

بررسی کلونیزاسیون استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A و مقاومت دارویی سویه های جدا شده از دانش آموزان سالم ۱۲-۱۴ ساله مدارس منطقه آزاد ارس

مهدی غفاری^{۱*}، سید رضا مؤدب^۲، عبدالناصر رفیع^۳، مهدی رشدی ملکی^۳

۱. گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان

۲. اعضای هیأت علمی گروه علوم آزمایشگاهی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۳. عضو هیأت علمی گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ملکان

چکیده:

زمینه و اهداف: استرپتوکوک های بتا همولیتیک گروه A، یکی از شایع ترین باکتری های بیماریزای سنین نوجوانی است که اهمیت منحصر بفرود آن به دلیل دو عارضه ی مهم غیر چرکی یعنی تب روماتیسمی و گلومرولونفریت حاد می باشد. هدف از این مطالعه بررسی کلونیزاسیون استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A و مقاومت دارویی سویه های جدا شده از دانش آموزان سالم مدارس منطقه آزاد ارس بود.

روش بررسی: این مطالعه در بین ۳۰۰ دانش آموزان سالم ۱۲-۱۴ ساله دختر و پسر مدارس راهنمایی منطقه آزاد ارس انجام شد. پس از نمونه گیری از ناحیه نازوفارنکس با استفاده از سوآپ استریل، نمونه ها بلافاصله روی محیط کشت اختصاصی و هم چنین محیط کشت آگار خون دار کشت داده شده و تعداد ۶۷ نمونه مثبت ایزوله گردید. با انجام آزمایش حساسیت ضد میکروبی به روش دیسک دیفیوژن میزان مقاومت باکتریایی نسبت به شانزده آنتی بیوتیک شامل پنی سیلین، اریترومایسین و بعضی از داروهای رده دوم همانند آموکسی سیلین، آمپی سیلین، کوآموکسی کلاو، توبرامایسین، جنتامایسین، کلیندامایسین، وانکومایسین، تتراسایکلین، کوتریموکسازول، کلوگزاسیلین، سفالوتین، سفالکسین، سفازولین و سفیکسیم تعیین گردید.

یافته ها: این مطالعه نشان داد میزان شیوع حاملین سالم GABHS، ۲۲/۳٪ می باشد که از این میزان دانش آموزان دختر پایه اول با ۲۷/۸٪ آلودگی، بیشترین حاملین سالم این باکتری بودند. بیشترین مقاومت باکتریایی با ۹۲/۵٪ نسبت به کوتریموکسازول دیده شد. تمامی استرپتوکوک های جدا شده نسبت به پنی سیلین حساس بودند.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد مقاومت بالای این باکتری نسبت به برخی از آنتی بیوتیک های مورد مطالعه، نشان دهنده مصرف غیر اصولی آن ها در جامعه مورد مطالعه می باشد که لازم است علاوه بر افزایش سطح آگاهی مردم در خصوص مصرف منطقی داروها و رعایت نکات بهداشتی، در تجویز داروها نیز احتیاط بیشتری صورت گیرد.

کلمات کلیدی: استرپتوکوک های بتا همولیتیک گروه A، مقاومت باکتریایی، منطقه آزاد ارس.

مقدمه:

۳۰۰ نفر از دانش آموزان سالم ۱۴-۱۲ ساله دختر و پسر مدارس مقطع راهنمایی محدوده منطقه آزاد ارس انجام شد. انتخاب نمونه ها با روش نمونه گیری تصادفی ساده چند مرحله ای می باشد. به این ترتیب که محدوده منطقه آزاد ارس با استفاده از محور مختصات با مرکزیت مرکز شهر جلفا به سه قسمت تقسیم شده و از هر قسمت دو مدرسه (یکی دخترانه و یکی پسرانه) انتخاب گردید. حجم نمونه با در نظر گرفتن ضریب اطمینان ۹۵٪ در فرمول کوکران ۳۰۰ نفر بر آورده شد پس از اخذ مجوز های لازم از اداره آموزش و پرورش و شبکه بهداشت و درمان جلفا و همچنین هماهنگی با اولیا و توجیه دانش آموزان، ابتدا پرسش نامه حاوی اطلاعات زمینه ای مانند شغل پدر و مادر، تعداد افراد خانواده و میزان تحصیلات والدین به عنوان مطالعات میدانی همزمان با نمونه گیری جهت شرکت در مطالعه جمع آوری شد. از آنجا که معیار ورود به مطالعه، نداشتن سابقه عمل جراحی برداشتن لوزه، عدم مصرف آنتی بیوتیک در ۷۲ ساعت اخیر، عدم وجود شکایت و علائم عفونت راههای تنفسی فوقانی از قبیل تب، لرز، گلو درد، سرفه، سردرد، آب ریزش بینی، التهاب یا قرمزی مخاط حلق بود قبل از نمونه گیری از کلیه دانش آموزان شرح حال و معاینه فیزیکی توسط پزشک انجام شد.

محل نمونه گیری: نمونه گیری از گلوی دانش آموزان انجام شد. به این ترتیب که زیر نور مستقیم و دید کافی با یک آیسلانگ چوبی زبان فرد پائین نگه داشته و به وسیله انتهای سوآپ سرپنبه ای استریل از ناحیه نازوفارنکس و سطح هر دو لوزه و حفره های پشت آن نمونه گیری و سوآپ را بدون برخورد با بقیه قسمت های دهان از گلو خارج می کنیم. پس از نمونه گیری از افراد سالم، سوآپ ها در لوله آزمایش استریل قرار داده شده و طی مدت کوتاه کم تر از یک ساعت به آزمایشگاه میکروب شناسی پردیس دانشگاه علوم پزشکی تبریز شعبه بین المللی ارس منتقل شد.

