مجله علوم آزمایشگاهی، دوره چهارم(شماره1) بهار و تابستان 1389

تحقیقی

تعین فراوانی یرسینیا *انتروکلی تیکا* در نمونه های اسهالی شهر گرگان با روش PCR

فاطمه قاسمی کبریا
کارشناس ارشد میکروبیولوژی،مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی گلستان

بهناز خدابخشی
دانشیار،متخصص بیماری های عفونی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی گلستان

هادی کوهساری
کارشناس ارشد میکروبیولوژی،دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر

مریم صادق شش پلی
کارشناس ارشد میکروبیولوژی،دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر

ناصربهنام پور
دانشجوی دکتری آمار زیستی،مرکزتحقیقات هماتولوژی و انکولوژی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

صدیقه لیوانی
دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد واحد تنکابن، مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی ، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

مسعود بازوری
کارشناس میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی گلستان، مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی ، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

عزت ا...قائمی
دانشیار دانشگاه علوم پزشکی گلستان، مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی ، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

نویسنده مسئول: فاطمه قاسمی کبریا
تلفن :09112733260
پست الکترونیک:
kebria_fgh62@yahoo.com

آدرس: گلستان ، گرگان ،مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی گلستان

وصول مقاله:89/10/27
اصلاح نهایی:90/1/22
پذیرش مقاله:90/2/2

چکیده

زمینه و هدف: *بیماریهای اسهالی دومین عامل مرگ و میر بعد از عفونتهای تنفسی درجهان محسوب می شوند. یرسینیا انتروکلی تیکا دومین عامل اسهال عفونی در کودکان،در برخی از کشورهای جهان می باشد. در این مطالعه فراوانی یرسینیا انتروکلی تیکادرنمونه های اسهالی شهر گرگان مورد بررسی قرارگرفت.*

روش بررسی:*این مطالعه به صورت توصیفی- مقطعی بر روی مدفوع اسهالی 455 بیمار مراجعه کننده به مراکز درمانی وآزمایشگاههای سطح شهرگرگان و با استفاده از تکنیک PCR انجام شد. برای استخراج DNA از نمونه مدفوع از روش فنل کلروفورم استفاده شد و PCR نمونه ها با استفاده از دو جفت پرایمر اختصاصی ، 16S rRNA پرایمر اختصاصی جنس یرسینیا و پرایمر ail اختصاصی گونه یرسینیا انتروکولی تیکا، انجام گردید.*

یافته‌ها: *درنمونه اسهالی 12 مورد از بیماران(2/64%)، ژنوم یرسینیا شناسائی گردید که یازده مورد آن یرسینیا انتروکلی تیکا بود.توزیع فراوانی یرسینیا در دختران (3%) بیش از پسران (2/4%) ، در فصل زمستان (4%)بیشتر از سایر فصول و در گروه سنی زیر یکسال (3/4%) و 1-5 سال (3/1%)بیش از سایر سنین بود ولی در هیچ کدام از موارد اختلاف معنی داری مشاهده نگردید($P>0.05$).*

نتیجه گیری: *فراوانی یرسینیا در موارد اسهالی در شهر گرگان مشابه اکثر نقاط ایران می باشد و در کودکان زیر 5 سال در فصل زمستان بیشتر مشاهده می گردد.*

واژه های کلیدی: *یرسینیا انتروکلی تیکا ، اسهال ،کودکان ، گرگان*

مقدمه

اسهال یکی از شایعترین بیماریها در کودکان به ویژه در کشورهای در حال توسعه می باشد و دومین عامل مرگ و میر بعد از عفونتهای تنفسی است . اسهال علاوه بر ایجاد سوئ تغذیه و کم کردن سرعت رشد در کودکان با اتلاف انرژی و وقت خانواده ها و تحمیل هزینه درمانی اهمیت ویژه ای در جامعه دارد ، اسهال های حاد معمولا علل عفونی دارند و ویروس ها، باکتری ها ، قارچ ها و انگل ها در ایجاد اسهال های اندمیک و اپیدمیک دخالت دارند .در میان باکتریها شیگلا ،*سالمونلا* ،*کمپیلو باکتر* ، *اشریشیاکلی* و *یرسینیا* نقش مهمی در ایجاد این بیماری دارند. *یرسینیا انتروکلی تیکا* یکی از علل مهم ایجاد اسهال عفونی کودکان در بیشتر کشورها می باشد. ویژگی جالب توجه برخی از گونه های یرسینیا توانایی بقا در دمای 1-4 درجه سلسیوس می باشد و به همین دلیل به طور فعال در سالاد ومحصولات غذایی دیگر در یخچال و فریزر باقی مانده و رشد می کند(1) .

