مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره پانزدهم، شمارهٔ ۱، دی ۱۳۹۱، صفحه ۸۳-۷۹

تعیین مقاومت دارویی سویه های کمپیلوباکتر ژژونی جدا شده از کودکان مبتلا به اسهال

محمدحسن شیرازی(PhD)[*۱]، زیبا ویسی ملکشاهی(MSc)[۲]، داود افشار(PhD)[۱]، رضا رنجبر(PhD)[۳]، سارا حاجی خانی(BSc)[۱]

۱- گروه میکروب شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲- گروه زیست شناسی دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد
۳- مرکز تحقیقات بیولوژی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله تهران

دریافت: ۹۰/۱۲/۲۲، اصلاح: ۹۱/۴/۱۴، پذیرش: ۹۱/۶/۸

خلاصه

سابقه و هدف: کمپیلوباکترژژونی به عنوان یکی از عوامل ایجاد کننده اسهال حاد در انسان مطرح می باشد. با توجه به اینکه اطلاعات دقیقی از میزان شیوع و مقاومت آنتی بیوتیکی این باکتری در ایران وجود ندارد، این مطالعه به منظور بررسی فراوانی و مقاومت دارویی سویه های کمپیلوباکتر ژژونی جدا شده در کودکان زیر ۱۰ سال مبتلا به اسهال حاد مراجعه کننده به چند مرکز درمانی شهر تهران صورت گرفت.

مواد و روشها: این مطالعه مقطعی بر روی ۱۱۷ نمونه اسهالی چند مرکز درمانی شهر تهران در سال ۱۳۹۰ انجام گرفت. نمونه های مدفوع در سرم فیزیولوژی هموژنیزه و در محیط مایع غنی کننده پرستون کشت داده شدند، سپس در محیط کشت اختصاصی کمپیلوباکتر ژژونی به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد تحت شرایط میکروآئروفیل قرار گرفتند و ایزوله های جدا شده بوسیله تست های بیوشیمیایی مورد تایید قرار گرفتند. برای آنتی بیوگرام از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد.

یافته ها: از ۱۱۷ نمونه مورد بررسی، ۹ نمونه (۷/۶۹٪) کمپیلوباکتر ژژونی مثبت بودند. بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی مربوط به کوتریموکسازول ۵ مورد (۵۵/۵۵٪) و بیشترین حساسیت آنتی بیوتیکی مربوط به جنتامایسین ۸ مورد (۸۸/۸۸٪) می باشد.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که گونه کمپیلوباکترژژونی یکی از عوامل ایجاد کننده اسهال حاد در کودکان می باشد که بیشترین مقاومت دارویی را به کوتریماکسازول دارد.

واژه های کلیدی: کمپیلوباکترژژونی، مقاومت دارویی، اسهال.

مقدمه

اسهال یکی از شایع ترین بیماری ها در کودکان در کشورهای در حال توسعه می باشد. بیماریهای ناشی از اسهال سالانه باعث مرگ و میر زیادی در انسان می شوند که در این بین کمپیلوباکتر ژژونی یکی از عوامل مهم ایجاد کننده اسهال می باشد. کمپیلوباکترژژونی باکتری گرم منفی، میله ای شکل، میکروآئروفیل، متحرک و خمیده می باشد (۲و۱). این باکتری به میزان فراوان در مدفوع حیوانات بویژه مرغ وجود داشته و مصرف گوشت مرغ و بوقلمون آلوده و نیم پز، شیر خام و آب آلوده منجر به عفونت کمپیلوباکترژژونی می شوند (۳). این باکتری اغلب کودکان سنین ۵-۲ سال کشورهای توسعه یافته را درگیر می کند ولی در کشورهای در حال توسعه عفونت هم در بچه ها و هم در بزرگسالان حائز اهمیت می باشد (۴). با اینکه بیماری ناشی از این باکتری معمولا خود محدود شونده است ولی در بعضی مواقع، بیماری تهدید کننده حیات می باشد (۶و۵). در برخی مواقع به دنبال اسهال ناشی از این باکتری بعضی از بیماران مبتلا به سندرم گیلن باره می گردند (۷). لذا درمان صحیح آنتی بیوتیکی در اسهال های ناشی از کمپیلوباکتر ژژونی منطقی است. با توجه به این نکته تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی نیز ضروری به نظر می رسد. از وضعیت شیوع و مقاومت آنتی بیوتیکی این باکتری در ایران داده های دقیق وجود ندارد. نظر به شیوع بالای اسهال کمپیلوباکترژژونی در مناطق مختلف جهان و اینکه اخیرا مقاومت به اریترومایسین (آنتی بیوتیک انتخابی جهت درمان اسهال ناشی از کمپیلوباکتر ژژونی) در اکثر موارد عفونتهای مرتبط با کمپیلوباکتر ژژونی گزارش شده است (۸)، در این مطالعه با استفاده از کشت و بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی میزان شیوع و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی کمپیلوباکترژژونی جدا شده از کودکان مبتلا به اسهال در چند مرکز درمانی شهر تهران مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