روش کشت: طبق روش استاندارد، نمونه ها بلافاصله (روی الف) محیط انتخابی استرپتوکوک گروه A و ب)

حفره ی دهان به رغم سادگی ظاهری، یکی از پیچیده ترین و ناهمگن ترین خصوصیات میکروبی بدن می باشد. استرپتوکوک ها، مهم ترین ارگانیسم های ساکن در دهان هستند (۱). استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A مهم ترین عامل فارنژیت باکتریایی در کودکان ۱۵-۳ ساله بوده و تقریباً ۳۰-۱۵ درصد فارنژیت حاد کودکان در این گروه سنی می باشد (۲). برخی محققان ۲۰-۵ درصد کودکان و برخی دیگر حتی بیش تر از ۲۰ درصد جمعیت های حقیقی را حامل حلقی سالم و بی علامت این باکتری برآورد نموده اند (۳). میزان حاملین (افرادی که ارگانیسم را در گلو یا بینی خود دارند، اما علائم عفونت حاد را ندارند) بر اساس سن، موقعیت جغرافیایی، فصل سال، شرایط آب و هوایی و مدت تماس با افراد مبتلا متفاوت است (۴). به طور متوسط ۲۵-۵ درصد کودکان مشغول تحصیل در مدارس، ناقل طبیعی استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A می باشند (۵). که باتوجه به شکل انتقال این باکتری از طریق تماس با افراد آلوده به ویژه در اجتماعات و مکان های تجمعی مثل مدارس، امکان انتقال باکتری در بین دانش آموزان بیش تر است (۵). لذ با توجه به ویژگی های جغرافیایی و آب و هوایی منطقه و فقدان اطلاعات جامع و کامل از میزان حاملین سویه های استرپتوکوک گروه A به ویژه در سنین کودکی و از طرفی از آنجا که تعیین میزان ناقلین این باکتری به عنوان یکی از اهداف طرح ملی پیشگیری اولیه تب روماتیسمی در مدارس ایران می باشد، بر آن شدیم تا میزان شیوع ناقلین استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A در نمونه های گلویی دانش آموزان ۱۴-۱۲ ساله مدارس محدوده منطقه آزاد ارس را مورد بررسی قرار دهیم تا علاوه بر انتخاب بهترین و موثر ترین دارو در درمان ارجح فارنژیت استرپتوکوکی منطقه، مقدمه ای برای انجام مطالعات همه گیر شناسی بعدی، تعیین سروتیپ ها، عفونت ها و عوارض ناشی از آن ها باشد.

روش کار:

نوع مطالعه و روش نمونه گیری: این مطالعه از نوع توصیفی-تحلیلی می باشد که به صورت مقطعی در بین

بتا انتخاب و روی محیط آگار خون دار دیگری به صورت سفرفه ای کشت و سپس روی محیط یک عدد دیسک باسیتراسین ۰/۰۴ واحدی و یک عدد دیسک کوتریموکسازول قرار می دهیم. محیط ها را به مدت ۲۴ ساعت در دمای 35°C و ۱۰٪ دی اکسید کربن نگهداری می کنیم. نمونه های حساس به باسیتراسین و مقاوم به کوتریموکسازول، به عنوان استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A تلقی می شوند.

آنتی بیوگرام: از نمونه های مثبت، کلونی های مجزا از استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A انتخاب و روی محیط مولر هیتون آگار به صورت سفرفه ای کشت داده و سپس دیسک های آنتی بیوتیکی مورد استفاده در عفونت حلقی و دهانی از قبیل پنی سیلین، اریترومايسين، آموکسی سیلین، آمپی سیلین، کو آموکسی کلاو، توبرامايسين، جنتاميسين، کلیندامایسین، وانکومايسين، تتراسایکلین، کوتریموکسازول، کلوزاسیلین، سفالوتین، سفالکسین، سفازولین و سفیکسیم را روی محیط قرار می دهیم.

روش کار: به این صورت که از باکتری های مورد آزمایش یک سوسپانسیون معادل ۰/۵ مک فارلند تهیه کرده و یک سوآپ استریل را به این سوسپانسیون آغشته کرده و پس از گرفتن مایع اضافی از لوب در لوله آزمایش، بر روی محیط مولر هیتون آگار ۳ بار با حالت زاویه ۶۰ درجه می مالیم و سپس سوآپ را در داخل ماده ضد عفونی قرار می دهیم. پس حداکثر ۱۵ دقیقه بعد از کشت با استفاده از یک پنس استریل دیسک ها را در فواصل مناسب در سطح محیط کشت قرار می دهیم و با نوک پنس آن را در جای خود محکم می کنیم. پلیت را در دمای 35°C به مدت ۱۶ الی ۱۸ ساعت قرار داده و پس از آن با استفاده از یک خط کش دقیق، قطر هاله عدم رشد را بر حسب میلی متر اندازه گرفته و میزان حساسیت باکتری نسبت به آنتی بیوتیک را به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش می کنیم.

روش آنالیز آماری: در این مطالعه داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS مورد آنالیز قرار گرفت. سطح معنی داری ۰/۰۵ و قدرت آزمون ۸۰ درصد به صورت پیش فرض مد نظر قرار گرفت. برای مقایسه میانگین سن ناقلین استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A با افراد سالم از آزمون t-test

محیط اختصاصی آگار خون دار حاوی ۵ درصد خون دیفیرینه گوسفندی به صورت خطی کشت داده شدند. به این ترتیب که سوآپ را در گوشه محیط کشت حاوی آگار خون دار می مالیم، سپس با استفاده از فیلدو پلاتین باکتری را به صورت خطی در سطح محیط کشت می دهیم. جهت ایجاد شرایط بی هوازی برای فعالیت استرپتولیزین O و رویت بهتر همولیز بتا، لوب آغشته به نمونه را در چند نقطه ی محیط به طور عمقی تلقیح می کنیم. سپس محیط کشت را در شرایط وجود ۱۰٪ دی اکسید کربن و در دمای 35°C تا 37°C در گرم خانه گذاشته و پس از ۲۴ ساعت، پلیت ها از نظر وجود کلونی های استرپتوکوک بتا همولیتیک بررسی می کنیم. در صورت عدم مشاهده کلونی باکتری مورد نظر پس از ۲۴ ساعت مجدداً پلیت ها را برای یک روز دیگر در گرم خانه گذاشته و مجدداً مورد بررسی قرار می دهیم. و در صورت عدم مشاهده کلونی مزبور پس از ۴۸ ساعت جواب کشت منفی تلقی می شود.