یرسینیوز بیماری عفونی حادی است که توسط یرسینیا ها به ویژه *یرسینیا انتروکلی تیکا* ایجاد می شود. این باکتری برای اولین بار در سال 1939 شرح داده شد.(2) این باکتری عمدتا دستگاه گوارش را درگیر کرده و در افراد آلوده بسته به سن ، ممکن است با علائم مختلفی بروز نماید. تب (38 تا 40درجه سانتیگراد)،درد شکم واسهال از مهمترین علائم آن می باشد(3).

یرسینیوز ناشی از یرسینیا انتروکلی تیکا انتشار جهانی دارد. نتایج مطالعات نشان می دهد که بروز آن در کشورهای معتدل و مناطق دارای آب و هوای سرد بیش از سایر مناطق می باشد(3). آمار ارائه شده از CDC از 10 ایالت ایالات متحده آمریکا در سال 2007نشان می دهد که یرسینیاها هفتمین عامل مولد اسهال عفونی در امریکا می باشد. (4)

رایج ترین راه انتقال یرسینیا از طریق مدفوعی –دهانی و از طریق خوراکی و خوردن آب ،مواد غذائی و سبزیجات آلوده و بویژه گوشت حیواناتی نظیر خوک صورت می گیرد. سایر مخازن حیوانی *یرسینیاانتروکلی تیکا* شامل سگ ، گربه ، گاو ،گوسفند ، بز ، جوندگان،روباه و پرندگان می باشد.(5) در ایران نخستین گزارش از جداسازی این باکتری در سال 1979 توسط پرفسور حقیقی انجام شد(6) و بدنبال آن در بسیاری از مطالعات وجود آن در نمونه های مواد غذائی ، منابع حیوانی و اسهال ها انجام شد(7و8و9).

جداسازی این باکتری با روشهای عادی آزمایشگاهی زمان بر و دشوار است همین مسئله سبب شده است که در بسیاری از آزمایشگاه های تشخیصی در کشورهای در حال توسعه بویژه در کشورما و در شهر گرگان نادیده گرفته و اهمیّت و فراوانی آن مشخص نباشد.روش PCR،روشی سریع با اختصاصیت بالا برای تشخیص این باکتری می باشد. این مطالعه با هدف تعیین میزان شیوع این باکتری درنمونه های اسهالی شهر گرگان بااستفاده ازتکنیک PCR انجام شده است.

این مطالعه توصیفی با رویکرد مقطعی بر روی مدفوع اسهالی 455 بیمار مراجعه کننده به مراکز درمانی و آزمایشگاه های سطح شهرگرگان طی سال 85-1384 (به مدت یکسال شمسی) انجام شد . میانگین سنی افراد 8±5/07سال بود ، برای هر فرد بیمار پرسشنامه ای حاوی اطلاعات فردی تکمیل گردید.

استخراج DNA با روش فنل-کلروفرم مستقیماً روی نمونه مدفوع انجام شد.دراین روش از تامپون لیز،(SDS 10%)، پروتئیناز K (20mg/ml)، برای لیز باکتری از مخلوط فنل کلروفرم – ایزومیلیک الکل – کلروفروم – اتانول خالص سرد استفاده شد.

برای انجام PCR از پرایمر اختصاصی جنس *یرسینیا* مربوط به ژنوم*16S rRNA* و پرایمر ژن *ail* ، موثر در اتصال و تهاجم باکتری، (10) که اختصاصی یرسینیا انتروکلی تیکاست استفاده شد.توالی پرایمر ها در جدول (1) آورده شده است(11).

