

بررسی میزان آلودگی به پاتوژن‌های روده‌ای و گونه‌های آنروموناتس در کودکان مبتلا به گاستروآنتریت در مرکز طبی کودکان تهران، 1382-83

دکتر محمد مهدی سلطان‌دلال*، زهره قلاوند**، بهرام نیک‌منش***

نویسنده‌ی مسئول: دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت soltanirad34@yahoo.com

دریافت: 84/5/18 پذیرش: 84/10/19

چکیده

زمینه و هدف: آنروموناتس عامل بسیاری از عفونت‌ها در انسان می‌باشد که از نمونه‌های مختلف مواد غذایی حتی آب قابل شرب جدا گردیده است. مطالعات متعددی شیوع آنروموناتس را در بیماران اسهالی برابر با شیوع شیگلا و گاهی بیشتر ذکر کرده‌اند. با توجه به گزارشات متفاوت در این خصوص، مطالعه‌ی حاضر به منظور تعیین میزان آلودگی به پاتوژن‌های روده‌ای، به ویژه آنروموناتس در اسهال کودکان و تعیین حساسیت آن‌ها به آنتی بیوتیک طی سال‌های 1382 تا 1383 در تهران انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه‌ی توصیفی 310 نمونه‌ی مدفوع کودکان زیر 10 سال مبتلا به اسهال از نظر آنروموناتس، پلزیوموناتس و هم‌چنین از نظر سایر باکتری‌های پاتوژن مانند سالمونلا، شیگلا و اشریشیاکلی آنروپاتوژن و از نظر انگل‌های روده‌ای مورد بررسی قرار گرفتند. حساسیت آنتی بیوتیکی این عامل به روش دیسک دیفوزیون بر روی ایزوله‌های آنروموناتس انجام شد. داده‌ها با استفاده از آمار توصیفی و تحلیلی (آزمون کای دو، تی و دقیق فیشر) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در کودکان مبتلا به اسهال شیوع آنروموناتس 4/5 درصد و بیشتر از سالمونلا و اشریشیاکلی آنروپاتوژن می‌باشد و آنروموناتس دومین پاتوژن شایع بعد از شیگلا می‌باشد. تمام سویه‌های آنروموناتس حساس به سفتی‌زوکسیم، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین و مقاوم به آمپی‌سیلین بودند.

نتیجه‌گیری: گونه‌های آنروموناتس در اسهال کودکان دارای اهمیت اتیولوژیکی بوده و در بررسی باکتریولوژیکی مدفوع، وجود این باکتری می‌بایستی مدنظر گرفته شود. انجام تحقیقات بیشتر توصیه می‌گردد.

واژگان کلیدی: آنروموناتس، اسهال، کودکان، گاستروآنتریت، مقاومت دارویی

مقدمه

اسهال یکی از بیماری‌های شایع و کشنده‌ی کودکان در کشورهای در حال توسعه است و سالانه 5 تا 10 میلیون کودک در اثر این بیماری می‌میرند (1). شایع‌ترین بیماری انسانی ناشی از آنروموناتس، اسهال است که به ویژه کودکان، افراد مسن و بیماران دچار نقص ایمنی را مبتلا می‌کند، هر چند

بیماری ممکن است در افراد سالم با هر گروه سنی رخ دهد. آنروموناتس اسهال حاد با دوره‌ی کوتاه مشابه وبا و گاهی اسهال خونی ایجاد می‌کند. اگر چه آنروموناتس در گذشته به عنوان یک ارگانیزم مشکوک یا با حدت (Virulence) پائین در نظر گرفته می‌شد، اما نقش آن به عنوان یک پاتوژن انسانی روز به روز بیشتر شناخته می‌شود (2-4). بر اساس

* دکترای میکروبیشناسی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی تهران