شناسایی: جهت شناسایی استرپتوکوک های بتا همولیتیک از کلونی های مشکوک به همولیز بتا رنگ آمیزی گرم انجام داده و سپس از کوکسی های گرم مثبت تست حساسیت به باسیتراسین آنتی بیوتیک انجام می دهیم. با مشاهده کلونی های ریز سر سوزنی به رنگ سفید یا خاکستری شفاف، مات یا براق و با منطقه ای بزرگ و بی رنگ از همولیز بتا در اطراف کلونی های مزبور روی محیط کشت، ابتدا مقداری از کلونی باکتری را توسط لوب از روی محیط برداشته و به همراه قطره ای از سرم فیزیولوژی روی لام تمیزی قرار داده و پس از پخش کردن و فیکس کردن آن توسط شعله، رنگ آمیزی گرم انجام می دهیم. سپس لام ها توسط میکروسکوپ نوری با بزرگ نمایی $100\times$ عدسی شیئی مورد مطالعه قرار می دهیم. در این بررسی استرپتوکوک های بتا همولیتیک به شکل سلول های تک تک، دو تایی و گاهی مجتمع زنجیره ای گرم مثبت مشاهده می شود.

چنانچه کوکسی گرم مثبت در نمونه یافت شود، آزمایش کاتالاز انجام می دهیم که در صورت منفی بودن آزمایش کاتالاز مشخص می شود کلونی مزبور استرپتوکوک بتا همولیتیک است. کلونی های مجزا از هر پلیت با همولیز

مستقل استفاده شد. برای مقایسه فراوانی ناقلین در دو گروه جنسی، آزمون χ^2 به کار برده شد.

یافته ها:

اطلاعات دموگرافیک: از ۳۰۰ دانش آموز مورد بررسی ۱۵۰ نفر (۵۰٪) پسر و ۱۵۰ نفر (۵۰٪) دختر بودند. سن ۴۰٪ دانش آموزان ۱۲ سال، ۳۴٪ دانش آموزان ۱۳ سال و

۲۷٪ دانش آموزان ۱۴ سال و میانگین سنی افراد ۱۳ سال بود. طبق جدول شماره ۴-۱، تعداد ۶۷ نفر (۲۲/۳٪) حامل استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A بودند. ۳۵ نفر از حاملین پسر و ۳۲ نفر دختر بودند. فراوانی ناقلین در دو جنس تفاوت آماری معنی دار نداشت. بیشترین فراوانی در دانش آموزان دختر پایه اول و کمترین در دانش آموزان دختر پایه دوم بود.

جدول ۱. فراوانی حاملین حلقی سالم استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A بر حسب جنس دانش آموزان مقطع راهنمایی، منطقه آزاد ارس ۱۳۸۹

جنس حاملین	بلی	خیر
پسر	۳۵ (۲۳/۳)°	۱۱۵ (۷۶/۶)
دختر	۳۲ (۲۱/۳)	۱۱۸ (۷۸/۶)
جمع	۶۷ (۲۲/۳)	۲۳۳ (۷۷/۶)

* اعداد داخل پارانتر بیانگر درصد می باشند.

از آنجا که تعداد حاملین در منطقه شهری جلفا ۴۹ نفر (۱۹٪)، منطقه روستایی حق وردی آباد ۷ نفر (۳۸/۸٪) و منطقه روستایی شجاع ۱۱ نفر (۴۴٪) می باشد. این مطالعه نشان می دهد بیشترین آلودگی با باکتری استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A در حاملین سالم مناطق شهری روی داده است.

بررسی میزان شیوع حاملین حلقی سالم این باکتری به تفکیک گروه های قومی ساکن در منطقه عبارت است از: گروه قومی آذربایجانی ۲۲/۳ درصد، قوم فارس ۲۱/۷ درصد و در گروه های قومی از قبیل عرب، کرد و سایر اقوام با توجه به اینکه هیچ دانش آموزی وجود نداشت قابل مطالعه و بررسی نبود. لذا با توجه به غالب بودن جمعیت قومی آذربایجانی در منطقه، به نظر می رسد برای تعمیم و قطعیت تاثیر نژاد بر میزان شیوع ناقلین این باکتری به بررسی کامل تری در نقاط مختلف کشور نیاز باشد.

بررسی میزان شیوع حاملین حلقی سالم این باکتری به تفکیک دین دانش آموزان نشان می دهد: تمامی موارد استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A جدا شده از دانش آموزان این منطقه مربوط به دانش آموزان مسلمان می باشد (۲۲/۳٪). البته با توجه به این که هیچ یک از گروه های دینی مسیحی یا یهود و غیره در منطقه وجود ندارد، این

بیشترین فراوانی حاملین استرپتوکوک در گروهی مشاهده شده که سرپرست آن ها پدر (۱۸٪) و دارای شغل آزاد بود (۲۹٪). هم چنین از نظر سطح تحصیلات بیشترین فراوانی حاملین استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A، در گروهی بود که سطح تحصیلات سرپرست سیکل (۳۹٪) و مادرانشان خانه دار (۵۶٪) بود.

طبق اطلاعات بدست آمده از مجموع ۳۰۰ نمونه کشت داده شده از ناحیه ی نازوفارنکس دانش آموزان پسر و دختر در پایه های آموزشی مختلف نشان می دهد که تعداد حاملین پسر در پایه اول (۱۲ ساله ها) ۱۴ نفر (۲۳/۷٪) در پایه دوم (۱۳ ساله ها) ۱۲ نفر (۲۲/۶٪) و در پایه سوم (۱۴ ساله ها) ۹ نفر (۲۳/۶٪) می باشد. هم چنین تعداد حاملین دختر در پایه اول (۱۲ ساله ها) ۱۷ نفر (۲۷/۸٪) در پایه دوم (۱۳ ساله ها) ۴ نفر (۸/۵٪) و در پایه سوم (۱۴ ساله ها) ۱۱ نفر (۲۷/۱٪) می باشد. این مطالعه نشان می دهد دانش آموزان پایه اول دختر و پسر به ترتیب با ۲۷/۸٪ و ۲۳/۷٪ آلودگی بیشترین میزان حاملین استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A در بین مدارس راهنمایی منطقه آزاد ارس می باشند. در همین راستا دانش آموزان دختر پایه دوم با ۸/۵٪ آلودگی کمترین حاملین این باکتری بودند.