این مطالعه مقطعی بر روی ۱۱۷ نمونه مدفوعی مربوط به بیماران زیر ۱۰ سال که با اسهال حاد به مراکز بهداشتی درمانی تحت پوشش دانشگاه علوم

[*] مسئول مقاله:
آدرس: تهران، میدان انقلاب، خیابان قدس، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تلفن: ۸۸۹۵۳۰۲۱-۰۲۱
e-mail: mhshirazi@tums.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.1.27.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.1.79]

پزشکی تهران در سال ۱۳۹۰ مراجعه کرده بودند، انجام شد. نمونه های دریافتی هر روز، بلافاصله تحت شرایط مناسب به آزمایشگاه کمپیلوباکتر گروه پاتوبیولوژی در دانشکده بهداشت منتقل گردید. نمونه های مدفوع اخذ شده از هر بیمار در سرم فیزیولوژی یا بافر فسفات (PBS) هموژنیزه شدند. میزان ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه های هموژنیزه شده به محیط کشت Preston enrichment broth حاوی مکمل آنتی بیوتیکی منتقل و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد تحت شرایط میکروائروفیل(گازپک نوع C) انکوبه گردیدند. جهت جداسازی کمپیلوباکتر میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محیط رشد یافته Preston enrichment broth در محیط کشت اختصاصی کمپیلوباکتر Blood (Free Campylobacter Agar Base) کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد تحت شرایط میکروائروفیل انکوبه گردید (۹). بر روی کلنی های رشد کرده رنگ آمیزی گرم و تست های بیو شیمیایی کاتالاز، اکسیداز، تخمیرقندها، احیا نیترات و تست هیدرولیز هیپورات انجام شد. تست های حساسیت آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفوزیون با سوسپانسیونی برابر ۰/۵ مک فارلند از سویه های کمپیلوباکترژژونی انجام شد. برای انجام تست، دیسک های آنتی بیوتیک تتراسیکلین، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، اریترومایسین و کوتریموکسازول مورد استفاده قرار گرفت (۱۰). برای قرائت نتایج بوسیله خط کش، قطر دقیق منطقه ممانعت از رشد در اطراف هر دیسک اندازه گیری و ثبت شد. در نهایت با توجه به قطر منطقه ممانعت، حساسیت یا مقاومت باکتری به آنتی بیوتیک های مورد نظر مشخص گردید. از سویه استاندارد باکتری اشرشیاکلی ATCC25922 جهت انجام آنتی بیوگرام به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

یافته ها

در این بررسی ۱۱۷ نمونه مدفوع کودکان مبتلا به اسهال طی یک سال مورد آزمایش کشت میکروبی قرار گرفت. از این تعداد بیماران، ۴۸ نفر دختر و ۶۹ نفر پسر بودند. ۹ مورد از نظر کمپیلوباکتر ژژونی مثبت بودند که ۴ دختر و ۵ پسر بودند. مابقی نمونه ها از مطالعه حذف شدند. بیشترین مبتلایان به اسهال در گروه سنی زیر ۴ تا ۶ سال قرار داشتند (جدول ۱).

بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی مربوط به کوتریموکسازول و بیشترین حساسیت آنتی بیوتیکی مربوط به جنتامایسین بود. در مرتبه دوم بیشترین نوع حساسیت آنتی بیوتیکی مربوط به اریترومایسین و سیپروفلوکساسین و بیشترین نوع مقاومت آنتی بیوتیکی مربوط به تتراسیکلین مشاهده شد. در این بررسی هیچ سویه مقاوم به جنتامایسین وجود نداشت (جدول ۲).