** کارشناس ارشد میکروبیشناسی، بیمارستان دکتر شریعتی تهران

*** کارشناس ارشد انگل‌شناسی، بیمارستان مرکز طبی کودکان تهران

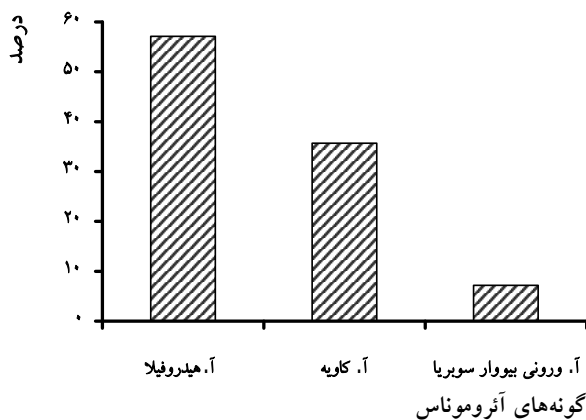
خصوصیات مرفولوژی و بیوشیمیایی، جنس آئروموناس در خانواده‌ی ویبریوناسه طبقه‌بندی شده، اما اخیراً پیشنهاد خانواده‌ی جدیدی به نام آئروموناداسه را داده‌اند. در حال حاضر 14 گونه در جنس آئروموناس وجود دارد که 9 گونه‌ی آن در بیماری‌زایی انسان دخالت دارند. سه گونه آهیدروفیلا، آکاویه و آورونی بیووارسوبریا که بیش از 85 درصد ایزوله‌های بالینی این جنس را شامل می‌شوند، از اهمیت بالینی عمده‌ای برخوردارند (3-6).

آئروموناس‌ها باسیل‌های گرم منفی، بی‌هوازی اختیاری، متحرک، اکسیداز و کاتالاز مثبت هستند که تاکنون از نمونه‌های غذایی مختلف مانند گوشت، غذاهای دریایی، محصولات لبنی، ماهی، سبزیجات و آب‌های سطحی و آشامیدنی کلرینه، جدا گردیده‌اند (7-12). گزارشات بسیاری آئروموناس‌ها را به عنوان عامل بسیاری از عفونت‌های انسان از جمله عفونت خونی، زخم، مننژیت، پنومونی و اسهال مسافری و به ویژه عامل مهم اسهال در کودکان معرفی نموده‌اند و حتی میزان شیوع آئروموناس را در بیماران اسهالی همانند شیوع شیگلا یا کمپیلوباکتر و گاهی حتی بیشتر از آن‌ها ذکر کرده‌اند. با این وجود، بسیاری از آزمایشگاه‌ها نمونه‌های مدفوع را از نظر آئروموناس کشت نمی‌دهند و شیوع این باکتری را در موارد اسهالی نادیده می‌گیرند (13-15). با توجه به شیوع و اهمیت تشخیص آئروموناس در بیماری‌های اسهالی، این مطالعه به منظور تعیین میزان آلودگی به پاتوژن‌های روده‌ای و گونه‌های آئروموناس در بین عوامل باکتریال مولد اسهال کودکان و تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی این باکتری در تهران سال 1382 تا 1383 انجام شد.

روش بررسی

در این بررسی توصیفی طی 8 ماه (اسفند تا مهر) 310 نمونه‌ی مدفوع کودکان مبتلا به اسهال (حاد، مزمن) که