دانش آموزانی که مادر آن‌ها خانه دار می باشد (۵۶/۱٪)، مشاهده شد.

بررسی میزان شیوع حاملین حلقی سالم این باکتری به تفکیک سطح تحصیلات سرپرست دانش آموز عبارتند از: بی سواد ۹ نفر (۲۸/۱٪)، ابتدایی ۲۱ نفر (۴۲٪)، سیکل ۲۳ نفر (۳۹/۶٪)، دیپلم ۱۴ نفر (۱۳/۲٪)، لیسانس و بالاتر از لیسانس منفی می باشد. بر اساس این مطالعه بیشترین میزان حاملین حلقی استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A در دانش آموزانی که سطح تحصیلات سرپرست آن‌ها ابتدایی می باشد (۴۲٪)، مشاهده شد.

بررسی میزان شیوع حاملین حلقی سالم این باکتری به تفکیک تعداد افراد خانواده عبارتند از: خانواده سه نفره ۰٪، چهار نفره ۲۷ نفر (۶۱/۳٪)، پنج نفره ۱۷ نفر (۲۰٪)، شش نفره ۰٪، هفت نفره ۲۱ نفر (۳۶/۲٪) و هشت نفره و بیش تر ۲ نفر (۱۱/۷٪) می باشد. بر اساس این مطالعه بیشترین میزان حاملین حلقی استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A در دانش آموزانی که تعداد افراد خانواده آن‌ها ۴ نفره می باشد (۶۱/۳٪)، مشاهده شد.

آمار قابل اتکا و بهره برداری در خصوص تاثیر دین بر میزان شیوع ناقلین این باکتری نمی باشد.

همچنین بر اساس این مطالعه تعداد حاملین در دانش آموزان با سرپرستی پدر ۴۳ نفر (۱۸/۱٪) و در دانش آموزان با سرپرستی مادر ۲۴ نفر (۳۹/۳٪) می باشد. به عبارتی دانش آموزان با سرپرستی مادر بیشترین میزان آلودگی را دارند.

میزان شیوع حاملین حلقی سالم این باکتری به تفکیک شغل سرپرست دانش آموز عبارتند از: کارمند ۹ نفر (۸/۴٪)، شغل آزاد ۳۵ نفر (۲۹/۶٪)، بی کار ۱۹ نفر (۳۲/۷٪)، بازنشسته ۴ نفر (۲۳/۵٪). که بر اساس این مطالعه بیشترین میزان حاملین حلقی استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A در دانش آموزانی که سرپرست آن‌ها دارای شغل آزاد می باشد (۲۹/۶٪)، مشاهده شد.

بررسی میزان شیوع حاملین حلقی سالم این باکتری به تفکیک شغل مادر دانش آموز عبارتند از: کارمند ۳ نفر (۷/۶٪)، شغل آزاد ۵ نفر (۳۱/۲٪)، خانه دار ۵۹ نفر (۵۶/۱٪)، بازنشسته ۰٪. بر اساس این مطالعه بیشترین میزان حاملین حلقی استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A در

جدول ۲. میزان حساسیت استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A در حاملین سالم نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف

مقاوم	نیمه حساس		حساس	
	تعداد (%)	تعداد (%)	تعداد (%)	تعداد (%)
پنی سیلین	۰ (۰)	۰	۶۷ (۱۰۰)	۰
اریترومایسین	۵ (۷/۴)	۳ (۴/۴)	۵۹ (۸۹)	۰
آموکسی سیلین	۵۹ (۸۸)	۸ (۱۱/۹)	۰	۰
آمپی سیلین	۵۴ (۸۰/۵)	۱۱ (۱۶/۴)	۲ (۲/۹)	۰
کو آموکسی کلاو	۶۰ (۸۹/۵)	۲ (۲/۹)	۵ (۷/۴)	۰
توبرامایسین	۳۴ (۵۰/۷)	۱۵ (۲۲/۳)	۱۸ (۲۶/۸)	۰
جنتامیسین	۴۷ (۷۰/۱)	۴ (۵/۹)	۱۵ (۲۲/۳)	۰
کلیندامایسین	۲۸ (۴۱/۷)	۱۸ (۲۶/۸)	۲۱ (۳۱/۳)	۰
وانکومایسین	۱۵ (۲۲/۳)	۱۱ (۱۶/۴)	۴۱ (۶۱/۱)	۰
تتراسایکلین	۳۳ (۴۹/۲)	۹ (۱۳/۴)	۲۵ (۳۷/۳)	۰
کوتریموکسازول	۶۲ (۹۲/۵)	۱ (۱/۴)	۴ (۵/۹)	۰
کلوگزاسیلین	۵۳ (۷۹/۱)	۴ (۵/۹)	۱۱ (۱۶/۴)	۰
سفالوتین	۱۸ (۲۶/۸)	۹ (۱۳/۴)	۴۰ (۵۹/۷)	۰
سفالکسین	۳۴ (۵۰/۷)	۶ (۸/۹)	۲۷ (۴۰/۲)	۰
سفازولین	۳۱ (۴۶/۲)	۱۱ (۱۶/۴)	۲۵ (۳۷/۳)	۰
سفیکسیم	۳۵ (۵۲/۲)	۱۴ (۲۰/۸)	۱۸ (۲۶/۸)	۰

ذکر کرده اند که نشان دهنده شیوع بسیار پایین تری از مطالعات جهانی می باشد (۸-۹-۱۰). هم چنین در مطالعه ای که در زمستان ۱۳۷۸ در گرگان انجام شد میزان شیوع این باکتری برابر ۱۱ درصد گزارش شد که میزان آن در پسرها ۱۱/۲ درصد و در دخترها ۱۰/۸ درصد بود (۱۱). در مطالعه ای که در سال ۱۹۹۳ میلادی توسط Begovac و همکارانش انجام گرفت، ۸/۳ درصد افراد، ناقل سالم و بی علامت GABHS بودند و در این بین، بیش ترین شیوع مربوط به کودکان ۱۶-۴ ساله بود (۱۲).

