بررسی ده ساله شیگلاهای جدا شده از مراجعین دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

دکتر علی اکبر ولایتی[1]، فرخنده خادم شریعتی[2]، دکتر کیومرث قاضی سعیدی[3]

خلاصه

طی سالهای ۱۳۶۱ تا ۱۳۷۰ سه هزار و پانصد نفر، به علت ابتلاء به عفونتهای روده‌ای به بخش میکرب‌شناسی دانشکده بهداشت مراجعه نموده‌اند. ۶۵٪ این بیماران، کودکان بین ۱ تا ۷ سال و ۳۵٪ بقیه را بزرگسالان تشکیل داده‌اند. ۸۰٪ این بیماران بعد از یک دوره درمان با آنتی‌بیوتیکهای مختلف و داروهای ضد اسهال به علت عدم بهبود و عود بیماری توسط پزشک معالج به دانشکده بهداشت معرفی شده‌اند. پس از انجام آزمایشات لازم برای جدا نمودن میکربهای پاتوژن روده‌ای از قبیل سالمونلا، اشریشیاکلی پاتوژن، کمپیلوباکتر، یرسینیاآنتروکولیتیکا، ۲۰۷ نمونه هم شیگلا جدا گردید که تقریباً ۱۶/۷٪ میکربهای پاتوژن جدا شده را تشکیل می‌داد، که این تعداد از کل سوشهای جدا شده به تعداد ۱۲۴۰ مورد می‌باشد.

نتایج شیگلای جدا شده از این قرار است:

- شیگلا فلکسنری ۵۰/۷۳٪
- شیگلا سونئی ۳۵/۷۵٪
- شیگلا بویدی ۷/۲۵٪
- شیگلا دیسانتری ۴/۸٪
- شیگلای غیر قابل تایپ ۱/۴۵٪

(مجله دانشگاه علوم پزشکی زنجان -سال اول- شماره ۲-صفحات ۱۶-۱۲)

مقدمه

گاستروآنتریت حاد که با تظاهرات بالینی به صورت اسهال و گاهی همراه با استفراغ و تب و بی‌حالی و دهیدراتاسیون قابل تشخیص می‌باشد،یکی از بیماریهای مهم دوران کودکی و شیرخوارگی بوده و در مناطقی که از نظر بهداشتی و اقتصادی در حد پائین و تراکم جمعیت زیاد است یکی از شایعترین بیماریهاست (۳،۲،۱).

بر طبق آمار منتشره از طرف سازمان بهداشت جهانی (WHO)،در هر سال حدود ۱۲ میلیون کودک در سطح جهان‌براثر ابتلاء به بیماریهای مختلف می‌میرند که سهم

۱- استاد گروه کودکان دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- پاتوبیولوژیست بخش میکرب‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- دانشیار میکرب‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

بیماریهای اسهالی از آن ۸ میلیون نفر در سال می‌باشد . یعنی در هر دقیقه ۱۰ کودک در اثر ابتلاء به این بیماری قابل تشخیص و پیشگیری تلف می‌شوند (۴). بیشتر این مرگ ومیر درکشورهای در حال توسعه است . اسهال حاد در حال حاضر یکی از مهمترین مسائل بهداشتی و یکی از مشکلات اصلی و اساسی سیستم بهداشتی درمانی کشور محسوب می‌شود. بطوری‌که سالیانه قریب ۷۰ هزارکودک زیر ۵ سال به علت اسهال در ایران تلف می‌شوند(۶و۵) .

اسهالهای حاد معمولا" علل عفونی داشته و علت آن تولید سم میکربی در مخاط روده و یا دخول آن از طریق غذا به بدن و یا تهاجم باکتریهای مهاجم (Invasive) به سلولهای جدار روده می‌باشد . عوامل ایجادکننده اسهال ، بسته به شرایط زندگی اقتصادی و اجتماعی ،آلودگی آب و مواد غذائی، آداب و رسوم فرهنگی و فصول مختلف سال متفاوت می‌باشند(۷،۸و۹) . شرایط آب و هوا در مناطق مختلف نیز از نظر شیوع اسهال متفاوت است . از جمله اشریشیاکلی‌های توکسین‌زا در مناطق گرمسیری و در تابستان و روتاویروسها اکثرا" در مناطق معتدل شیوع دارند.

