حساسیت آنتی بیوتیکی سویه های شیگلا جدا شده از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان میلاد و مرکز طبی کودکان در تهران

سید مصطفی حسینی[1*]، مجتبی سعادتی[2]، تقی زهرایی صالحی[3]، بهار نیری فسایی[4]، محمد دورودیان[5]، مهدی تات[6]

1. کارشناسی ارشد سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران
2. دکتری باکتری شناسی، دانشیار گروه علوم زیستی، دانشگاه جامع امام حسین (ع) ، تهران
3. دکتری میکروبیولوژی، استاد گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
4. دکتری میکروبیولوژی، استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران
5. کارشناسی ارشد سلولی و مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی، باشگاه پژوهشگران جوان، واحد تهران مرکز، تهران
6. کارشناسی ارشد سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات نانوبیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران

* **نشانی برای مکاتبه:** تهران، میدان ونک، خیابان ملاصدرا، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، پژوهشگاه، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی کاربردی،
تلفن: 021-88617712، Geneticman2005@gmail.com

دریافت مقاله: شهریور نود پذیرش برای چاپ: آبان نود

چکیده

سابقه و هدف: *شیگلا باکتری گرم منفی و عامل یکی از مسری ترین عفونت های باسیلی در جهان (شیگلوز) می باشد. ظهور سویه های مقاوم به چندین آنتی بیوتیک و نیز افزایش تعداد افراد مبتلا به این بیماری عفونی در برخی از نقاط جهان به ویژه در کشور های در حال توسعه ضرورت یک مطالعه پایشی را با هدف آگاهی از میزان شیوع بیماری شیگلوز، شناسایی سروار غالب از بین گونه های شیگلا و نیز اطلاع از الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی روشن می سازد.*

روش کار: *در مطالعه حاضر ۱۳۴ سویه شیگلا از نمونه های بیمارستانی میلاد و مرکز طبی کودکان (واقع در شهر تهران) که در طی سال های ۱۳۸۷ تا ۱۳۸۹ جداسازی شده بود جمع آوری شد. آزمایش های بیوشیمیایی و سرولوژیکی با هدف تشخیص گونه های شیگلا انجام گردید. آزمون تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی در مورد ۱۳ آنتی بیوتیک رایج با استفاده از روش انتشار دیسکی در محیط مولر آگار انجام شد.*

یافته ها: *نتایج آزمایش های بیوشیمیایی و سرولوژیکی حضور جنس شیگلا را در تمام نمونه های بیمارستانی تایید نمود. طبقه بندی که بر اساس سنجش سرولوژیکی صورت گرفت نشان داد تعداد ۷۸ سویه (۵۸/۲۰٪) شیگلا سونه ای، ۳۵ سویه (۲۶/۱۲٪) شیگلا فلکسنری، ۱۲ سویه (۹/۸٪) شیگلا بویدی و ۹ سویه (۶/۷۲ ٪) شیگلا دیسانتری می باشد. آزمون تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی نشان داد که سویه های جدا شده در برابر کوتروماکسازول، آمپی سیلین و تتراسایکلین به ترتیب با میزان ۷۳/۱۳٪، ۳۷/۳۱٪ و ۲۶/۱۱٪ بیشترین مقاومت را از خود نشان دادند. همچنین بالاترین میزان شیوع در فصل تابستان (۵۴/۲۳٪) و نیز در دامنه سنی بین ۲ تا ۱۲ سال با میزان ۵۲/۵۴٪ بوده است. به علاوه، تمام سویه ها نسبت به ۳ آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین، سفتازیدیم و سفتریاکسون کاملاً حساس بودند.*

نتیجه گیری: *شایع ترین گونه شیگلا در تحقیق حاضر سویه شیگلا سونه ای بود. الگوی تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی نشان داد که تجویز آنتی بیوتیک های کوتریماکسازول، آمپی سیلین و تتراسایکلین به صورت تجربی (empirical) توصیه نمی گردد. استفاده از نسل سوم سفالوسپورین ها و یا کینولون های جدید به عنوان خط اول درمان و بهترین درمان آنتی بیوتیکی انتخابی پیشنهاد می گردد.*