در این مطالعه میزان شیوع ناقلین استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A، ۲۲/۳ درصد برآورد شده است که نسبت به پنج مطالعه ذکر شده در کشور افزایش قابل توجهی را نشان می دهد، ولیکن با نتایج جهانی مطابقت و همراهی بیش تری دارد. با عنایت به اینکه میزان شیوع ناقلین بدون علامت تابعی از شرایط آب و هوایی، تراکم جمعیت و مناطق جغرافیایی می باشد اختلاف نتایج به دست آمده در نقاط مختلف کشور می تواند ناشی از عوامل فوق باشد. به دلیل اینکه منطقه آزاد ارس از مناطق با آب و هوای معتدل می باشد که در آن برخلاف مناطق گرمسیری که ناقلین پوستی شایع ترند، میزان فراوانی ناقلین گلو بیش تر است. در ضمن اثر فصلی انجام مطالعات نیز ممکن است دلیل دیگر این افزایش باشد. از طرفی تفاوت های فنی از جمله استفاده از خون گوسفند یا انسان می تواند یکی از دلایل این اختلاف باشد که در مطالعات مذکور در داخل کشور نوع خون استفاده شده مورد اشاره قرار نگرفته است ولی در مطالعه حاضر از خون دفیبرینه گوسفند برای جداسازی استفاده شد که امکان مشاهده و تشخیص همولیز بتا در آن از خون انسان بسیار زیاد تر و بهتر است.

ضمناً در این مطالعه، مطابق روش های استاندارد، علاوه بر دیسک باسیتراسین، از مقاومت استرپتوکوک بتا همولیتیک نسبت به کوتریموکسازول نیز استفاده شد. در این مطالعه با توجه به مقاومت نسبی استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A در مقابل خشکی، نمونه ها توسط سوآپ استریل جمع آوری و در لوله های آزمایش در پیچ دار به آزمایشگاه میکروب شناسی منتقل و بلافاصله در محیط کشت

چنانچه از نتایج مطالعه مستفاد می شود بیش ترین مقاومت استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A به ترتیب نسبت به کوتریموکسازول (۹۲/۵٪) و کو آموکسی کلاو (۸۹/۵٪) دیده شد.

همه استرپتوکوک های جدا شده نسبت به پنی سیلین حساس و نسبت به آموکسی سیلین، نیمه حساس یا مقاوم هستند. در حالی که ۸۹٪ درصد استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A به دست آمده از حاملین نسبت به اریترومايسين حساسیت داشتند. وانکومايسين با ۶۱/۱ درصد و سفالوتین با ۵۹/۷ درصد حساسیت در رتبه بعدی قرار دارند.

بحث

بسیاری از انواع استرپتوکوک ها به عنوان بخشی از فلور طبیعی بدن انسان در سیستم تنفسی، گوارشی و ادراری-تناسلی جمع می شوند و بعضی از آن ها مولد بیماری های مهمی در انسان هستند. استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A مسئول فارنژیت استرپتوکوکی یکی از شایع ترین عفونت های باکتریایی در بچه های سن مدرسه (۵-۱۵ سالگی) و هم چنین نشانه مخاطره آمیز غیر چرکی تب رماتیسمی و گلو مرونفریت حاد می باشد (۶-۷).

از آنجا که مراکز اصلی تجمع این باکتری نازو فارنکس انسان می باشد تماس مستقیم و ذرات تنفسی مکانیسم معمول انتشار عفونت این باکتری محسوب می شود. میزان ناقلین حلقی بدون علامت استرپتوکوک گروه A با توجه به جوامع مختلف، شرایط آب و هوایی، میزان تراکم جمعیت در یک منطقه متغیر است، خوشبختانه خطر بروز تب رماتیسمی در افراد ناقل بدون علامت خیلی کم تر از افراد مبتلا به فارنژیت می باشد. تنها خطر آن این است که فرد به عنوان منبع بالقوه باعث انتشار عفونت در خانواده، محیط و یا مدرسه می گردد و سلامت دیگران را به خطر می اندازد. تعداد زیادی از مطالعات میزان ناقلین در کودکان را ۲۰-۱۵ درصد برآورد نموده اند، ولی مطالعات قبلی انجام شده در کشورمان (شرق تهران، خوزستان و اصفهان طی دو مرحله) میزان شیوع باکتری را به ترتیب حدود ۲/۲ درصد، ۲/۲ درصد، ۴ درصد و ۴/۸۶ درصد

این درحالی است که امروزه در نقاط مختلف دنیا الگوهای از مقاومت باکتری به پنی سیلین دیده شده است. به طوری که برخی گزارش های اخیر حدود ۲۰٪ بیماران درمان شده با دوره کامل پنی سیلین، کشت منفی پیدا نکرده اند (۱۷).

اریترومایسین

در مطالعه ای آینده نگر روی کودکان ۱۸-۳ ساله در آمریکا، کم تر از ۵٪ مقاومت به اریترومایسین گزارش شد (۱۷). مطالعه انجام شده توسط York و همکاران در سال ۱۹۹۹ در آمریکا نیز نشان داد که تنها ۹٪ سوش های به دست آمده از کودکان مبتلا به فارنژیت استرپتوکوکی نسبت به اریترومایسین مقاوم بوده اند (۲۲). در مطالعه Kaplan، مقاومت به اریترومایسین در عفونت های استرپتوکوکی کم تر از ۵٪ گزارش شده است (۲۳).

اگر چه مقاومت GABHS به اریترومایسین در اکثر کشورهای جهان پائین است اما در سال های اخیر محققان نسبت به برخی مقاومت های محلی به این دارو به علت استفاده بیش از حد آن هشدار داده اند (۱۷). به طوری که در سال های اخیر میزان مقاومت به این آنتی بیوتیک در فنلاند ۲۲/۴٪، لهستان ۲۳/۵٪، یونان ۳۸/۵٪، اسپانیا ۴۸/۳٪ و تایوان ۵۳/۳٪ گزارش شده است (۲۴).