روش کار

زمان نمونه‌گیری در فاصله زمانی سالهای ۱۳۶۱ تا ۱۳۷۰ می‌باشد که تمام مراجعین را بیمارانی که از مراکز طبی مختلف به بخش میکربشناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران معرفی شده بودند تشکیل می‌دادند.

قبل از نمونه‌برداری ،یک فرم که مشخصات بیمار در آن نوشته شده بود تکمیل و سپس نمونه‌برداری به وسیله سوآبهای پنبه‌ای استریل صورت گرفت .بدین ترتیب سوآبها را به مدفوع آلوده کرده و یا از بیماران رکتال سوآب (Rectal Swab)تهیه و در لوله‌های درپیچ‌دار محتوی کاری‌بلر(Cary-Blair Transport Medium) قرار می‌دادیم .

▣ روش کشت

هر نمونه مدفوع را ابتداء روی بلادآگار(Blood Agar)و Do Agar و Endo Agarو یک محیط سلنیت Fکشت داده و بعد از ۱۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد صبح روز بعد محیطهای جامد Do و Blood Agar و Endo را بررسی نموده از کلنی‌های بی‌رنگ وسیاهرنگ و صورتی کمرنگ روی محیطهای افتراقی TSI(Triple Sugar Iron Agar),Kliqler وSIMو محیط اوره (Urease test Medium)و Simmon Citrate Agar و Decarboxylaseمی‌بردیم و برای تأیید بیشتر و اطمینان بیشتر برای تمام نمونه‌ها از API-20Eاستفاده می‌کردیم و در همان روز از محیط مایع سلنیت F یک کشت مجدد روی محیط ssداده و همه محیطها را در اتو ۳۷ درجه به‌مدت ۲۴-۱۸ ساعت قرار داده و بعد از این محیطهای افتراقی را بررسی و خواص بیوشیمیایی باکتریها را یادداشت و آنهائی که‌از نظر سالمونلا و شیگلا بودن مورد تأیید قرار می‌گرفت از محیط TSI روی محیط ژلوز ساده که در لوله باریک مخصوص نگهداری باکتریهاآماده کرده بودیم کشت داده و بعد از ۱۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سر لوله‌هارا با شعله بسته و به صورت آمپول در یخچال ۸ درجه سانتیگراد نگهداری می‌کردیم . سپس برای تعیین سروتیپ ارگانیسمهای جدا شده به مرور سر لوله‌ها را باز کرده و از این محیط روی محیط مایع Brothکشت داده و بعد از ۸-۶ ساعت قرار دادن در اتو ۳۷ درجه سانتیگراد نمونه‌های مشکوک به شیگلا را روی محیطهای DD و SS کشت می‌دادیم پس از اطمینان از خالص بودن نمونه با لوپ‌استریل یک کلنی را در ۲ سانتی‌متر مکعب سرم فیزیولوژی حل کرده با استفاده از کیتهای API-20E ارگانیسم شیگلا را باتوجه به خواص بیوشمیائی مورد تأیید قرار داده و سپس از نظر تعیین سروتیپها مورد آزمایش قرار دادیم .

▣ تعیین حساسیت به آنتی‌بیوتیکها و سولفونامیدها به کمک دیسک (آنتی‌بیوگرام)

پس از مشخص شدن انواع سروتیپهای شیگلا از سوشهای خالص به روش کربی‌باثر تعیین حساسیت در برابر آنتی‌بیوتیکها و سولفامیدها به عمل آمد. تعداد ۶-۵ کلنی که روی ژلوز ساده قبلا" از آنها سرولوژی و مطالعه خواص بیوشیمیائی باکتری به‌عمل آمده بود در ۵ میلی‌لیتر Tripticase Soy Brothکشت داده شده سپس این لوله‌ها به‌مدت ۵-۲ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه گذاشته می‌شد تا کدورت معمولی کشت میکربی به وجود آید . بعد از اتمام مدت انکوباسیون کشت آماده را آنقدر رقیق می‌کردیم که رقت حاصله متناسب با لوله استانداردی که قبلا" به شرح زیر آماده شده بود باشد.