برای انجام PCR، 3 میکرولیتر از نمونه DNA استخراج شده به عنوان الگو به مخلوط PCR (Master mix) اضافه گردید که شامل مواد زیر می باشد: پرایمرهای ویژه *ail* با غلظت 160 نانو مول و *16S rRNA*با غلظت 80 نانو مول و

dTTP,dGTP,dCTP,dATP هرکدام با غلظت µM 400 و 5 /0واحد از آنزیم Taq DNA Polymerase ، 3 میلی مول از کلرید منیزیم و بافرPCR x 1 (این بافر با غلظتx 10 می باشد). حجم نهائی با آب مقطر به 25 میکرولیتر رسانده شد(11). ازسویه یرسینیا انتروکلی تیکا (دکتر سلطان دلال - اهدائی) بعنوان کنترل مثبت واز *E.Coli DNA* بعنوان کنترل منفی استفاده شد.

شرایط ترموسایکلر به صورت زیر بوده است: 36سیکل شامل مرحله دناتوراسیون 94 درجه سلیسیوس به مدت 45 ثانیه ، مرحلهAnnealing در 62 درجه به مدت 45 ثانیه و مرحله طویل شدن زنجیره در 72 درجه به مدت 45 ثانیه و مرحله طویل شدن نهایی 72 درجه به مدت 7 دقیقه صورت گرفت. محصول PCR با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز 5/ 1 % و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید بررسی گردید. آنالیز آماری داده ها با تست Anova انجام و $P<0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

از بین 455 نمونه مورد بررسی ، 253 نفر مذکر (55/6%) و 202 نفر مونث(44/4%) بودند. سن افراد مورد بررسی بین کمتر از یکماه تا 22 سال (بامیانگین سنی8±5/07سال) متغیر بود. ا فراد به گروههای سنی مختلف کمتر از یکسال (26/16%)، 5-2 سال (49/01%)، 12-6 سال (15/61%) و بالاتر(9/22%) تقسیم شدند که اغلب درگروه سنی 5-2 سال قرار داشتند.

از بین 455 نمونه اسهالی مورد بررسی ، باند اختصاصی *16S rRNA* تنها در 12مورد (2/64%) افراد مشاهده گردید (CI 95% 1.16-4.12) که نشان دهنده آلودگی به یرسینیا می باشد (تصویر1) .

در ادامه مطالعه با پرایمر اختصاصی ail (تصویر 2) مشخص گردید که 11 مورد از موارد مثبت در PCR با پرایمر اختصاصی جنس مربوط به گونه یرسینیا انتروکولی تیکا می باشد و یک مورد احتمالا مربوط به سایر گونه های می باشد که در این مطالعه مورد بررسی قرار نگرفت. این مورد در یک فرد مذکر 4 ساله شناسائی گردید.

فراوانی موارد یرسینیوز در زمستان بیش از تابستان (4% در مقابل 3,4%) و سایر فصول بوده است(جدول2) ولی این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود ($P=0.3$)

میزان شیوع عفونت در گروه های سنی به صورت زیر بوده است:در گروه سنی زیر 1سال 4 مورد(3/3 3%)،در کودکان 5-2 سال 7مورد(58/33%) ودر افراد بالای 5 سال 8/3% (تنها 1 مورد) گزارش شد.که از این میان 6دختر(3%) و6پسر(2,4%) آلوده به این عفونت بودند که شیوع عفونت در دختران بیشتر از پسران گزارش شد. بین شیوع عفوت و جنسیت ارتباط معنی داری پیدا نشد.بیشترین احتمال وجود یرسینیوز در گروه سنی زیر یکسال و در مرحله بعد کودکان زیر 5 سال می باشد(جدول3) ولی تفاوت توزیع برحسب گروههای سنی معنی دار نبود.(p= 0/6)

بیشترین مواردآلوده به یرسینیا انتروکلی تیکا در نمونه های مدفوع زرد شل آبکی دیده شد.البته ارتباط معناداری میان شیوع عفونت ورنگ و فرم مدفوع دیده نشد.