لذا اکثر محققین اریترومایسین را بهترین داروی جایگزین در موارد حساسیت به پنی سیلین می دانند. که مطالعه ما هم با تعیین میزان ۸۹٪ حساسیت نسبت به اریترومایسین، موید نظرات فوق بوده و در صورت بروز علائم مقاومت باکتری و یا حساسیت بیمار به پنی سیلین این آنتی بیوتیک می تواند مناسب ترین داروی جایگزین برای درمان عفونت های ناشی از استرپتوکوک های بتا همولیتیک گروه A در حفره دهانی باشد.

آموکسی سیلین

بررسی ها نشان می دهد در سال های اخیر در سطح جهان، آموکسی سیلین کم تر علیه GABHS مورد استفاده قرار می گیرد و در گذشته نیز مقاومت های دارویی زیادی از این دارو گزارش شده است. به طور مثال در مطالعه ای توسط Cengiz و همکاران در سال ۱۹۸۹ در ترکیه ۱۷٪ مقاومت باکتری به آموکسی سیلین گزارش شد (۱۹). در مطالعه حاضر نیز با ۸۸٪ مقاومت همه سوش ها نسبت به

اختصاصی و هم چنین محیط آگار خون دار حاوی ۵ درصد خون دفیبرینه گوسفندی به صورت ایزوله کشت داده شدند. این در حالی است که در سایر مطالعات داخلی از محیط حمل بدون ذکر نوع آن استفاده شده که ممکن است اثرات بازدارنده در رشد باکتری مورد نظر یا تقویت رشد سایر سویه ها داشته باشد. با توجه به اینکه تراکم جمعیت با میزان ناقلین مرتبط است، نتایج بیان گر شیوع بسیار بیش تر ناقلین باکتری در جمعیت دانش آموزی منطقه است.

مقایسه مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به سایر مطالعات

نشان می دهد در این مطالعه ۱۰۰٪ نمونه های جدا شده در مقابل پنی سیلین حساس بودند این در حالی است که مقاومت به پنی سیلین در استرپتوکوک ها از سال ۱۹۷۰ گزارش شده که بر اساس برخی مطالعات در سال های اخیر نیز افزایش یافته است (۱۳).

مطالعات انجام شده در یونان، اسپانیا و کویت میزان مقاومت استرپتوکوک های بتا همولیتیک گروه A جدا شده نسبت به پنی سیلین را به ترتیب ۷/۵٪، ۱۳/۸٪ و ۷/۵٪ گزارش کردند، (۱۴-۱۵-۱۶) که نسبت به مطالعه ما میزان مقاومت نسبت به پنی سیلین بسیار بیش تر می باشد.

امروزه در اکثر نقاط دنیا درمان انتخابی فارنژیت های ناشی از استرپتوکوک های بتا همولیتیک گروه A، دوره ۱۰ روزه ی پنی سیلین V خوراکی یا یک دوز تزریقی داخل عضلانی پنی سیلین G بنزاتین می دانند (۱۷-۱۸). در مطالعه ای که در سال ۱۹۸۹ توسط Cengiz و همکارانش در ترکیه انجام گرفته، حساسیت استرپتوکوک های بتا همولیتیک گروه A نسبت به پنی سیلین G، ۷۶٪ گزارش شد (۱۹).

در مطالعه ای در کشور آلمان در سال ۲۰۰۴ توسط Scholz انجام گرفت، ۹۳٪ موفقیت بالینی در درمان تونسیلوفارنژیت ناشی از GABHS با پنی سیلین V گزارش شد (۲۰). در مطالعه ای که توسط Gordon انجام گرفت، استرپتوکوک های بتا همولیتیک جدا شده از بیماران را به میزان ۹۹٪ حساس به پنی سیلین یافت (۲۱).

درکل تحقیق حاضر نشان می دهد که ۱۰۰٪ سوش های جدا شده نسبت به پنی سیلین حساس هستند و پنی سیلین کماکان در این منطقه تاثیر قابل قبولی بر این باکتری دارد.

GABHS، به سفالوتین ۰/۵۹٪، سفالکسین ۰/۴۰٪، سفازولین ۰/۳۷٪ و سفیکسیم ۰/۲۶٪ تعیین شد که هم به علت پائین بودن میزان حساسیت و هم گران بودن این دارو ها نسبت به پنی سیلین، هنوز هم استفاده از پنی سیلین در خط اول درمان فارنژیت های استرپتوکوکی معقول به نظر می رسد. حتی با توجه به نتایج به دست آمده در منطقه مورد مطالعه در موارد حساسیت بیمار نسبت به پنی سیلین نیز، اریترومايسين بهتر از سفالوسپورین ها خواهد بود.

سایر آنتی بیوتیک ها

همانند دیگر مطالعات نتایج نشان می دهد که مقاومت دارویی استرپتوکوک بتاهمولیتیک گروه A، نسبت به توبرامايسين، آمپی سی سیلین، آموکسی سیلین، کوتریموکسازول، کلوزاسیلین، جنتامیسین، سفالکسین، سفیکسیم و کو آموکسی کلاو در جامعه مورد مطالعه رو به افزایش است.

اگر چه در این مطالعه سعی شد تا از تمامی نقاط حلق نمونه برداری انجام گیرد، با این وجود ممکن است موارد منفی کاذب وجود داشته باشند. آزمون های آنتی بیوگرام تنها از یک شرکت بوده، لذا پیشنهاد می شود از دیسک های شرکت های دیگری که تولید کننده محصولات دارویی خصوصاً آنتی بیوتیک ها هستند، نیز استفاده شود. اگر چه آنتی بیوگرام روش مرسوم برای تعیین حساسیت دارویی می باشد ولی استفاده از روش های دیگر مانند روش رقت لوله ای نیز با میزان حساسیت و ویژگی متفاوت توصیه می شود.

نتایج این مطالعه نشان دهنده فراوانی بالا و قابل ملاحظه حاملین GABHS، می باشد که با سایر مطالعات همخوانی دارد. فراوانی ۰/۲۲٪ ناقلین در این مطالعه اگر چه می تواند ناشی از عوامل مختلف آب و هوایی، زمان و جمعیت خاص مورد مطالعه باشد. اما چون این فراوانی در مطالعات دیگر نیز مشاهده شده، وجود عوامل مهم تری را گوش زد می کند.