واژگان کلیدی: ***اسهال حاد باسیلی، شیگلوز ، حساسیت آنتی بیوتیکی، تهران***

مقدمه

اعضای جنس شیگلا باکتری های گرم منفی، بی هوازی اختیاری و متعلق به خانواده *انتروباکتریاسه* می باشند(۱). شیگلا از نظر ژنتیکی بسیار شبیه *اشریشیاکلی* است و گاهی از آن حتی به عنوان *اشریشیاکلی* بیماری زا یاد می شود(۲). جنس شیگلا شامل چهار گونه *دیسانتری*، *فلکسنری*، *سونه ای* و *بویدی* می باشد (۳). بیماری شیگلوز می رود که به عنوان یک مشکل عمده برای سلامت عمومی مطرح گردد. به طور سالانه، در حدود ۱۶۵ میلیون مورد از ابتلا به این بیماری در سراسر جهان گزارش می گردد که از این بین، تقریباً ۱۶۳ میلیون مورد، به کشور های در حال توسعه تعلق دارد(۳-۱). متاسفانه، پیش بینی می شود در حدود ۱/۱ میلیون نفر سالانه در اثر آلودگی به عفونت شیگلا از بین بروند که بخش قابل توجهی از این میزان در مناطقی روی می دهد که از وضع بهداشتی نامناسب و پایینی بر خوردارند(۱). شیگلوز با تظاهراتی شامل اسهال آبکی به همراه مقادیر مختلفی از مخاط و خون، درد، دل پیچه، تب، تهوع، سردرد و گرفتگی عضلات دیده می شود. عفونت شیگلا بیشتر از طریق آب و غذای آلوده منتقل می شود البته گزارش هایی نیز در مورد انتقال با حشرات وجود دارد. کودکان زیر ۵ سال و افرادی که به مناطق آلوده سفر می کنند بیشتر در معرض خطر هستند(۴).

این بیماری دارای قدرت انتشار بالا می باشد که در واقع به پایین بودن دوز عفونی آن (بین ۱۰ – ۱۰۰ باکتری زنده) نسبت داده می شود. شیگلوز به طور عمده در مناطق پرجمعیتی که از نظر مراعات اصول بهداشتی در وضع نامناسبی به سر می برند معمولاً از فراوانی بالاتری برخوردار است (۵). گونه های شیگلا فاقد آنتی ژن K و H بوده لذا طبقه بندی آنها تنها بر اساس ویژگی های ساختار زنجیره O موجود در لیپو پلی ساکارید (LPS) دیواره سلولی آنها می باشد. بیماری زایی سویه های شیگلا بر پایه چند رخ داد اساسی است که شامل اتصال و تهاجم به سلول های اپیتلیالی، گریز از فاگوزوم ها- القای آپوپتوز در ماکروفاژ ها و در نهایت تکثیر و انتشار در درون سلول های اپیتلیالی می باشد(۳). تا کنون مطالعات همه گیر شناسی متعددی در سراسر جهان به منظور ارزیابی شیوع و تنوع سروواری و نیز بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی گونه های شیگلا صورت گرفته است(۲۳-۲۱). سازمان بهداشت جهانی اخیراً بررسی دلایل عفونت به باکتری شیگلا و همچنین مطالعات اپیدمیولوژیک در کشور های در حال توسعه را در اولویت خود قرار داده است (۱). علی رغم چالش هایی که همچنان در بر خورد با شیگلا مواجه می باشیم اما هنوز جای امیدواری باقی است که بتوان با پیشرفت هایی که در روش های بیوتکنولوژیک و مهندسی ژنتیک رخ داده است، بتوان نسل جدید سویه های کاندید واکسنی را تولید نمود چرا که تا کنون بیشترین امیدواری را در جلوگیری از ابتلا به بیماری شیگلوز نشان داده است (۶). اما پیش نیاز تهیه چنین واکسن هایی بر پشتوانه شناخت و پیش بینی های قابل اتکا در مورد درصد فراوانی و نرخ آلودگی به گونه های شایع باکتری شیگلا در هر منطقه جغرفیایی می باشد زیرا تهیه واکسن موثر علیه گونه های شیگلا با توجه به نوع سروار اختصاصی می باشد.