بحث

اسهال یکی از شایعترین عوامل مرگ ومیر در کودکان درکشورهای جهان سوم می باشد. یرسینیوز ناشی از *یرسینیا انتروکلی تیکا* انتشار جهانی دارد.آمار ارائه شده مطالعات انجام شده درایران نشان داده است که فراوانی یرسینیا در کشور ما از0/7 % تا 2/7% متغیر بود. در طی مطالعه دکتر سلطان دلال و همکاران از تیرماه 76 تا خرداد 77 در اسلام شهر،از 1600 نمونه سوآپ از مدفوع کودکان زیر 5 سال ، در 11 مورد (0/7%) یرسینیا که 9 مورد آن *یرسینیا انتروکلی تیکا* بود، ایزوله نمودند. و در مطالعه دیگر از 300 نمونه های اسهالی مراجعه کنندگان به بیمارستانی در تهران در 8 مورد (2,7%) یرسینیا جدا شد(12و13) در سال 1386 دکتر سلیمانی رهبر و همکاران در کشت نمونه اسهالی 800 کودک زیر 10 سال در شهر قم در محیط کشت اختصاصی CIN آگار و سرما گذاری نمونه مدفوع در 4 درجه بمدت 10- 20 روز موفق به جدا سازی 14 نمونه یرسینیا انتروکلی تیکا (1/75%) شدند. (14) غاروریانی و همکاران در 490 نمونه اسهالی که در فصول سرد سال (از شهریور تا پایان اسفند 1384) در منطقه سرد سیر اردبیل موفق به جدا سازی 13 مورد (2/65%) از *یرسینیا انتروکلی تیکا* شدند(15).در تمامی موارد فوق روش

مطالعه، کشت نمونه ها در محیط اختصاصی یرسینیا بوده است.

فراوانی یرسینیا در این مطالعه از 455 مورد اسهالی 12مورد (2/64%) برآورد گردیدکه از این نظر از آمار،اسلام شهر و قم بالاتر است. میزان شیوع تقریبا هم اندازه اردبیل می باشد . در حالیکه اردبیل یک منطقه سردسیر است و مطالعه نیز عمدتا در فصل سرد در اردبیل انجام شده و با توجه به سرما دوست بودن یرسینیا انتظار می رفت که آمار یرسینیا در موارد اسهالی در اردبیل بیش از گرگان باشد که منطقه ای با آب و هوای معتدل می باشد. در مطالعه اردبیل تشخیص یرسینیا با استفاده از روش کشت انجام شده است ولی در این مطالعه از تکنیک PCR استفاده شده است ، شاید تفاوت در تکنیک یکی از دلایل تشابه نتایج در گرگان با اردبیل باشد، زیرا استفاده از تکنیک PCR علاوه بر سرعت بیشتر، قادر به شناسائی مواردی هست که تعداد باکتری در نمونه بیمار کم می باشد. دوز عفونتزای یرسینیا کاملا مشخص نیست ولی در مدل تجربی آنرا بیش از 10^8cfu/ml می باشد(16) که در روش کشت می توان با شمارش کلنی فراوانی آنرا تعیین نمود ولی در این مطالعه و با استفاده از روش PCR وجود یا عدم وجود ژنهای مربوط به یرسینیا ارزیابی شده است و ممکن است مواردیکه تعداد باکتری در دوز کمتر از حد عفونتزائی بوده نیز شناسائی و گزارش شده باشد. در بعضی از این افراد ممکن است یرسینیا به صورت ناقل و گذرا در روده فرد مستقر شده باشد. براین اساس نتایج مطالعه ما نمی تواند دقیقا بر موارد یرسنیوز تاکید نماید و تنها فراوانی یرسنیا در موارد اسهالی را نشان می دهد. استفاده از PCR کمی و تعیین میزان باکتری در نمونه اسهال می تواند نتایج دقیقتری بدست دهد.

در مطالعه ما علاوه بر ژن اختصاصی جنس یرسینیا از پرایمر اختصاصی ژن *ail* برای PCR استفاده کردیم که پروتئین Ail را تولید می کند که در چسبیدن و تهاجم باکتری و نیز مقاومت سرمی نقش دارد. این ژن تنها در سویه های بیماریزای یرسینیا انتروکلی تیکا وجود دارد و در بسیاری از مطالعات برای شناسائی این باکتری هدف قرار گرفته است. (17و18)

فراوانی اسهال های ناشی از یرسینیا در سایر نقاط جهان نیز متفاوت گزارش شده است ،کمترین آن در بنگلادش گزارش شد که شیوع یرسینیا انتروکلی تیکا در بنگلادش به طرز غیر معمولی پائین است به طوریکه از 1450 نمونه مدفوع افراد اسهالی تب دار تنها یک مورد(کمتر از 0/1%) یرسینیا انتروکلی تیکا جدا گردید.(19) و از بالاترین آمار می توان به مطالعه ای اشاره کرد که در فاصله آگوست 2005 تا آگوست 2006 در نیجریه انجام شد و از 150نمونه اسهالی 6 مورد(4%) کشت مثبت یرسینیا گزارش گردید.(20)