آموکسی سیلین مقاوم یا نیمه حساس بودند که نشان می دهد، مصرف بیش از حد این آنتی بیوتیک در جامعه مورد مطالعه، زمینه ساز ایجاد مقاومت دارویی شده است، در نتیجه آموکسی سیلین نمی تواند انتخاب مناسبی در درمان فارنژیت ناشی از استرپتوکوک بتاهمولیتیک گروه A باشد.

کلیندامایسین

در این مطالعه از میان استرپتوکوک های بتا همولیتیک گروه A جدا شده، ۰/۲۶ درصد به کلیندامایسین حساسیت نسبی نشان دادند که در صورت عدم دقت لازم در تجویز این دارو و مصرف خود سرانه آن ممکن است سبب به وجود آمدن سویه های مقاوم شود.

وانکومايسين

در این مطالعه میزان مقاومت به وانکومايسين ۰/۲۲٪ است در حالی که در بسیاری از مطالعات این میزان صفر گزارش شده است.

کوتریماکسازول

در این مطالعه میزان مقاومت به کوتریماکسازول ۰/۹۲ درصد به دست آمد که بالا ترین میزان مقاومت در بین آنتی بیوتیک های انتخاب شده در مطالعه ما می باشد که تفاوت زیادی نسبت به نتایج سایر مطالعات دارد. این مقاومت زیاد نسبت به کوتریماکسازول نشان از مصرف زیاد این دارو در جامعه مورد مطالعه دارد که بایستی دقت بیش تری در تجویز و مصرف این دارو صورت گیرد.

سفالوسپورین ها

در مطالعه jerath در سال ۲۰۰۷ در دهلی نو بر روی سفالوسپورین های خوراکی، سه داروی سفپروزیل، سفیکسیم، و سفاکلور اثر یکسان و قابل قبولی بر GABHS داشتند (۲۵). در بررسی دیگری در کشور آلمان در سال ۲۰۰۴ توسط Scholz، ۰/۹۸٪ موفقیت بالینی در درمان تونسیلوفارنژیت ناشی از GABHS با سفالوسپورین خوراکی دیگری به نام سفوروکسیم آگزیتیل گزارش شد (۲۶). البته لازم به ذکر است که ندرتاً مقاومت هایی از باکتری به سفالوسپورین ها نیز تا کنون در برخی مناطق جهان گزارش شده اند. به عنوان مثال در مطالعه ای در سال ۱۹۸۹ در ترکیه حساسیت به سفالکسین ۰/۷۸٪ گزارش شد (۱۹). در تحقیق حاضر میزان حساسیت

نتیجه گیری

شناسایی دقیق تر حاملین حلقی سالم GABHS به عنوان عوامل بالقوه ی انتشار عفونت در جامعه و نیز موارد فارنژیت و مقاومت دارویی آن ها در همه نقاط کشور ضروری به نظر می رسد. چرا که دانش ما در الگو های حساسیت این باکتری ها در یک ناحیه جغرافیایی به مصرف صحیح و معقول آنتی بیوتیک ها کمک خواهد کرد. به طور کلی مقادیر مقاومت دارویی به دارو هایی غیر از پنی سیلین، در مطالعه ما آمار نسبتاً بالاتری را نسبت به سایر مطالعات نشان می دهد که نشان دهنده مصرف و تجویز زیاد این دارو در منطقه می باشد. برای جلوگیری از افزایش بیش تر مقاومت دارویی، علاوه بر افزایش سطح آگاهی جامعه برای اجتناب از مصرف بی رویه آنتی بیوتیک، می بایست در تجویز آنتی بیوتیک ها دقت و احتیاط بیش تری صورت گیرد.

با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه، پیشنهاد می شود به دلیل حساسیت پائین این میکروارگانیسم ها به آمپی سیلین ۲/۹٪ و کوتریموکسازول ۵/۹٪ و کو آموکسی کلاو ۷/۴٪ از این سه دارو استفاده نشود. فلذا کماکان می توان از پنی سیلین به عنوان خط اول درمان فارنژیت های استرپتوکوکی در بیماران منطقه آزاد ارس استفاده نمود. و در موارد حساسیت بیمار به پنی سیلین بهترین داروی جایگزین اریترومایسین می باشد که تاثیر بسیار خوبی بر این باکتری دارد. هم چنین به علت مقاومت بیش تر این باکتری به آموکسی سیلین، می بایست در درمان فارنژیت- های استرپتوکوکی این منطقه تا حد ممکن از این دارو استفاده نشود.

فهرست منابع:

1. Jawets A, Melnick B, Adelberg M. 2007, *Medical microbiology*, 24th ed, New York, McGraw- Hill, pp: 51-59

2- Kliegman RM, Behrman RE, Hal BJ, Stanton BF. 2007, *Nelson textbook of pediatrics*, 18th ed. Philadelphia, WB. Saunders, pp: 1135-9

پیشنهادات

از آنجا که هر چه میزان ناقلین در منطقه بیش تر باشد به علت انتشار مکرر در پاساژ های متعدد در سطح جامعه امکان کشندگی این باکتری و بروز عوارض چرکی و غیر چرکی آن را تشدید کرده و هم چنین با توجه به نتایج حاصله و مقایسه آن با سایر مطالعات داخل و خارج از کشور، ادامه مطالعات مشابه با اهداف پیشنهادی به شرح ذیل توصیه می شود:

- ۱- مطالعات تکمیلی بعدی با افق چشم انداز طرح ملی پیش گیری از تب روماتیسمی.
- ۲- تعیین سروتیپ های مختلف استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A.
- ۳- طراحی واکسن موثر و مناسب بومی ویژه هر منطقه.
- ۴- بررسی ارتباط نوع سروتیپ های موجود با میزان مقاومت و عفونت زایی باکتری در منطقه.
- ۵- شناسایی دقیق تر ناقلین و نیز موارد فارنژیت و مقاومت دارویی آن ها در مناطق با شیوع بالا.