جدول ۱: توزیع سنی نمونه ها و موارد مثبت کمپیلوباکتر ژژونی

گروه سنی	تعداد نمونه (درصد)	موارد مثبت (درصد)
۰-۳ سال	۵۷	۳
۴-۶ سال	۳۸	۵
۷-۱۰ سال	۲۲	۱
جمع	۱۱۷	۹

جدول۲: درصد و حساسیت کمپیلوباکترژژونی جدا شده نسبت به دیسکهای آنتی بیوتیکی مختلف

نام آنتی بیوتیک	وضعیت	تعداد (٪)
تتراسیکلین	حساس	۶(٪۶۶/۶۶)
	حد متوسط	۰
	مقاوم	۳(٪۳۳/۳۳)
سیپروفلوکساسین	حساس	۷(٪۷۷/۷۷)
	حد متوسط	۱(٪۱۱/۱۱)
	مقاوم	۱(٪۱۱/۱۱)
جنتامایسین	حساس	۸(٪۸۸/۸۸)
	حد متوسط	۱(٪۱۱/۱۱)
	مقاوم	۰
اریترومایسین	حساس	۷(٪۷۷/۷۷)
	حد متوسط	۰
	مقاوم	۲(٪۲۲/۲۲)
کوتریموکسازول	حساس	۴(٪۴۴/۴۴)
	حد متوسط	۰
	مقاوم	۵(٪۵۵/۵۵)

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه از ۱۱۷ نمونه مدفوع بیماران مبتلا به اسهال حاد، ۹ مورد (٪۷/۶۹) کمپیلوباکتر ژژونی جدا گردید. Modares و همکاران تعداد موارد مثبت نمونه های مورد بررسی از نظر کمپیلوباکتر ژژونی را ۱/۹درصد گزارش کردند (۱۱). Rashed و همکاران نتایج مشابه بوده و میزان شیوع را ۱/۲ درصد ذکر کرده اند (۱۲). در حالی که Bokaeyan و همکاران میزان شیوع را در زاهدان ۴/۵ درصد گزارش کردند (۱۳). در مطالعه Noroaui و همکاران میزان شیوع کمپیلوباکتر ژژونی ٪۴/۶ گزارش شده است (۱۴). در مطالعه ما موارد ناشی از اسهال کمپیلوباکتر ٪۷/۶۹ گزارش شد. علت این تفاوت ها شاید به ماهیت حساس و سخت رشد بودن کمپیلوباکتر ژژونی و نحوه نمونه برداری مرتبط باشد. Samie و همکاران با مطالعه خود بر روی ۳۲۲ نمونه مدفوعی بیماران نشان دادند که گونه های کمپیلوباکتر شایع ترین علت عفونت های کمپیلوباکتریایی در انسان (٪۱۰/۲ کمپیلوباکتر ژژونی، ٪۶/۵ کمپیلوباکتر کولی و ٪۳/۱ کمپیلوباکتر آپسالانسیس) هستند (۱۵). در تحقیق حاضر بیشترین مقاومت مربوط به کوتریموکسازول و بیشترین حساسیت مربوط به جنتامایسین بود. در مطالعه Jazayeri و همکاران، همانند نتایج ما مشاهده شد که بیشترین حساسیت مربوط به جنتامایسین و بیشترین مقاومت مربوط به کوتریموکسازول بود (۱۶). در تحقیقی که توسط Feizabadi و همکاران بر روی کودکان مبتلا به اسهال انجام شد، مشاهده گردید که بیشترین مقاومت مربوط به سفالکسین و بیشترین حساسیت مربوط به جنتامایسین است (۱۷). Lehtopolku و همکاران در فنلاند بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی را نسبت به سیپروفلوکساسین (٪۴۲/۴) و کمترین مقاومت آنتی بیوتیکی را نسبت به جنتامایسین (٪۰/۹) گزارش کردند (۱۸). مطالعه ای که توسط Serichantalergs و همکارانش انجام گرفت،

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.1.27.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.1.79]

نشان دادند که بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی مربوط به سیپروفلوکساسین (۹۱/۳٪) و کمترین مقاومت مربوط به جنتامایسین (۰٪) می باشد (۱۹). در تحقیق Boonmar و همکاران نسبت به سیپروفلوکساسین و جنتامایسین اصلا مقاومت آنتی بیوتیکی وجود نداشت (۲۰). وجود مقاومت به سیپروفلوکساسین امروزه به دلیل مصرف نادرست و نامنظم آنتی بیوتیک می باشد. مقاومت بالا به تتراسایکلین بدنبال مصرف این آنتی بیوتیک در طیور اتفاق می افتد. درمان موارد عفونت های ناشی از کمپیلوباکتر مقاوم زیان های اقتصادی شدیدی را به دنبال خواهد داشت چون استفاده مکرر و مداوم از آنتی بیوتیک های معمولی که مواردی از مقاومت در آنها دیده شده است باعث انتخاب ارگانیسم مقاوم و گسترش این ارگانیسم در افراد جوامع می گردد. بنابراین پی بردن به میزان مقاوم شدن سویه ها می تواند به انتخاب آنتی بیوتیک دیگری جهت جایگزین کردن در درمان کمک کننده باشد.