در مطالعه حاضر فراوانی یرسینیا در موارد اسهالی در دختران کمی بیش از پسران بود بدون آنکه اختلاف معنی داری را نشان دهد. عدم وجود تفاوت خاص در نوع رژیم غذایی در کودکان دو گروه ممکن است دلیل این تشابه باشد و در تمامی مطالعاتی که این مسئله مورد توجه قرار گرفته جنسیت ارتباط معنی داری با ابتلا به یرسینیوز نشان نداده است (21,15,14) ،کم بودن موارد مثبت یرسینیوز در اکثر مطالعات نیز از دلایل دیگری است که نمی توان بحث جنسیت را به طور جدی مورد مطالعه قرار داد .

همان گونه که انتظار می رفت در این مطالعه نیز فراوانی *یرسینیا* در فصل زمستان بیش از تابستان (4% در مقابل 3/4%) و سایر فصول بوده است ولی این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود. این مسئله به علت ماهیت سرمادوستی *یرسینیا انتروکلی تیکا* می باشد و در اکثر مطالعات برآن تاکید شده است . سوزان رای و همکاران در مینه سوتا امریکا نشان دادند که 48% کل یرسینیا های در طول سال بین ماههای آبان تا اسفند جدا می شوند ولذا براهمیت توجه به یرسینیا به عنوان یکی از علل مهم اسهال های التهابی کودکان در فصول سرد سال تاکید نمودند(22)

در شهر گرگان بروز یرسینیوز برحسب گروه سنی به این ترتیب بود که کودکان زیر یکسال و در مرحله بعد کودکان 2-5 سال بیشترین احتمال بروز را داشتند، ولی با افزایش سن احتمال بروز یرسینیوز کاهش نشان می دهد.Marks در سال 1980 بیان می دارد که میانه سنی برای کودکان مبتلا به یرسینیا انتروکلی تیکا 24 ماه به دست آمد که در مقایسه با

میانه سنی سایر پاتوژن ها مثل سالمونلا و شیگلا با میانه سنی 30 و 41 ماه پایین تر بود(23) در سایر مطالعات نیز سن اصلی ابتلا را کودکان زیر 5 سال اعلام می نمایند(9 ، 12 ، 14و20) ولی در مطالعه ای در هند فراوانی این باکتری در افراد بالای 15 سال از افراد کمتر از 15 سال بیشتر گزارش شده است.(21)

میزان شیوع یرسینیا در موارد اسهالی در گرگان در مطالعه حاضر 2/64% بوده است. توجه به موارد اسهالی در کودکان زیر 5 سال و بویژه در زمستان از نظر جستجوی یرسینیا انتروکلی تیکا در این منطقه دارای اهمیت می باشد.

مجموع مطالعاتی که بر روی همین نمونه های اسهالی در شهر گرگان انجام شده است نشان می دهد که یرسینیا سومین عامل باکتریائی اسهال بعد از اشرشیا کلی اسهال زا و شیگلا می باشد و موارد آن از سالمونلا و کمپیلوباکتر ژژونی بیشتر می باشد که از این نظر حائز اهمیت می باشد.(جدول 4)

تشکر وقدردانی

این پژوهش با تائید وحمایت مالی مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گلستان انجام گردید.

جدول 1 : پرایمرها ی مورد استفاده برای تشخیص *یرسینیا انتروکلی تیکا* (11)

ارگانیسم	نام ژن	طول آمپلیکون	توالی پرایمر
Yersinia sp.	*16S rRNA*	۳۳۰ bp	5´ AATACCGCATAACGTCTTCG 3´ 5´ CTTCTTCTGCGAGTAACGTC3´
Yersinia enterocolitica	*ail*	٤٢٥ bp	5´TTAATGTGTACGCTGGGAGTG3´ 5´GGAGTATTCATATGAAGCGTC3´