قدردانی:

در پایان از راهنمایی ها و مشورت های ارزنده اساتید ارجمندم دکتر مودب و دکتر رفیع تشکر و قدردانی می نمایم. همچنین از کارشناسان آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی تبریز شعبه پردیس بین المللی ارس که در امور آزمایشگاهی یاریم نمودند، سپاسگذارم.

- 3- Ralph D, Feigin JD, Gail CJ, Sheldon DL. 2004, *Kaplan textbook of pediatric infectious diseases*, 5th ed, Philadelphia, WB. Saunders, pp: 1142-51.
- 4- Bisno AL, De Rijn EV. *Classification of Streptococci*, Mandell GL, Benetts JE, Dolin R (editors). *Principle and Practice of Infectious Disease*. New York, Churchill Livingstone, 2000, 5th ed, pp: 2100 - 127.
- 5- Mandell. *Douglas and Bennetts Principles and practice of infectious*, Churchill livingstone, 2000, Fifth edition, 4, pp: 2100-2127
- 6- Duerden BJ. 1998, *Toply & Wilsons microbiology & Microbial infection*, Pub by amold, pp: 633-653
- 7- Falck G. *Outbreak of group A streptococcal infection in adaycoke center*, Dis, 1992, 11, pp: 914-9
- ۸- سلطان زاده محمد حسین. بررسی شیوع استرپتوکوک کاربرد در مدارس شرق تهران در سال ۱۳۷۲-۷۳، مجله طب و تزکیه، پائیز ۱۳۷۸، شماره ۳۴، صفحات ۴۶-۴۲.
- ۹- فرج زاده شیخ احمد، بررسی میزان شیوع حاملین بدون علامت استرپتوکوک گروه A در کودکان ۱۵-۵ ساله بعضی از شهرستان های استان خوزستان، هشتمین کنگره بیماریهای عفونی و گرمسیری ایران، ۲۶ لغایت ۳۰ دیماه ۱۳۷۸، تهران، صفحه ۱۵۴
- ۱۰- توکلی اکبر، ایرجیان غلامرضا. فرشاد شهره، فراوانی ناقلین استرپتوکوکوس بیورژن در دانش آموزان دختر و پسر تعدادی از مدارس ناحیه ۳ آموزش و پرورش اصفهان، مجله دانشکده پزشکی اصفهان، سال ۱۶، شماره ۵۰، بهار ۱۳۷۷، صفحات ۴۰-۳۳
- ۱۱- قائمی، عزت اله. میزان شیوع ناقلین استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A در کودکان سالم دبستانی شهرستان گرگان، مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان، ۱۳۷۹، دوره ۲، شماره ۶، ص ۵۵ تا ۶۱.
- 12- Begovac J, Bobinac E, Benic B, Desnica B, Maretic T, Basnec A, et al, 1993, *Asymptomatic pharyngeal carriage of beta-hemolytic streptococci and streptococcal pharyngitis among patients at an urban hospital in Croatia*. Eur J Epidemiol, Vol. 9, No. 4, PP.405-410.
- 13- Diaz-Mejia JJ, Carbajal-Saucedo A, Amabile-Cuevas CF. Antibiotic resistance in oral commensal streptococci from healthy Mexicans and Cubans: resistance prevalence does not mirror antibiotic usage. FEMS Microbiol Lett 2002; 217(2): 173-176.
14. Aracil B, Minambres M, Oteo J, et al. High prevalence of Erythromycin resistant and clindamycin-susceptible (M phenotype) viridans group streptococci from pharyngeal samples: A reservoir of mef genes in commensal bacteria. J Antimicrob Chemother 2001; 48(4): 592-594.
15. Ioannidou S, Tassios PT, Kotsovil-Tseleni A, et al. Antibiotic resistance rates and macrolide resistance phenotypes of viridans group streptococci from the oropharynx of healthy Greek children. Int J Antimicrob Agents 2001; 17(3): 195-201.
- 16- Rotimi VO, Salako NO, Mokaddas E, et al. High frequency of isolation of antibiotic-resistant oral viridians streptococci from children in Kuwait. J Chemother 2005; 17(5): 493-501.
- 17- Kliegman RM, Behrman RE, Hal BJ, Stanton BF. 2007, *Nelson textbook of pediatrics*, Philadelphia WB Saunders, 11(9): 1135-39.
- 18- Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. *Principles and practice of infectious diseases*, Philadelphia Churchill Livingstone, 2005, 11(5): 2360-92.
- 19- Cengiz AT, Kiyani M, Ciftcioglu N. *Antibiotic susceptibility of group A beta hemolytic Streptococcus*, Mikrobiyol Bul, 1989, 23(2): 163-173.
- 20- Scholz H. *Streptococcal-A tonsillopharyngitis: A 5-day course of cefuroxime axetil versus a 10-day course of penicillin V*, results depending on the children's age Chemother, 2004, 50(1): 61-68.
- 21- Gordon KA, Beach ML, Biedenbach DJ, Jones RN, Rhomberg PR, Mutnick AH. *Antimicrobial susceptibility patterns of beta-hemolytic and viridans group streptococci: Report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (1997-2000)*, Diagn Microbiol, 2002, 43(2): 157-162.
- 22- York MK, Gibbs L, Oerdrean Remington F, Brooks GF. *Characterization of antimicrobial resistance in streptococcus pyogenes isolates from the San Francisco*

23- Kaplan EL. *Recent evaluation of antimicrobial resistance in beta-hemolytic streptococci*, Clin Infect Dis, 1997, 24(1): 89-92.

۲۴. برجی، اباصلت. مقاومت دارویی استرپتوکوک های ویروئیدانس جدا شده از کودکان سالم ۱۲-۳ ساله، مجله تحقیقات علوم پزشکی زاهدان، ۱۳۸۸، دوره ۱۲، شماره ۴، ص ۲۸ تا ۳۲.

25- Jerath N, Shetty G. *Redefining the management of pediatric tonsillopharyngitis with cefprozil*, Indian J Pediatr, 2007, 74(12): 1105-08.

26- Scholz H. *Streptococcal-A tonsillopharyngitis: A 5-day course of cefuroxime axetil versus a 10-day course of penicillin V. results depending on the children's age*. Chemother 2004; 50(1): 51-4.

Archive of SID