شیگلا دیسانتری و *شیگلا فلکسنری* در مناطق گرمسیری بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داده است و این در حالی است که *شیگلا سونه ای* در جوامع صنعتی از فراوانی بالاتری برخوردار است (۷). اگرچه بیماری شیگلوز به لحاظ ایمنی شناختی یک بیماری خود محدود شونده (self limiting) در طول مدت بیماری می باشد، اما درمان های آنتی بیوتیکی نیز می تواند در کاهش طول درمان و شدت عوارض بالینی کاملاً موثر باشد(۳). به علاوه، درمان آنتی بیوتیکی می تواند دفع سویه های پاتوژن (حدت زا) را از مدفوع بیماران به طور قابل توجهی کاهش داده و در نتیجه از انتشار و سرایت آلودگی جلوگیری به عمل آورد. افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های بیماری زا روده ای (entric)، یک نگرانی عمده را به خصوص در کشور های در حال توسعه ایجاد نموده است، چرا که نرخ آلودگی به عفونت های اسهال زا در این جوامع بسیار بالاست که خود ناشی از عوامل متعدد فرهنگی، اقتصادی و بهداشتی می باشد (۸). درمان های آنتی بیوتیکی رایج که عموماً برای باکتری های عفونی استفاده می گردند، نقش حیاتی را کاهش شیوع و مرگ و میر این گونه عفونت ها بازی می کنند، اما استفاده های مکرر و نابجا از یک آنتی بیوتیک باعث بروز سویه های مقاوم جدید شده است (۹). نظر به افزایش مقاومت سویه های بیماری زای روده ای به آنتی بیوتیک های پر کاربرد و ارزان شامل (آمپی سیلین، نالیدیکسیک اسید، کوتریموکسازول، تتراسایکلین و کلرامفنیکل) به نظر می رسد انجام یک درمان آنتی بیوتیکی موثر در حال سخت تر شدن می باشند. تاکنون چندین گزارش در مورد الگوی آنتی بیوتیکی در ایران منتشر شده است. *فرشاد و همکاران* در سال ۲۰۰۶ با جداسازی ۸۲ سویه شیگلا از ۷۱۹ مدفوع بیمار در سه بیمارستان در شهر شیراز، گزارش نمودند تمام سویه های جدا شده به سه آنتی بیوتیک سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین و سفتریاکسون حساس و به آنتی بیوتیک های نالیدیکسیک اسید، جنتامایسن، آمیکاسین و سفالوتین درصد بالایی از مقاومت را نشان دادند (۱۰). همچنین *رنجبر و همکاران* با مطالعه بر روی موارد تک گیر سویه *شیگلا بویدی* که از کودکان ایرانی جدا شده بود نشان داد که کل سویه های جدا شده نسبت به آنتی بیوتیک های سولفو متوکسازول تری متروپریوم و استرپتومایسین (به استثنای یک مورد) مقاوم می باشند(۱۴-۱۱).

با توجه به اینکه در ایران شیگلوز یکی از دلایل عمده شیوع و مرگ و میر در کودکان زیر پنج سال می باشد اما گزارشات در مورد سرووار و گونه غالب و همچنین دیگر خصوصیات اپیدمیولوژیکی محدود می باشد و همچنین با توجه به ضرورت مطالعات پایشی دوره ای تحقیق حاضر با هدف تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در بیماران مبتلا به اسهال حاد باکتریایی به منظور دستیابی و آگاهی از میزان فراوانی و دامنه مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های شیگلا جدا از بیماران مبتلا به اسهال حاد باسیلی در تهران انجام شد.

روش کار

این مطالعه درآزمایشگاه میکروبیولوژی بیمارستان میلاد و دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران در طول سال های ۱۳۸۷ تا ۱۳۸۹ انجام شد. بیماران شرکت کننده در مطالعه، علائم ظاهری اسهال حاد باسیلی را با درجات مختلفی از شدت بیماری نشان می دادند. در مجموع، تعداد ۱۳۴ جدایه از بیمارانی که از نظر حضور باکتری شیگلا مثبت در نظر گرفته شده بودند جمع آوری و به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران منتقل شد.

نمونه های بیمارستانی بلافاصله به محیط مک کانکی (Difco, USA) و محیط سالمونلا – شیگلا (SS) آگار(Difco, USA) منتقل و به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد کشت داده شدند. پرگنه هایی (کلونی) که فاقد قدرت تخمیر قند لاکتوز بودند از روی دو محیط مک کانکی و سالمونلا – شیگلا آگار برداشته شده و در ۵ میلی لیتر محیط نوترینت مایع (Oxoid, England) تلقیح وبه مدت ۶ ساعت در گرمخانه قرار داده تا به منظور انجام آزمایش های بیوشمیایی و سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی به درجه مناسبی از رشد باکتریایی (OD $_{600nm}$=0.7) در طول موج ۶۰۰ نانومتر برسند، سپس شناسایی باکتری های شیگلا بر اساس آزمایش های بیوشمیایی با هدف تشخیص جنس شیگلا انجام گردید. موارد انجام شده شامل: آزمایش اندول، حرکت، MRVP،ONPG و محیط های سیمون سیترات، لایزین دکربوکسیلاز، TSI و همچنین تخمیر قند مانیتول بود.پس از تایید اولیه سویه های شیگلا به وسیله آزمایش های بیوشیمیایی، در این مرحله به منظور تعیین چهار گونه شیگلا از واکنش سرولوژیکی با استفاده از کیت تجاری پلی کلونال (Mast, England) اختصاصی گونه های شیگلا اجرا گردید. در ابتدا، از سویه های شیگلا بر روی پلیت های مک کانکی کشت مجدد و تازه تهیه و در ادامه آزمون تایید گونه شیگلا به وسیله واکنش آگلوتیناسیون بر روی شیشه اجرا گردید. تکنیک اجرا شده در این مطالعه براساس روش *تالوکدر و همکاران* بود (۱۵).