جدول 2:توزیع فراوانی یرسینیا برحسب فصل مراجعه افراد مورد مطالعه در موارد اسهالی شهر گرگان

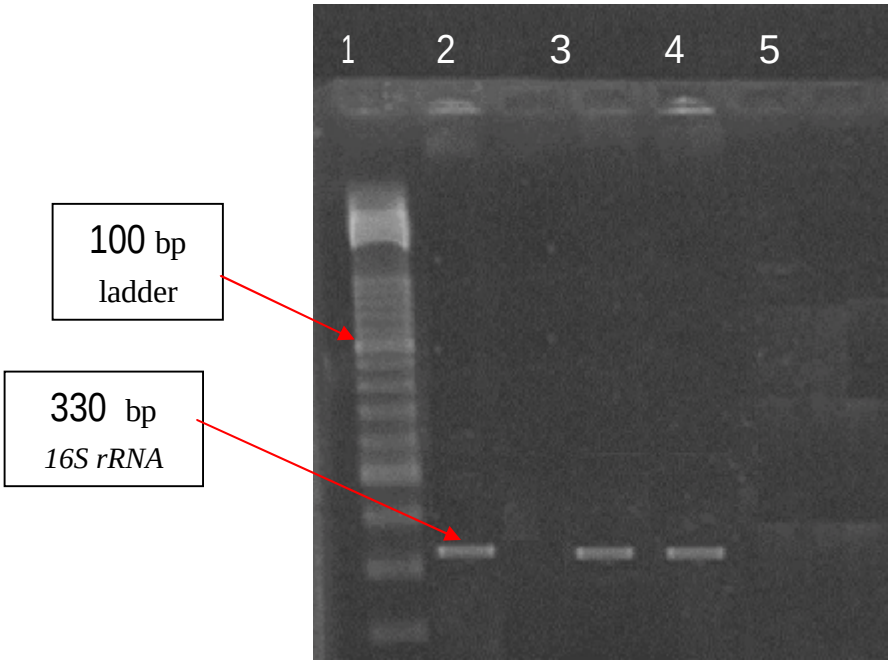
فصل آلودگی به یرسینیا	بهار	تابستان	پائیز	زمستان	جمع
ندارد	55	(%96,6)198	(%98,9)94	(%96)96	(%97,4)443
دارد	0	(%3,4)7	(%1,1)1	(%4)4	(%2,6)12
جمع	(%12,1)55	(%45,1)205	(%20,9)95	(%22)100	(%100)455

جدول 3:توزیع فراوانی *یرسینیا* برحسب سن افراد مورد مطالعه در موارد اسهالی شهر گرگان

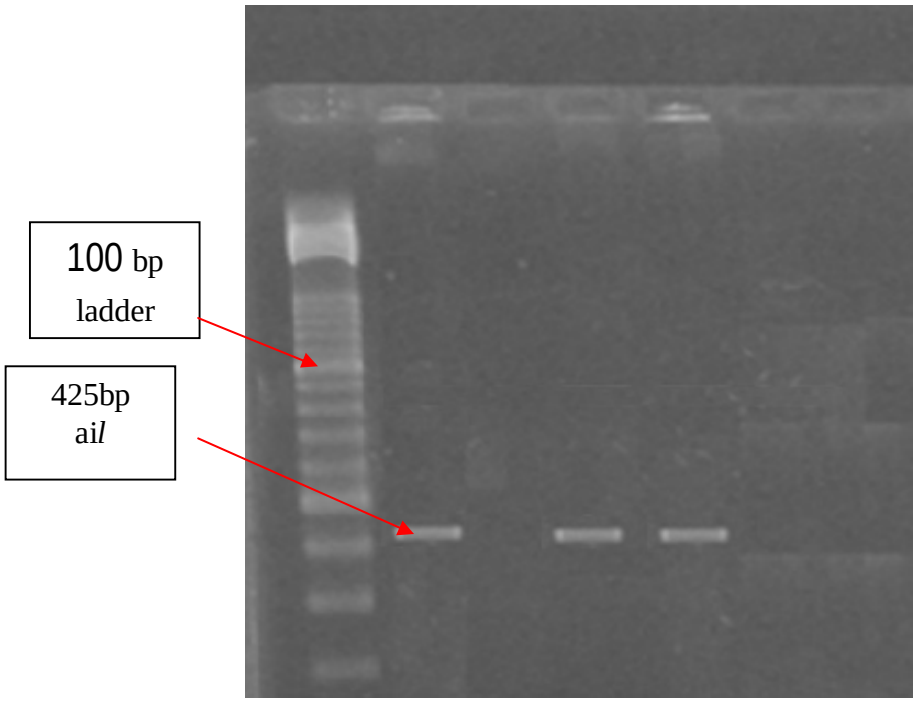
گروههای سنی آلودگی به یرسینیا	کمتر از1 سال	1-5سال	6-12سال	بیش از 12 سال	جمع
ندارد	(%96,6)115	(%96,9)216	(%98,6)70	(%100)42	(%97,4)443
دارد	(%3,4)4	(%3,1)7	(%1,4)1	0	(%2,6)12
جمع	(%26,2)119	(%49)223	(%15,6)71	(%9,2)42	(%100)455