سن آن‌ها از یک روز تا 10 سال بود و به مرکز طبی کودکان تهران مراجعه کرده بودند، از نظر وجود انگل، باکتری‌های آئروموناس، پلزیوموناس، شیگلا، سالمونلا و اشریشیاکلی آنتروپاتوژن بررسی گردیدند. اطلاعات مربوط به سن، جنس، طول دوره‌ی اسهال، تعداد دفع مدفوع در روز، مصرف مواد غذایی دریایی، مصرف آنتی‌بیوتیک، آب مصرفی، نوع مراجعه (بستری، سرپایی)، علایم بالینی کودک (درد شکم، تب، استفراغ)، سابقه‌ی بیماری و محل سکونت کودک در پرسش‌نامه ثبت گردید. در ابتدا، آزمایش لام مستقیم مدفوع جهت بررسی وجود انگل به عمل آمد. PH، تعداد گلبول‌های سفید و قرمز مدفوع، وجود موکوس و خون نیز در مدفوع بررسی گردید. سپس سوآپ محتوی نمونه به داخل آب پپتونه‌ی قلیایی با $PH = 8/6$ برده شد و پس از یک شبانه‌روز یک لوپ پر از آب پپتونه‌ی قلیایی بر روی سه محیط بلاد آگار حاوی 5 درصد خون گوسفند و 10 میکروگرم در هر میلی لیتر آمبی سیلین، محیط سالمونلا - شیگلا آگار (SS) و مک‌کانکی آگار کشت داده شد و به مدت 24 ساعت در گرم خانه در 37 درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. پرگنه‌های لاکتوز منفی بر روی SS آگار و مک‌کانکی آگار از نظر سالمونلا و شیگلا و پرگنه‌های لاکتوز مثبت از نظر اشریشیاکلی مورد بررسی قرار گرفتند. بر روی پرگنه‌های رشد کرده تست‌های افتراقی و اختصاصی مانند واکنش در محیط کلیگر، تولید گاز از گلوکز، تولید اندل، استفاده از سیتрат، اوره آز و ... انجام و جهت تایید نهایی سالمونلا، شیگلا و اشریشیاکلی آنتروپاتوژن (EPEC) از آنتی سرم‌های پلی‌والانت بیومریو با روش آگلوتیناسیون روی لام استفاده گردید. تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفوزیون با سوسپانسیونی برابر 0/5 مک فارلند از سویه‌های آئروموناس در محیط مولر هیتون آگار انجام شد. اطلاعات حاصل از پرسش‌نامه و نتایج کشت، با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آمار توصیفی (جداول فراوانی



نمودار 1: توزیع فراوانی نسبی گونه‌های آتروموناس جدا شده از کودکان مبتلا به اسهال مراجعه کننده به مرکز طبی کودکان، تهران 1382-83

کلرامفنیکل، نالیدیکسیک اسید، کانامایسین و استرپتومایسین و 21 درصد از سوش‌ها به تتراسیکلین و 28 درصد از سوش‌ها به تری‌متوپریم سولفا متوکسازول مقاوم بودند (جدول 1).

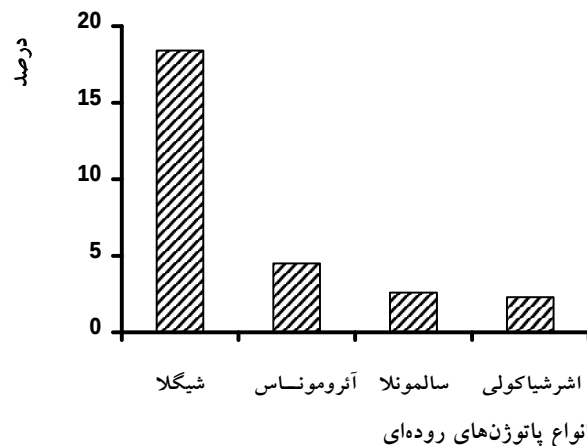
جدول 1: فراوانی نسبی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی آتروموناس در کودکان مبتلا به اسهال در بیمارستان مرکز طبی کودکان تهران، 1382-83

میزان حساسیت			نوع آنتی بیوتیک
مقاوم	حد متوسط	حساس	
0	0	100	سفتی زوکسیم
0	0	100	سیپروفلوکساسین
0	0	100	جتنامایسین
7/1	0	92/9	کلرامفنیکل
7/1	0	92/9	نالیدیکسیک اسید
7/1	42/9	50/0	کانامایسین
28/6	28/6	42/8	تری‌متوپریم سولفا متوکسازول
7/1	50/0	42/9	استرپتومایسین
21/4	57/2	21/4	تتراسیکلین
100	0	0	آمپی سیلین

مطلق و نسبی) و آمار تحلیلی (آزمون کای دو، آزمون تی، آزمون فیشر و حدود اطمینان) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها

از 310 نمونه‌ی مورد آزمایش، بیشترین فراوانی مربوط به شیگلا با 18/4 درصد (57 درصد) و آتروموناس با 4/5 درصد (14 مورد) بود (نمودار 1).