واکنش های حساسیت آنتی بیوتیک در مورد تمامی سویه ها با استفاده از محیط مولر – هینتون آگار (Difco, USA) و با استفاده از روش انتشار دیسکی انجام شد. آنتی بیوتیک های انتخاب شده شامل: آمپی سیلین (Ampicillin) (۱۰میکروگرم)، تتراسایکلین (Tetracyclin) (۳۰میکروگرم)، کلرامفنیکل (Chloramphenicol) (۳۰میکروگرم)،، نالیدیکسیک اسید (Nalidixic acid) (۳۰میکروگرم)، کوتریموکسازول (Cotrimoxazole) (۳۰میکروگرم)، آمیکاسین (Amikacin) (۳۰میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (Ciprofloxacin) (۵ میکروگرم)، سفتریاکسون (Ceftriaxone) (۳۰میکروگرم)، کانامایسین(Kanamycin) (۳۰میکروگرم)، سفتازیدیم (Ceftazidime) (۳۰میکروگرم)، سفالوتین (Cefalotin) (۳۰میکروگرم) و استرپتومایسین (Streptomycin) (۳۰میکروگرم) بود. در ابتدا از سویه های شیگلا سوسپانسیون میکروبی با کدورت نیم مک فارلند تهیه و سپس آزمون حساسیت سنجی با قرار دادن دیسک های آنتی بیوتیکی انجام گردید. نتایج پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد مورد ارزیابی قرار گرفت. قطر هاله تشکیل شده که نشان دهنده ممانعت از رشد در اطراف دیسک آنتی بیوتیکی است با استفاده از خط کش مدرج اندازه گیری و تعیین مقاومت و یا حساسیت آن بر اساس دستورالعمل راهنما شرکت سازنده (Mast, England) و مقاسیه با جدول NCCLS انجام گردید. به منظور اطمینان از ارزیابی های انجام گرفته از سویه مرجع *شیگلا فلکسنری* ATCC 12022 (بانک آزمایشگاه میکروبیولوژی، دانشگاه تهران) به عنوان سویه شاهد استفاده گردید. آنالیز های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 13.0 انجام شد. مجوز های اخلاقی استفاده از اطلاعات جمع آوری شده از بیماران و کارکنان آزمایشگاه میکروبیولوژی بیمارستان میلاد و مرکز تشخیص طبی کودکان دریافت گردید.

یافته ها

برای تشخیص و افتراق یسیاری از باکتری های خانواده آنتروباکتریاسه تعیین توانایی باکتری در تجزیه اسید آمینه لایزین به عنوان یکی از شاخص های تمایزی ضروری است. نتایج حاصل ازآنالیز بیوشمیایی محیط لیزین دکربوکسیلاز و XLD (گزیلوز – لیزین – دکوکسی کولات) نشان داد در اثر عدم رخ داد دکربوکسیلاسیون اسید آمینه لایزین (موجود در محیط) قلیایی شدن و بالتبع تغییر رنگ (در اثر معرف برموکروزول) صورت نمی گیرد و نتیجه واکنش از این حیث منفی مشاهده گردید.

به منظور ارزیابی تخمیر کربوهیدرات های گلوکز و مانیتول از محیط های پایه قندی حاوی قند های گلوکز و مانیتول استفاده شد. واکنش تخمیر قندی در مورد این دو قند (گلوکز و مانیتول) به ترتیب، منفی و مثبت مشاهده شد. با توجه به اینکه اکثر باکتری های روده ای قند گلوکز را از طریق مسیر مخلوط اسیدی (Mixed acid fermentation pathway) تخمیر می نمایند، لذا آزمایش افتراقی MRVP برای تمایز جنس شیگلا انجام و نتیجه حاصل از آن مثبت به دست آمد. بر اساس نتایج آزمون های سرولوژیکی، ۳۵ (۱۲/ ۲۶.٪) از سویه های جدا شده به سروار *شیگلا فلکسنری*، ۷۸ (۵۸/۲۰ .٪) به سروار *شیگلا سونه ای*، ۱۲ (۹۶/ ۸.٪) به سروار *شیگلا بویدی* و در نهایت، ۹ (۶/۷۲ .٪) به سروار *شیگلا دیسانتر* تعلق داشتند.