جدول 4: توزیع فراوانی عوامل باکتریال در نمونه های اسهالی شهر گرگان در سال 85-1384

ردیف	عامل باکتریائی	فراوانی برحسب درصد (منبع)
1	**اشرشیاکلی انتروتوکسیژنیک**	**%16 (منتشر نشده)**
2	**اشرشیاکلی انترواگریگیتیو**	**%4/4 منتشر نشده)**
3	**اشرشیاکلی انتروهموراژیک**	**%4 (24)**
4	**اشرشیاکلی انتروپاتوژنیک**	**%3/3 (منتشر نشده)**
5	**شیگلا**	**%8/8 (25)**
6	**یرسینیا**	**%2/6 (مطالعه حاضر)**
7	**سالمونلا**	**%0/8 (25)**
8	**کمپیلوباکترژژونی**	**%0/6(26)**



تصویر1- باندهای حاصل از PCRپرایمر اختصاصی جنس یرسینیا *16 S rRNA* در نمونه های اسهالی شهرگرگان
1= Ladder 100جفت بازی ، 2= کنترل مثبت ، 3= کنترل منفی ،5و4= نمونه های اسهالی یرسینیا مثبت



تصویر2- باندهای حاصل از PCRپرایمر اختصاصی گونه یرسینیا *انتروکولی تیکا* در نمونه های اسهالی شهرگرگان
1=Ladder 100جفت بازی، 2=کنترل مثبت ، 3=کنترل منفی 4و5= یرسینیا *انتروکولی تیکا*

References

1- Swetha G Pinninti . *Yersinia Enterocolitica Infection*. www.medscape.com- Updated. 5, 2009.

2- Brooks DC. *Yersinia enterocolitica* 24 ,2005 http;//www.emedicine.com/med/topic 2434.htm.

3-D workin m .The prokarytes . 3thEdition .Vol 5. springer.com . stage 3. 3.13 Y. and Y. pseudotuberculosis; pp : 270 .

4-Long C , Jones T F. *Yersinia pseudotuberculosis and Y. enterocolitica enterocolitica Infections, FoodNet, 996–2007*. Emerging Infectious Diseases . www.cdc.gov/eid ,Vol .16, No. 3. 2010

5-Bucher M, Meyer C, Grotzbach B, Silke W , stole A. *Epidemiological data on pathogenic Y.enterocolitica in southern Germany during 2000-2006*. Food pathogens and diseases. 2008, 5(3): 273-80

6- Haghighi L. *The first successful isolation and identification of Yersinia enteroco-litica in Iran.* Contributions to microbiology and immunology. 1979, 5:206–11.

7- Soltan Dallal MM ، Izadpour F ، Khalifeh Gholi M ، Zeraati H ، Bakhtiari R. *Prevalence of Yersinia spp. in red meat and chicken marketed in southern Tehran.* Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research.2006;4(4):49-56

8-Hablolvarid MH, Sarbanan Z, Arefpajoohi R, Motamedi GR .*Yersinia enterocolitica Infection in a Vervet Monkey (Cercopithecus aethiops) in Iran* . Archives of Razi Institute. 2008; 63(1): 53-57

9-Soltan-Dallal MM , Moezardalan K. *Frequency of Yersinia species infection in paediatric acute diarrhoea in Tehran*. Eastern Mediterranean Health Journal .2004;10(1/2): 152 – 158

10-Lambertz S . *Development of a PCR-based method for detection of pathogenic Yersinia enterocolitica in pork*. Doctorial thesis, Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala . 2005, 9-10.