بنابراین با توجه به افزایش میزان جداسازی کمپیلوباکتر ژژونی در این تحقیق نسبت به تحقیق های ذکر شده به نظر می رسد رعایت بهداشت و استفاده از آب و غذای بهداشتی ضروری باشد.

همچنین با توجه افزایش مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ها در این بررسی و بررسی های مشابه باید از مصرف خودسرانه آنتی بیوتیک ها خودداری گردد. نتایج بدست آمده در مورد ارتباط سن با عفونت ناشی از کمپیلوباکترژژونی نشان داد که شیوع عفونت به این باکتری در کودکان مورد بررسی ۷/۶۹درصد می باشد. همچنین نتایج تحقیق نشان داد که کمپیلوباکتر ژژونی یکی از عوامل مهم عفونت های گوارشی در کودکان زیر ۱۰ سال می باشد و بیشترین مقاومت دارویی را به کوتریموکسازول دارد. رابطه ای بین سن و شیوع بیماری در افراد مبتلا به اسهال کمپیلوباکتریایی وجود دارد، بیشترین درصد نتایج کشت مثبت در مطالعه ما مربوط به کودکان ۴ تا ۶ ساله بود. بنابراین بنظر می رسد. این باکتری نقش چندانی در سنین بالاتر ندارد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از کلیه همکارانی که در انجام این تحقیق ما را یـاری نمودنـد صمیمانه تقدیر و تشکر می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.1.27.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.1.79]

Drug Resistance among Campylobacter Jejuni Strain Isolated from Children with Diarrhea

M.H. Shirazi (PhD)[*1], Z. Vaise Malekshahi (MSc)[2], D. Afshar (MSc)[1], R. Ranjbar (PhD)[3], S. Hajikhani (BSc)[1]

1. Department of Microbiology, Faculty of Health Science, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Department of Biology, Faculty of Basics Sciences, Shad University, Tehran, Iran
3. Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

J Babol Univ Med Sci; 15(1); Jan 2013; PP: 79-83
Received: Mar 12th 2012, Revised: Jul 4th 2012, Accepted: Aug 29th 2012.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Campylobacter jejuni is a common cause of acute diarrhea in humans. As regards there is not exact information about the prevalence and antibiotic resistance of this bacterium in Iran, this study was undertaken to determine the prevalence and antibiotic resistance in campylobacter jejuni strains isolated from 10 years old children admitted to diarrhea in several medical centers in Tehran.

METHODS: This cross-sectional study included 117 diarrheal samples collected from several medical centers in Tehran in 2011. Stool samples were homogenized and cultured in Preston enrichment broth, then were subcultured in Campylobacter specific medium under microaerophilic condition in 42 ˚C for 48h. The isolates were identified by biochemical tests. Antibiograms were performed by the disc diffusion method.

FINDINGS: From 117 samples tested, 9 samples (7.69%) were positive for campylobacter jejuni. Maximum resistance and sensitivity were observed in the cotrimoxazole (5 cases, 55.55%) and gentamicin (8cases, 88.88%) respectively.

CONCLUSION: The results of study showed that Campylobacter jejuni is one of the important causes of diarrhoea in children less than 10 years of age and the most resistance of antibiotics was to cotrimoxazole.

KEY WORDS: *Campylobacter jejuni, Erythromycin resistance, Diarrhea,*

[*] **Corresponding Author;**
Address: Department of Microbiology, Faculty of Health Science, Tehran Medical University, Qods St., Enqelab Sq., Iran
Tel: +98 21 88953021
E-mail: mhshirazi@tums.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.1.27.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.1.79]

References

1.Lindmark H, Harbom B, Thebo L, et al. Genetic characterization and antibiotic resistance of campylobacter jejuni isolated from meats, water, humans in Sweden. J Clin Microbiol 2004;42(2):700-6.

2.Sallam KI. Prevalence of Campylobacter in chicken and chicken by-products retailed in Sapporo area, Hokkaido, Japan. Food Control 2007;18(9):1113-20.