نمودار 1: توزیع فراوانی نسبی باکتری‌های پاتوژن جدا شده از کودکان مبتلا به اسهال مراجعه کننده به مرکز طبی کودکان، تهران 1382-83

در بررسی ارتباط وجود آتروموناس با متغیرهایی مانند سن، جنس، طول مدت اسهال، تعداد دفع در روز، مصرف مواد غذایی دریایی، آب مصرفی، علایم بالینی کودک (تب، استفراغ، درد شکم)، PH مدفوع، وجود موکوس، خون و تعداد گلبول سفید در مدفوع مشخص گردید که متغیر PH ($P=0/001$) و متغیر موکوس و خون در مدفوع ($P=0/01$) ارتباط معنی‌داری با حضور آتروموناس داشتند.

نتایج تعیین حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی آتروموناس‌های جدا شده، نشان داد که مقاومت به آمپی سیلین صددرصد و حساسیت به سفتی زوکسیم و سیپروفلوکساسین و جتنامایسین صددرصد بود. 7 درصد از سوش‌های آتروموناس به

بحث

در مطالعه‌ی حاضر، میزان شیوع آئروموناس در کودکان مبتلا به اسهال، 4/5 درصد محاسبه شد که با نتایج گزارش شده از بسیاری کشورها توافق دارد. گونه‌های آئروموناس جدا شده شامل 8 مورد آئرونی بیووارسوبریا (57/1 درصد)، 5 مورد آ.کاویه (35/7 درصد) و یک مورد آ.هیدروفیلا (7/2 درصد) بودند. در این بررسی همانند بسیاری از مطالعات، میزان جداسازی آئروموناس در کودکان مبتلا به اسهال بعد از شیگلا قرار دارد. یعنی آئروموناس با شیوع 4/5 درصد بعد از شیگلا با شیوع 18/4 درصد قرار دارد و بعد از آن سالمونلا و ژیاودیها هر کدام با شیوع 2/6 درصد و اشریشیاکلی آنتروپاتوژن با شیوع 2/3 درصد قرار دارند. بیماری اسهال که توسط این ارگانیسم‌ها ایجاد می‌شود از اکثر نقاط جهان گزارش شده است. در کشورهای توسعه یافته، طیف بالینی از اسهال توکسیژنیک تا کولیت متفاوت است، در حالی که در کشورهای در حال توسعه اسهال ایجاد شده توسط آئروموناس عمدتاً توکسیژنیک است (15-16).

آئروموناس را به عنوان عامل مهم ایجاد اسهال در کودکان و بزرگسالان (به خصوص در افراد بالای 60 سال) گزارش کرده‌اند. در مجموع، شیوع آئروموناس در بیماران اسهالی از 1 تا 27 درصد گزارش شده است، اما میزان جداسازی آن در بزرگسالان کمتر از کودکان می‌باشد (15). مطالعه‌ای که بر روی همه‌ی گروه‌های سنی مبتلا به اسهال در هندوستان انجام شد، میزان جداسازی آئروموناس را 1/8 درصد و مطالعه‌ی دیگری 1/9 درصد گزارش کرده است و در بررسی دیگری در کودکان زیر 5 سال این میزان را 4/7 و در کودکان زیر 10 سال 6/5 درصد محاسبه کرده‌اند (18، 14، 16، 17).

شیوع آئروموناس در کودکان مبتلا به اسهال از نیجریه 4/4 درصد، آمریکا 7 درصد، استرالیا 10 درصد، لیبی 14/6 درصد گزارش شده است و در اکثر این گزارشات آئروموناس از افراد سالم جدا نگردیده است (19-21).