مطالعه پرونده بیمارستانی افراد مراجعه کننده به بیمارستان میلاد و مرکز طبی کودکان نشان داد که افراد مشکوک به شیگلوز غالباً کودکان با سن کمتر از ۱۲ سال می باشند. از میان افراد مبتلا، ۷۱ نفر مذکر (۵۲/۹۸.٪) و ۶۳ (۴۷/۰۱.٪) مونث بودند. بیماران مثبت از نظر شیگلا ۱۹٪ زیر ۲ سال، ۵۲٪ بین ۲ تا ۱۲ سال و ۲۹٪ بیش از ۱۲ سال سن داشتند. ۵۴٪ بیماران در فصل تابستان، ۲۸٪ در فصل بهار ، ۱۲٪ در پاییز و ۵٪ زمستان مراجعه کرده بودند.

بیشترین حساسیت گونه های شیگلا به ترتیب نسبت به آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساتین، سفتازیدیم، سفتریاکسون می باشد به طوری که هیچ مقاومتی نسبت به این سه آنتی بیوتیک تشخیص داده نشد. در مورد سایر سویه ها، درجات متفاوتی از مقاومت مشاهده شد (جدول ۱).

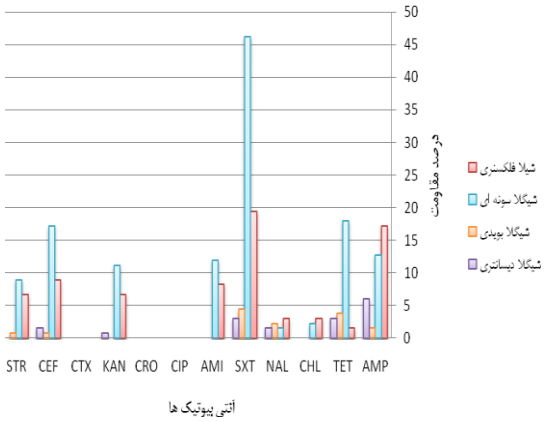
جدول ۱. الگوی آنتی بیوگرام شیگلا جدا شده از بیمارن مبتلا به شیگلوز (برحسب تعداد سویه مقاوم).

سروار شیگلا	*تعداد سویه مقاوم به آنتی بیوتیک ها به تفکیک گونه های شیگلا											
	AMP	TET	CHL	NAL	SXT	AMI	CIP	CRO	KAN	CTX	CEF	STR
شیگلا فلکسنری	۲۳	۲	۴	۴	۲۶	۱۱	۰	۰	۹	۰	۱۲	۹
شیگلا سونه ای	۱۳	۲۴	۳	۲	۶۲	۱۶	۰	۰	۱۵	۰	۲۳	۱۲
شیگلا بویدی	۲	۵	۰	۳	۶	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۱
شیگلا دیسانتری	۸	۴	۰	۲	۴	۰	۰	۰	۱	۰	۲	۰

*آمپی سیلین (AMP) ، تتراسایکلین (TET) ، کلرامفنیکل (CHL) ،)، نالیدیکسیک اسید (NAL) ، کوتریموکسازول (SXT) ، آمیکاسین (AMI) ، سیپروفلوکساسین (CIP) ، سفتریاکسون (CRO) ، کانامایسین(KAN) ، سفتازیدیم (CTX) ، سفالوتین (CEF)، سفتازیدیم (CAZ) و استرپتومایسین (STR).

نتایج حاصل از بررسی های حساسیت آنتی بیوتیکی نشان داد که سویه های شیگلا جدا شده نسبت به آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین، سفتازیدیم و سفتریاکسون کاملاً حساس (۱۰۰ درصد) و نسبت به آنتی بیوتیک های کوتریموکسازول (۷۳/۱۳٪)، آمپی سیلین (۳۷/۳۱٪) و تتراسایکلین (۲۶/۱۱٪) بیشترین مقاومت را نشان دادند. در میان سویه های مقاوم به کوتریموکسازول، *شیگلا سونه ای* با مقاومت ۷۳/۰۷ درصدی بالاترین میزان را در بین سویه های مقاوم به خود اختصاص داد (نمودار ۱).

نمودار۱. نسبت درصد مقاومت سویه های جنس شیگلا جدا شده از بیمار به تفکیک گونه.



