج مطالعاتی که توسط Ozturk - MK (۱۳) - Roberts - MC (۸) و همکارانشان بر روی شیگلاهای مولد اسهال بعمل آمده نیز مقاومت به تتراسیکلین، آمپی سیلین و کوتریموکسازول به علل ژنهای پلاسمیدی یا ترانسپوزونها گزارش شده است.

با توجه به مطالب فوق می‌توان نتیجه‌گیری نمود که: اولاً: انجام مطالعه در نقاط مختلف جغرافیایی بر روی اسهالهای کودکان جدا سازی عوامل بیولوژیک بیماری بومی هر منطقه ضرورت داشته و میتواند زمینه انجام تحقیقات تکمیلی را در رابطه با شناسایی منابع آلودگی و راههای انتقال به منظور بکارگیری تدابیر بهداشتی در کنترل بیماری بویژه در مراکز تجمع اطفال و کودکانها، فراهم آورد.

ثانیاً: با جدا سازی عوامل بیماریزای باکتریال از بیماران و انجام تست آنتی بیوگرام بر روی هر کدام میتوان علاوه بر انتخاب دقیق داروی مؤثر برای حذف گونه باکتری بیمار و درمان کامل بیماران، باعث جلوگیری از شیوع بیماری در سایرین گردید، زیرا استفاده نابجا و وسیع از آنتی بیوتیکها در درمان بیماران، باعث افزایش مقاومت دارویی و شیوع سویه‌های مقاوم میگردد. (۲)

ثالثاً: جمع آوری و استفاده از اطلاعات و نتایج چنین مطالعاتی میتواند امکان انجام تحقیقات بیشتر برای جدا سازی عوامل ناشناخته و زمینه توسعه و تجهیز مراکز تشخیصی و درمانی را فراهم آورد تا بنوبه

خویش موجب آشنایی بیشتر کارکنان این مراکز با روشهای نوین و ارتقاء سطح مهارت و کارایی آنها شود.

### سپاسگزاری:

از زحمات و همکاری جناب آقای دکتر شجاعی قائم مقام محترم معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد تقدیر می‌نماید.

### کتابنامه:

- ۱ - قریشی، ق و کاویان ک. «درمان عفونت‌های شیگلایی در کودکان» ماهنامه پزشکی نبض، شماره ۱۱، سال پنجم، مرداد ۱۳۷۵؛ صفحه ۲۹-۲۵.
- ۲ - کجیاف، م ج و تاج دینی، ش «جدا سازی و تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی دو باکتری اشرشیاکلی انتروپاتوژن و شیگلا از مدفوع کودکان مبتلا به اسهال». مجله پزشکی ارومیه، شماره ۳، سال هشتم پائیز ۱۳۷۶؛ صفحه ۸۴-۱۷۷.
- ۳ - ملک زاده، ف و شهامت، م «میکروبیولوژی عمومی»، چاپ دوم، بیماریهایی که توسط آب و مواد غذایی منتقل می‌شوند، انتشارات شهر آب، تهران ۱۳۷۱. صفحه ۴۳-۶۴.
- 4 - Collee, J.G,JP,Duguid .,AG, Fraser . Laboratory strategy in diagnosis of gastrointestinal infections .In Mackie and Mecartney , practical Medical Microbiology , 13 thed., churchill livingston , Newyork ; 1989 , pp;633-46.
- 5 - Crockett, CS,Haas , CN., Fazil ,A.,Rose,JB., Gerba, CP.:Prevalence of shigellosis in the U.S.Int - J - Food - microbiol ; 1996 Jun;30 (1-2) : 87-99.



- 6 - Das, AS., Mazumber, DN., pal, D., Chattopadhyay, VK.: A study of nosocomial diarrhea in Calcutta. Indian - J - Gastroenterol; 1996 Jan; 15(1):12-3.
- 7 - Giammanco, A., Maggio, M., Giamman, G., Marelli, R., Minelli, F., Seheutz, F., caprioli, A.: Characteristics of *Escherichia coli* strains belonging to Enteropathogenic *E. coli* serogroups isolated in Italy from children with diarrhea. J- clin - microbiol; 1996 Mar; 34(3):689-94.
- 8 - Ozturk, MK., Caksen, H., Sumerkan, B.: Convulsions in childhood shigellosis and antimicrobial resistance patterns of shigella isolates. Turk - J-pediatr; 1996 Apr - Jun; 38 (2) 183-8.
- 9 - Punete, J.L., Bieber, D., Ramer, S.W., Murray, W., Schoolnik, G.K. The bundle forming pili of Enteropathogenic *Escherichia coli* Mol Microbiol; 1996 Apr; 20(1) :87-100.
- 10 - Ram, S., Khurana, S., Khurana, S.B., Vadehera, D.V., Sharrow, S., Chhina, R.S. Microbiological quality and incidence of organisms of Public health importance in food and water in Ludhiana - Indian - J- Med Res; 1996 May; 103 :253-8.
- 11 - Richard, L., Guerrant, J., Inflammatory Enteritis In Mandel - Douglas - Bennett (eds). Principles and practice of infectious disease. 3th. ed, Churchill Livingstone, New York; 1990 pp; 837-76.
- 12 - Rico, Martinez, M.G.; Molecular biology in the Pathogenesis of *Shigella* sp. and Enteroinvasive *Escherichia coli*. Rev-Latinoma - Microbiol; 1995 Oct; 37 (4):365.
- 13 - Roberts, M.C.: Tetracycline resistance determinants: Mechanisms of action, regulation of expression, genetic motility, and distribution, FEMS- Microbiol - Rev; 1996 Oct; 19(1):1-24.