در این بررسی مشخص گردید که بین وجود آئروموناس و مدفوع موکوسی خونی ارتباط معنی‌داری از نظر آماری وجود دارد ($P=0/001$). بنابراین در بررسی نمونه‌هایی که دارای موکوس و خون هستند باید وجود این باکتری را مورد توجه قرار داد. نکته‌ی جالب توجه این است که اکثر سوش‌های آئروموناس از نمونه‌هایی با PH قلیایی جدا گردیدند. بررسی آماری تفاوت معنی‌داری بین وجود آئروموناس و PH مدفوع نشان داد ($P=0/001$). بنابراین در مواجهه با نمونه‌های اسهالی که PH قلیایی دارند باید وجود این باکتری‌ها را مدنظر داشت. در بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی سوش‌های آئروموناس مشخص گردید که 100 درصد سوش‌ها به آمپی‌سیلین مقاوم و 100 درصد آن‌ها به سیپروفلوکساسین، جنتامایسین و سفتری‌زوکسیم حساس می‌باشند. اما حساسیت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها متغیر بود. در بسیاری از مطالعات، آئروموناس از افراد سالم جدا نشده است (14، 16، 18، 22) و برخی از مطالعات به جدا نشدن باکتری‌های پاتوژن دیگر به همراه آئروموناس اشاره کرده‌اند (16). از سوی دیگر پژوهشگران وجود آنتروتوکسین‌های آئروموناس را ثابت کرده و نشان داده‌اند که موتان‌های آئروموناس که توانایی تولید یا ترشح این آنتروتوکسین‌ها را ندارند، بیماری‌زایی کاهش یافته‌ای را نشان می‌دهند (4، 23، 24). تمامی موارد فوق به همراه بهبود اسهال با آنتی‌بیوتیک‌هایی که بر روی آئروموناس‌ها مؤثرند و عدم بهبود با آنتی‌بیوتیک‌هایی که مؤثر نیستند، همگی مؤید نقش مهم این باکتری‌ها در ایجاد اسهال در کودکان می‌باشند، اما متأسفانه بسیاری از آزمایشگاه‌ها به طور روتین مدفوع را از نظر آئروموناس کشت نمی‌دهند، در نتیجه شیوع اسهال ناشی از آئروموناس ناچیز پنداشته می‌شود و این در حالی است که جهت درمان اسهال کودکان از آنتی‌بیوتیکی‌هایی استفاده می‌شود که آئروموناس‌ها به آن‌ها مقاوم هستند و همین امر موجب تداوم اسهال در آن‌ها خواهد شد.

نتیجه گیری

بر اساس یافته‌های این مطالعه، آئروموناس دومین پاتوژن شایع بعد از شیگلا می‌باشد. بنابراین در موارد اسهالی باید به وجود این باکتری در ایجاد اسهال توجه داشت. با استفاده از محیط غنی شده‌ی آب پپتونه‌ی قلیایی و بلادآگار

آمپی‌سیلین‌دار در کنار محیط‌های معمول که برای کشت مدفوع (SS و مک‌کانکی آگار) استفاده می‌شوند و انجام تست اکسیداز در قدم اول و دقت بیشتر می‌توان به راحتی این باکتری‌ها را شناسایی نموده و حتی تا سطح گونه را نیز تعیین کرده و تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی را انجام داد.