۰/۵ ml ۱ درصد Cl2Ba

۹۹/۵ml ۳۶ درصد SO4H2

سپس برای تست حساسیت محیط مولر هینتون آگار را(Muller Hinton Agar) که در ضخامت ۵ میلی‌متر تهیه شده بود بکار می‌بردیم قبل از کشت محیطها را به مدت ده دقیقه در انکوباتور قرار داده سپس سوآب پنبه‌ای استریل را به این محلول میکربی که با رقت استاندارد آماده شده بود آغشته و قبل از کشت در محیط با فشار دادن سوآب به کناره لوله مایعات اضافی را گرفته و سپس آن را در تمام سطح مولر بطور یکنواخت و منظم پخش می‌کردیم . پس از ۵ دقیقه که سطح محیط خشک می‌شد دیسکهای مربوطه را روی محیط منتقل می‌کردیم . سپس پلیتها را در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۱۸ ساعت قرار می‌دادیم . بعد از آن نتیجه را به ترتیب زیر می‌خواندیم :اول قطر هاله اطراف دیسک را به انضمام ۶ میلی‌متر قطر خود دیسک به‌وسیله خط‌کش میلی‌متری از پشت پلیت اندازه می‌گرفتیم . سپس با استفاده از جدول استاندارد کربی‌باثر آنها را در سه گروه حساس ، نیمه حساس و مقاوم بر حسب قطر هاله مشخص می‌کردیم .

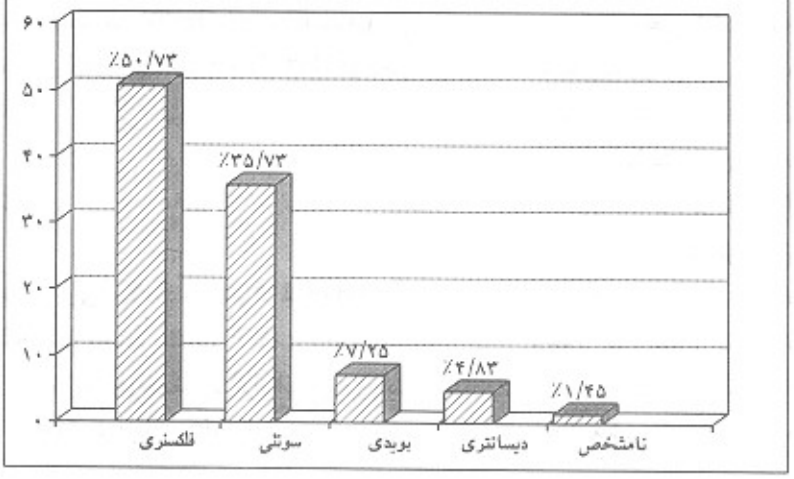
نتیجه گیری و بحث

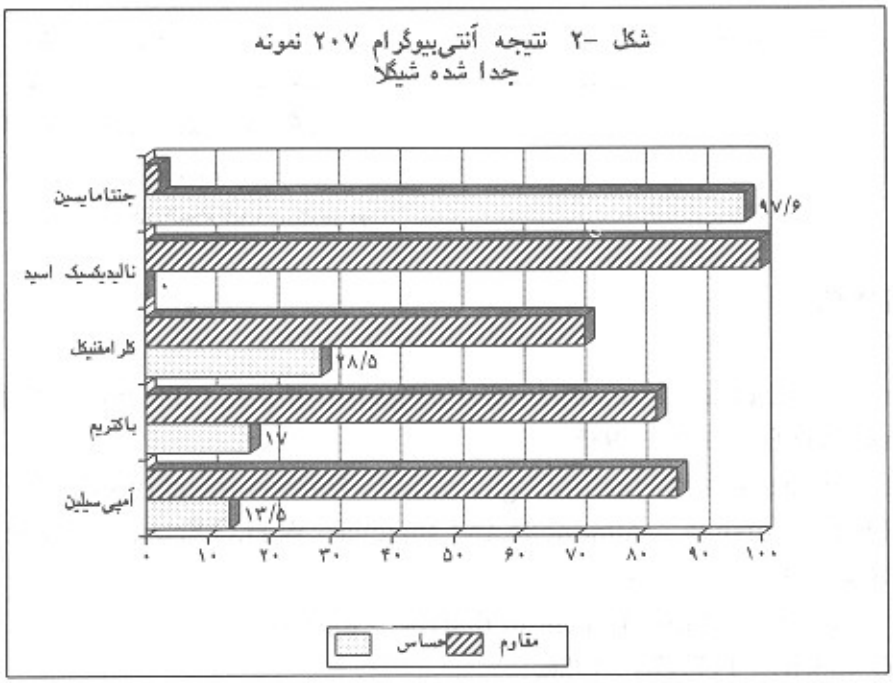
از ۳۵۰۰ نفر بیمار که بین سالهای ۱۳۶۱ تا ۱۳۷۰ به علت ابتلاء به عفونتهای روده‌ای به بخش میکربشناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران مراجعه نموده‌اند نمونه‌برداری شده و از نظر عوامل بیماریزای باکتریائی مورد مطالعه قرار گرفتند .