آمپی سیلین (AMP) ، تتراسایکلین (TET) ، کلرامفنیکل (CHL) ،)، نالیدیکسیک اسید (NAL) ، کوتریموکسازول (SXT) ، آمیکاسین(AMI) ، سیپروفلوکساسین(CIP) ، سفتریاکسون (CRO) ، کانامایسین(KAN) ، سفتازیدیم (CTX) ، سفالوتین (CEF)، سفتازیدیم (CAZ) و استرپتومایسین (STR).

بحث

اسهای حاد باسیلی که توسط گونه های مختلف شیگلا ایجاد می شود، در بسیاری از کشور های در حال توسعه از شیوع بالاتری برخوردار است (۴). بر اساس مطالعات انجام شده توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO)، تخمین زده شده است که در حدود ۶۹٪ از مبتلایان و ۶۱٪ از مرگ و میر ناشی از ابتلا به شیگلوز در کودکان زیر ۵ سال رخ می دهد. یکی از دلایل عمده شیوع اسهال های باسیلی در کودکان زیر ۵ سال ایرانی نیز ناشی از آلودگی با باکتری های جنس شیگلا می باشد(۱).

در مطالعه حاضر، فراوانی حضور گونه های شیگلا با گزارشاتی که توسط *فرشاد و همکاران*، *جعفری و همکاران* و *رنجبر و همکاران*انجام گرفته بود مشابه بود. در گزارش *فرشاد و همکاران*، بیشترین سروار جدا سازی شده گونه *شیگلا سونه ای* با میزان ۷۴/۳۹٪ بود. به علاوه، *جعفری و همکاران* و نیز *رنجبر و همکاران* همچنین بیشترین فراوانی را به ترتیب با مقادیر ۸۸٪ و ۵۸/۹٪ را به گونه شیگلا سونه ای اختصاص دادند (۱۰،۱۱، ۱۳، ۱۶) . در این مطالعه نیز بیشترین فراوانی به سروار *شیگلا سونه ای* (۵۸/۲۰٪) و کمترین فراوانی به سروار *شیگلا دیسانتری* (۷/۲۶٪) تعلق گرفت. این مطالعه عدم تغییر در فراوانی سروار های جدا شده از مبتلایان به اسهال حاد باسیلی را در بیماران مراجعه کننده به این دو بیمارستان تایید می نماید. با توجه به گزارشات مختلفی که در کشور های توسعه یافته مانند ایالات متحده آمریکا، کانادا در مورد میزان شیوع سروار غالب انجام گرفته نشان می دهد سروار *شیگلا سونه ای* به عنوان سروار غالب نسبت به سایر سروار ها از فراوانی بالاتری برخوردار است، این در حالی است که در کشور های آفریقایی مانند آفریقای جنوبی، زامبیا، موزابیک و کنیا در اپیدمی های گسترده ای که از سال ۱۹۷۹ تا ۱۹۹۶ اتفاق افتاد، *شیگلا دیسانتری* تیپ ۱ (حامل ژن شیگا توکسین) و در کشور های آسیای جنوب شرقی (بنگلادش) (۱۷) و یا کشور های آمریکای جنوبی مانند برزیل *شیگلا فلکسنری* سویه غالب گزارش شده است(۱۸).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که در کشور ایران نیز الگوی پراکنشی گونه های شیگلا از الگویی همانند کشور های توسعه یافته در حال پیروی کردن می باشد به طوری که سروار *شیگلا سونه ای* دارای بالاترین نسبت گونه جدا سازی شده از مبتلایان به شیگلوز را در مقابل سایر گونه های هم جنس خود را دارا می باشد. این الگو اما در کشور هایی که در مناطق آسیای جنوب شرقی مانند بنگلادش ، تایوان و ویتنام سکونت دارند متفاوت بوده و در این نواحی سویه *شیگلا فلکسنری* از شیوع بالاتری برخوردار است (۱۹،۲۰). همچنین بر خلاف نتایج تحقیق حاضر، در مطالعات انجام شده در برخی از کشور های خاورمیانه شامل اردن (۲۱)، عربستان سعودی(۲۲) و پاکستان(۲۳) سویه نیز *شیگلا فلکسنری* به عنوان سویه غالب گزارش شده است.

در مطالعه ما، بیشترین افراد مبتلا به شیگلوز در محدوده سنی بین ۲ تا ۱۲ سال (۵۲/۵۴٪) قرار گرفتند که از این نظر با گزارشات متعددی که در سطح جهان در موارد ابتلا به اسهال حاد باکتریایی در افراد با رده های سنی متفاوت صورت گرفته است، مطابقت دارد. یکی از مهمترین دلایلی را که می توان به عنوان علت بالاتر بودن شیوع شیگلوز در این محدوده سنی بر شمرد در واقع ناشی از عدم رعایت دستور العمل های بهداشتی است که کمتر از سوی افراد در این رده سنی مورد توجه قرار می گیرد.