منابع

- 1- Schaechter M, Medoff G. **Mechanisms of Microbial Disease**. 3th ed. Baltimore: Williams & Wilkins Co; 1998, 182.
- 2- Alavandi S, Ananthan S, Kang G. Prevalence, invitro secretory activity, and cytotoxicity of Aeromonas species associated with childhood gastroenteritis in Chennai (Madras), India. **Jpn J Med Sci Biol**. 1998; 51(1): 1-12.
- 3- Janda JM. **Vibrio, Aeromonas and Plesiomonas**. In: Balows A, Duerden BI (editors). **Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections Systematic Bacteriology**. Vol: 2. London: Arnold Co; 1998, 1065-89.
- 4- Mandell LM, Bennett JE, Dolin R. **Principles and Practice of Infectious Disease**. 5th ed. New York: Churchill Livingstone Co; 2000, 2453-4.
- 5- Dodd HN, Pemberton M. Construction of a physical and preliminary genetic map of Aeromonas hydrophila JMP636. **Microbiol**. 1998; 144: 3087-96.
- 6- Figueras MJ, Guarro J, Martínez-Murcia A J. Clinically relevant Aeromonas species. **CID**. 2000; 30: 988-9.
- 7- Hinton AJr, Cason JA, Ingram KD. Tracking spoilage bacteria in commercial poultry processing and refrigerated storage of poultry carcasses. **Int J Food Microbiol**. 2004; 91(2): 155-65.
- 8- Gonzalez-Rodriguez MN, Sanz JJ, Santos JA, Otero A, Garcia-Lopez ML. Numbers and types of microorganisms in vacuum-packed cold smoked freshwater fish at the retail level. **Int J Food Microbiol**. 2002; 77(12): 161-8.
- 9- Isonhood JH, Drake M. Aeromonas species in foods. **J Food Prot**. 2002; 65(3): 575-82.
- 10 - Scoglio ME, Di Pietro A, Mauro A, et al. Isolation of Listeria spp., Aeromonas spp., and Vibrio spp., from seafood products. **Ann Ig**. 2000; 12(4): 297-305.
- 11- McMahon MA, Wilson IG. The occurrence of enteric pathogens and Aeromonas species in organic vegetables. **Int J Food Microbiol**. 2001; 70(1-2): 55-62.
- 12- Croci L, Di Pasquale S, Cozzi L, Consalez, GG. Behavior of Aeromonas hydrophila in bottled mineral waters. **J Food Prot**. 2001; 64(11): 1836-40.
- 13- Hanninen ML, Oivanen P, Hirvela-Koski V. Association of Aeromonas spp. with travellers' diarrhoea in Finland. **J Med Microbiol**. 1995; 42(1): 26-31.
- 14- Komathi AG, Ananthan S, Alavandi SV. Incidence and enteropathogenicity of Aeromonas spp. in children suffering from acute diarrhoea in Chennai. **Indian J Med Res**. 1998; 107(4): 252-6.
- 15- Utsalo SJ, Eko FO. Aeromonas in acute diarrhoea and asymptomatic infections in Nigerian children. **Eur J Epidemiol**. 1995; 11(2): 171-5.

- 16- Deodhar LP, Saraswathi K, Varukar A. Aeromonas spp. and their association with human diarrheal disease. *J Clin Microbiol.* 1991; 29(5): 853-6.
- 17- Ananthan S, Alavandi SV. Biochemical characteristics and secretory activity of Aeromonas species isolated from children with gastroenteritis in chennai. *Indian J Med Res.* 1999; 109(3): 136-40.
- 18- Verenkar M, Naik V, Rodrigues S. Aeromonas species and Plesiomonas shigelloides in diarrhoea in Goa. *Indian J Pathol Microbiol.* 1995; 38(2): 169-71.
- 19- Ghenghesh KS. Characterization of virulence factors of Aeromonas isolated from children with and without diarrhoea in Tripoli, Libya. *J Diarrhoeal Dis Res.* 1999; 17(2): 75-80.
- 20- Akinyemi KO. Escherichia coli in patients with acute gastroenteritis in Lagos, Nigeria. *East Afr Med J.* 1998; 75(9): 512-5.
- 21- Gluskin I, Batash D, Shoseyov D, et al. A 15-year of the role of Aeromonas spp. in gastroenteritis in hospitalised children. *J Med Microbiol.* 1992; 37(5): 315-8.
- 22-Soltan Dallal MM, Moez Ardalan K. Aeromonas spp. associated with children,s diarrhea in Tehran: a case-control study. *Annals Trop Paediatr.* 2004; 24:45-51.
- 23- Ferguson MR, Fan X, Mukherjee M. Role of a cytotoxic enterotoxin in Aeromonas- mediate infections: Development of transposon and isogenic mutants. *Infect Immun.* 1998; 66(8): 3501-9.
- 24- Trower CJ, Abo S, Majeed KN, Von itzstein M. Production of an enterotoxin by a gastroenteritis-associated Aeromonas strain. *J Med Microbiol.* 2000; 49(2): 121-6.