شیگلا فلکسنری	تعداد
۱	۹
۲	۶۰
۳	۱۰
۴	۶
۵	۴
۶	۱۶
شیگلا بویدی	**تعداد**
۱	۳
۲	۲
۴	۴
۹	۱
۱۰	۲
۱۱	۱
۱۲	۱
۱۴	۱
شیگلا دیسانتری	**تعداد**
۱	۵
۲	۲
۸	۳

جدول -۲ : توزیع انواع سروتیپهای سوشهای مختلف شیگلا

شکل-۱ توزیع فراوانی سوشهای مختلف شیگلا، جدا شده از مدفوع بیماران





۶۵٪ این بیماران کودکان بین ۱ تا ۷ سال و ۳۵٪ بقیه را بزرگسالان تشکیل می‌دهند . ۸۰٪ این بیماران بعد از یک دوره درمان با آنتی‌بیوتیکهای مختلف و داروهای ضد اسهال به علت عدم بهبود و عود بیماری ، توسط پزشک معالج به دانشکده بهداشت معرفی شده‌اند که پس از انجام آزمایشات لازم برای جدا نمودن میکربهای پاتوژن روده‌ای از قبیل سالمونلا ، اشریشیاکلی پاتوژن ، کمپیلوباکتر ، یرسینیاآنتروکولتیکا، ۲۰۷ نمونه شیگلا جداگردید که تقریباً ۱۶/۷٪ میکربهای پاتوژن جداشده را تشکیل می‌دادند.

بعد از انجام آزمایشات بیوشیمیائی و سرولوژی نتایج زیر به دست آمد:

- □ شیگلا فلکسنری ۱۰۵ نمونه ۵۰/۷۳٪
- □ شیگلا سونئی ۷۴ نمونه ۳۵/۷۵٪
- □ شیگلا بویدی ۱۵ نمونه ۷/۲۵٪
- □ شیگلا دیسانتری ۱۰ نمونه ۴/۸٪
- □ شیگلا غیر قابل تایپ ۳ نمونه ۱/۴۵٪

شیگلا فلکسنری با فراوانی ۵۰/۷۳٪ بالاترین رقم شیگلای جدا شده را دارد و سروتایپ ۲ شیگلا فلکسنری با ۵۷/۳٪ در میان آنها از بیشترین فراوانی برخودار است .

شیگلا سونئی ۳۵/۷۵٪ در مرتبه دوم قرار گرفته و شیگلا بویدی با فراوانی ۷/۲۵ و سروتایپهای ۱،۲،۴،۹،۱۰،۱۱،۱۲،۱۴.