3.Mshana SE, Joloba M, Kakooza A, Kaddu-Mulindwa D. Campylobacter spp among children with acute diarrhea attending Mulago hospital in Kampala--Uganda. Afr Health Sci 2009;9(3):201-5.

4.Li X, Swaggerty CL, Kogut MH, et al. Systemic response to campylobacter jejuni infection by profiling gene transcription in the spleens of two genetic lines of chickens. Immunogenetics 2011;64(1):59-69.

5.Miljkovic Selimovic A, Ng LK, Price J, Kocic B, Babic T. Characterization of campylobacter jejuni and campylobacter coli strains isolated in the region of Nis, Serbia. Srp Arh Celok Lek 2010;138(11-12):721-5.

6.Rao MR, Naficy AB, Savarino SJ, et al. Pathogenicity and convalescent excretion of Campylobacter in rural Egyptian children. Am J Epidemiol 2001;154(2):166-73.

7.Bensch K, Tiralongo J, Schmidt K, et al. Investigations into the Antiadhesive Activity of Herbal Extracts Against Campylobacter jejuni. Phytother Res 2011;25(8):1125-32.

8.Altekruse SF, Stern NJ, Fields PI, Swerdlow DL. Campylobacter jejuni-an emerging foodborne pathogen. Emerg Infect Dis 1999;5(1):28-35.

9.Uysal G, Dogru V, Aysev D, Karabiber N. Campylobacter jejuni gastroentetitis in Turkish children. Infection 1997; 25(3):159-62.

10.Ono K, Yamamoto K. Contamination of meat with Campylobacter jejuni in Saitama, Japan. Int J Food Microbiology1999;47(3):211-19.

11.Modarres Sh. A survey of bacterial agents causing acute diarrhea in children under 5 years of age in Tehran. J Med Counc I R Iran 1999;3(17): 222-5. [in Persian]

12.Rashed T, Ghanaat J, Moshafi MH. The prevalence of campylobacter jejuni induced gastroenteritis in patients with diarrhea referring to Emam Reza hospital in Mashhad, Iran. J Kerman Univ Med Sci 1994;1(3):3 [in Persian]

13.Bokaeyan M, Dabir Zadeh M, Saffari M, and Nouri AR. Study of frequency of distribution Campylobacters associated withdiarrheal diseases in children. Tabin- e- Sharg, J Zahedan Uni Med Sci 1999;1(2):73-9. [in Persian]

14.Norouzi J, Savad Kouhi R, Rostam Kolaei A. Campylobacter Jejuni in children under 7 years old with acute enteritis. J Babol Univ Med Sci 2002;4(1):30-2. [in Persian]

15.Samie A, Obi CL, Barrett LJ, Powell SM, Guerrant RL. Prevalence of Campylobacter species, Helicobacter pylori and arcobacter species in stool samples from the Venda region, Limpopo, South Africa: studies using molecular diagnostic methods. J Infect 2007;54(8):558-66.

16.Jazayeri Moghadas A, Irajian G, Kalantari F, Monem M , Salehian A, Rahbar H, Aleboyeh F, Ghods F. Prevalence of Campylobacter jejuni in diarrheic children in Semnan (Iran). J Semnan Univ Med Sci 2008;9(4):297-300. [in Persian]

17.Feizabadi MM, Dolatabadi S, Zali MR. Isolation and drug resistant patterns of Camoylobacter strains cultured from diarrheic children in Tehran. Jpn J Infect Dis 2007;60(4):217-9. [in Persian]

18.Lehtopolku M, Nakari UM, Kotilainen P, Huovinen P, Siitonen A, Hakanen AJ. Antimicrobial susceptibilities of multidrug-resistant campylobacter jejuni and campylobacter coli strains: in vitro activities of 20 antimicrobial agents. Antimicrob Agents Chemother 2010;54(3):1232-6.

19.Serichantalergs O, Pootong P, Dalsgaard A, et al. PFGE, Lior serotype, and antimicrobial resistance patterns among Campylobacter jejuni isolated from travelers and US military personnel with acute diarrhea in Thailand, 1998-2003. Gut Pathog 2010;2(1):15.

20.Boonmar S, Morita Y, Fujita M, et al. Serotypes, antimicrobial susceptibility, and gyr A gene mutation of campylobacter jejuni isolates from human and chickens in Thiland. Microbiol Immunol 2007;51(5):531-7.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.1.27.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.1.79]