11- Wim J, Wannet B ,Reessink M, Brunings H, Henny Maas M E. *Detection of Pathogenic Yersinia enterocolitica by a rapid and sensitive duplex PCR assay* . Journal of clinical Microbiology . 2001 ; 39 (12): 4483-4486.

12- Soltan Dallal MM, Khorramizadeh MR , Moez Ardalan K. *Occurrence of enteropathogenic bacteria in children under 5 years with diarrhoea in south Tehran.* Eastern Mediterranean Health Journal. 2006. 12 (6): 792-797.

13-Soleymani-Rahbar AA , Fayaz F , Zargarizadeh A, Nikazman R . *Surveying the prevalence and pattern of antimicrobial resistance of Yersinia enterocolitica among diarrheal children attending health care centers in Qom.* Iranian Journal of Clinical Infectious Diseases. 2007;2(3):143-147 .

14-Garveriani E , Aslani M M , Habib-zadeh Sh and Fathi A . *The role of Yersinia enterocolitica in acute diarrhea of under five years old children in cold season in Ardebil province.* Journal of Ardabil University of Medical Science .2007; 7(4): 387-391.

15-De Berardis B, Torresini G, Brucchi M, Marinelli S, Mattucci S, Schietroma M, etal. *Yersinia enterocolitica intestinal infection with ileum perforation: report of a clinical observation*. Acta bio-medica: Atenei Parmensis .2004; 75(1): 77-81

16-Pierson DE, Falkow S. *The ail gene of Yersinia enterocolitica has a role in the ability of the organism to survive serum killing.* Infect Immun. 1993;61(5):1846-52.

17-Iliev MV, Najdenski HM, Stals A, Werbrouck H, Herman L, Van Coillie E. *Optimization Of Real-Time Pcr Protocol For Detection Of Pathogenic Yersinia Enterocolitica Strains*. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine.2008: 11(3): 179-184.

18-Carniel E, Butler T, Hossain S, Alam N H , Mazigh D. *Infrequent Detection of Yersinia Enterocolitica in Childhood Diarrhea in Bangladesh.* Am J Trop Med Hyg . 1986;35(2): 370-371.

19-Okwori A E J. Agada GOA, Olabode AO , Agina S E , Okpe E S. Okopi J. *The prevalence of pathogenic Yersinia enterocolitica among diarrhea patients in Jos, Nigeria* . African Journal of Biotechnology .2007; 6 (8): 1031-1034.

20-Lal m , kaur h , gupta lk . *Y.enterocolitica gastroenteritis - a prospective study.* Indian Journal of Medical Microbiology.2003 ;21 (3):186-188.

21-Ray S M , Shama D, Ahuja Paul A, Monica M, Farley M S, *Therese Rabatsky-Her . Population- Based Surveillance for Yersinia enterocolitica Infections in FoodNet Sites, 1996–1999*: Higher Risk of Disease in Infants and Minority Populations. Clinical Infectious Diseases . 2004; 38(3): 181–9.

22-Marks MI , Pai CH, Lafleur L , Lackman L, Hammerberg O. *Yersinia enterocolitica gastroenteritis: a prospective study of clinical, bacteriologic, and epidemiologic features.* J Pediatr. 1980; 96(1):26- 31 .

23-Bagheri H, Ghaemi E, Aslani M M, . Amir Mozafar N, Dadgar T,Livani S. *The Prevalence of Enteroaggregative Escherichia coli in cases of Diarrhea in Gorgan, IRAN***.** Medical laboratory Journal . 2008, 2(1): 8-13

24-Ghaemi E, Aslani M M, Moradi A V, Dadgar T, Livani S, Mansourian A R, etal. *Epidemiology of Shigella-associated diarrhea in Gorgan, north of Iran*.The Saudi Journal Of Gasteroentology. 2007; 13 (3) : 129-132.

25-Ziaee N.Amirmozafari N,Kohsari H,Moradi A,Tabaraii A,Livani S,etal. *Frequency Of Campylobacter Jejuni In Diarrheal Samples In Gorgan*. Medical Laboratory Journal .2008;2(2):37-42.