در آزمایش تعیین حساسیت داروئی شیگلاهای جداشده نسبت به آنتی‌بیوتیکهای مختلف نتایج از این قرار است که باکتریها نسبت به آمپی‌سیلین ۸۶/۹۵٪ ، باکتریم ۸۳٪ و کلرامفنیکل ۷۱/۵٪ مقاومت نشان داده‌اند و در مقابل نسبت به نالی دیکسیک اسید ۱۰۰٪ و نسبت به جنتامایسین ۹۷/۶٪ شیگلاها حساسیت نشان داده‌اند . مشاهده می‌گردد که داروهائی‌که قبلاً برای درمان عفونتهای روده‌ای مصرف می‌شد، اکنون مقاومت بالائی را نشان می‌دهند و شیگلا تقریباً به‌آنها مقاوم شده‌است. علت این مقاومت را می‌توان با مصرف خودسرانه داروهای ضد باکتریال توسط بیماران و تجویز دارو قبل از آزمایش و تعیین حساسیت داروئی توسط پزشکان توجیه نمود. لازم به یادآوری است که اگرچه عفونتهای شیگلائی مربوط به شیگلافلکسنری و سونئی و بویدی بدون تجویز آنتی‌بیوتیک در نزد بالغین خودبخود بهبود می‌یابد، ولی همین عفونتها در نزد کودکان وافراد سالخورده پیش‌آگهی خوبی نداشته و بایستی برای درمان از مواد ضد باکتریال استفاده شده و در مورد عفونت حاصل از شیگلا دیسانتری و مخصوصاً شیگلا بایستی حتماً آنتی‌بیوتیک تجویز گردد.

نتایج بررسیها بطور کلی نشان می‌دهد که خوشبختانه عفونت شیگلائی در کودکان شیرخوار و زیر شش‌ماه بندرت دیده می‌شود و بطور کلی اخیراً شیگلا با کمترین فراوانی نسبت به سایر ارگانیسمهای پاتوژن روده‌ای جدا می‌گردد. عفونتهای

شیگلائی در ایران کاهش یافته و جای خود را به عفونتهای سالمونلائی داده است و بطوری که در این بررسی مشاهده می‌گردد تنها ۵٪ کل بیماران مراجعه‌کننده مبتلا به شیگلوزیس بودند که ۳/۲۵٪ آنها را کودکان تشکیل می‌دادند .
در مطالعه دیگری نیز که توسط نگارندگان انجام شده است در دو مرکز طبی کودکان و بیمارستان تختی نیز نتایجی مشابه این تحقیق بدست آمد(۱۴).

REFERENCES:

1- Guerrant R.L. et al : Evaluation and diagnosis of acute infectious diarrhea ***Am.J.Med.***78:(6B) 91-98 , 1985 .

2- Bulletin of the World Health Organization . Enteric infections due to campylobacter, yersinia , salmonella,and shigella . W.H.O.Scientific Working Group 58(4): 519-537 , 1980 .

3- Riley R.A: Clostridium difficile in diarrheal disease . ***J.Inf. Dis*** 153(6) : 1177-78 , 1986.

4- World Health . ***The magazine of the World Health Organization*** , 10:14-16, 1983.

5- Akinterinwa M.O:Bacteriological investigation of infantile gastroenteritis in Nigeria . ***J.Trop. Med.Hyg***, 85:139-141, 1982.

6- Browne M.R:Summer diarrhea in African infants and children. ***Arch. Dis.***55:923, 1980.

7- Dupnt HL:Diarrheal disease. an overview ***Am. J Med.*** 78(6B): 63-64,1986.

8- Adelberg E A. et al: Review of medical microbiology , Lange, Los Altos, 1982.

9- Volk A: Essentials of medical microbiology , Second edition, 1982.

10- Taylor D N. et al. The role of shigella sppentero , invasive Escherichia coli , and other enteropathogens as causes of childhood dysentery in thailand ***J.Inf.Dis.***153(6):1132-38, 1986.

11- Avendano A et al: Duodenal string cultures practicality and sensitivity for diagnosing enteric fever in children ***J.Inf. Dis*** 153:359-362, 1986.

12- Bauer J, et al:Clinical Labratory methods and diagnosis 1982.

13- Bauer A.W,Kirby M: Technical section antibiotics susceptibility testing by a standardized single disk method . ***Am J Clin Path***.45(4): 1966.

14- Velayati , A.A,Ghazi-Saidi, K,Taravati,R.
A study of salmonella, Shigella and Enteropathogenic Escherichia coli Serotypes in acute Gastroenteritis children under the age of five .
Med J Islam Rep Iran: Volume 1: 22-31 , 1987.