اختلاف در میزان حدت و علائم کلینیکی بیماری زایی گونه های شیگلا به تفاوت های موجود در گونه های شیگلا از نظر فراوانی حضور ژن های بیماری زا، میزان جرم باکتری در بدن بیمار و نیز ویژگی های فیزیولوژیک فرد بیمار مانند توانایی سیستم ایمنی در مواجه با عامل غفونت، سن بیمار و عدم ابتلا به برخی از بیماری های خودایمنی مانند بیماران HIV^+ (سندروم نقص ایمنی اکتسابی، بیماری ایدز) وابسته می باشد. تعیین فراوانی و شیوع گونه های اسهال زا در مطالعات اپیدمیولوژی (همه گیر شناسی) در حقیقت می تواند ابزار مناسبی در شناسایی درست منابع آلودگی، تعیین فراوانی و پراکندگی گونه و سروار آنها در سطح کشور بوده و در عین حال ما را در رسیدن به روش های بهتر کنترل عفونت و در جلوگیری از گسترش و انتشار آلودگی به نحو شایانی کمک می نماید (۱، ۳، ۲۴،۲۵). گرچه ابتلا به بیماری شیگلوز در تمام فصول سال ممکن پذیر می باشد ولی بر اساس مطالعاتی که در مورد فصل شیوع حداکثری شیگلوز در سطح جهان گزارش شده است نشان می دهد که بالاترین میزان شیوع شیگلوز در ماه های گرم سال بوده است(۴). در این تحقیق نیز فصل تابستان بیشترین آمار مراجعات به مراکز درمانی فوق صورت گرفته است. یکی از احتمالاتی را که می توان علت این امر دانست به مواردی همچون عدم توجه در حفظ بهداشت فردی ناشی از کمبود منابع آبی، سرایت عوامل پاتوژن از طریق ناقل های غیر انسانی مانند حشرات افراد (به خصوص که در این فصل از سال جمعیت بالاتری را دارا می باشند)، ورود مسافران ناقل از مناطق آلوده به داخل کشور (ناقل انسانی) و یا آلودگی منابع آبی از طریق فاضلاب های شهری به ویژه در مواقعی که کلر به اندازه کافی به آن اضافه نشده است و نهایتاً، شنا کردن در آب های آلوده نیز در نظر گرفت. البته در مواردی نیز غذا های آلوده یکی از راه های انتشار عفونت های شیگلا می باشد(۹).

آگاهی از الگوی مقاومت و یا حساسیت آنتی بیوتیکی در یک ناحیه جغرافیایی خاص به منظور تجویز مناسب درمان های آنتی بیوتیکی با هدف کاهش شدت عوارض بیماری، میزان دفع باکتری، و همچنین کاهش دوره درمان افراد مبتلا ضروری و لازم به نظر می رسد. در اغلب مواردی که اسهال باکتریایی در افراد رخ می دهد و عامل آن سروار *شیگلا سونه ای* است و در عین حال فرد بیمار علائم بالینی شدیدی از خود بروز نمی دهد، غالباً درمان آنتی بیوتیکی به بیمار توصیه نمی گردد که این خود ناشی از ویژگی خود محدود شوندگی (self-limiting) در زمان آلودگی به شیگلوز می باشد (۳)، در تحقیقی که در سال ۲۰۰۱ توسط *آهن و همکاران* در ویتنام صورت گرفت نشان داده شد که از سال ۱۹۸۹ تا ۱۹۹۸ میزان مقاومت در گونه های شیگلا از افزایش تدریجی بر خوردار بوده است(۱۹).

در دهه های اخیر نیز با توجه به مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها، ظهور سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک افزایش چشمگیری را از خود نشان داده است. این افزایش را می توان به علت استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک های ارزان و متداولی دانست که به راحتی در دسترس افراد قرار می گیرد که در نتیجه با مصرف بی رویه این آنتی بیوتیک ها، افزایش سویه های مقاوم به ویژه در کشور های در حال توسعه که خدمات بهداشت عمومی از محدودیت بیشتری برخوردار است را به دنبال خواهد داشت(۲۶). هزینه های واقعی که در مورد درمان شیگلوز به وسیله درمان های آنتی بیوتیک مصرف می شود به خصوص در کشور های در حال توسعه مشخص و شفاف نیست. بنابراین، ضرورت استفاده از روش های مبتنی بر واکسیناسیون ضرورتاً توسط WHO در اولویت قرار گرفته است(۲۴). در مواردی که ابتلا به بیماری شیگلوز نیاز به درمان های موثر دارد، بیماران با دریافت دارو های ضد باکتریایی درمان می شوند اما ظهور سویه های مقاوم سبب عدم پاسخ در مبتلایان شده است. بررسی الگوی های مقاومت آنتی بیوتیکی به طور گسترده در مطالعات اپیدمیولوژیک در طی سال های اخیر در مورد باکتری شیگلا گزارش شده است(۴).

نظر به اهمیت آگاهی از الگوی مقاومت آنتی بیوتیک، در مطالعه حاضر آزمایش تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی در مورد ۱۳۴ گونه شیگلا جدا شده از بیماران انجام پذیرفت. نتایج این تحقیق با مطالعه *فرشاد و همکاران* که میزان مقاومت به آنتی بیوتیک کوتریموکسازول را برابر با ۹۰/۲۴ درصد و نیز در تحقیق *رنجبر و همکاران* که میزان مقاومت به همین آنتی بیوتیک را در حدود ۹۴٪ گزارش نمودند از تشابه بر خوردار است. در مطالعه حاضر موثر ترین آنتی بیوتیک ها سیپروفلوکساسین، سفتازیدیم و سفتریاکسون نشان داده شد. در مطالعه که در سال های ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۰ در ایالات متحده آمریکا توسط *سیواپالاسینگام و همکاران* انجام شد هیچ سویه مقاومی به آنتی بیوتیک های سیبروفلوکساسین و یا سفتریاکسون گزارش نشد و فقط ۱٪ مقاومت نسبت به نالیدیکسیک گزارش گردید (۲۷). همچنین، در مطالعه *ایزنبرگ و همکاران* که بر روی ۳۰۵ بیمار ویتنامی و ۱۷۵ بیمار تایلندی اجرا شد مقاومت به کوتریموکسازول در ویتنام و تایلند، به ترتیب ۹۰ و ۷۸ درصد و در عین حال مقاومتی از آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین مشاهد نشد(۲۰).

با مصرف زیاد سولفونامید ها در سطح جهان پیدایش سویه های مقاوم به طو چشمگیری افزایش یافته است، به طوری که برخی از آنتی بیوتیک های وسیع الطیف مانند آمپی سیلین و تتراسایکلین که همگی در پیشگیری موثر بوده اند، امروزه با توجه به شیوع سویه های مقاوم کاربرد محدود تری پیدا کرده اند ولی با توجه به ماهیت غیر قابل پیش بینی مقاومت در سویه های شیگلا ضرورت اجرای آزمون سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی را برای شروع درمان لازم می کند. به علاوه، به منظور جلوگیری از ظهور مقاومت در سویه ها لازم است تجویز نوع درمان زیر نظر پزشک صورت گیرد. لازم به ذکر است اگرچه سفالوسپورین های نسل سوم همچنان به عنوان موثرترین داروی انتخابی در درمان شیگلوز مطرح می باشد ولی از طرفی باید توجه داشت که استفاده بی رویه و بدون ضرورت آنها احتمالاً منجر به افزایش سریع مقاومت در آنها گردد.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج این تحقیق توصیه می شود که سه آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین، سفتازیدیم و سفتریاکسون به عنوان مناسب ترین آنتی بیوتیک ها به منظور درمان شیگلوز مورد استفاده قرار گیرند. به علاوه استفاده از آنتی بیوتیک های کوتریموکسازول و آمپی سیلین نیز برای موارد مشکوک به شیگلوز نیز توصیه نمی گردد. این مطالعه نشان داد که سروار *شیگلا سونه ای* همچنان به عنوان سروار غالب از شیوع بیشتری برخوردار می باشد. به نظر می رسد با توجه به ظهور سویه های مقاوم ضرورت اجرای مطالعات پایشی به صورت دوره ای احساس می گردد تا بتوان برآورد مناسبی از عوامل پاتوژن (بیماری زا) ناشی از عفونت، پراکندگی جغرافیایی شیوع بیماری و نیز الگوی مقاومت آنتی بیوتیک را با هدف تنظیم برنامه های بهداشت عمومی داشت. به نظر می رسد با توجه به هزینه های بالای طراحی و سنتز آنتی بیوتیک های جدید علیه سویه های مقاوم همچنان استفاده از روش های مبتنی بر واکسیناسیون به عنوان یک انتخاب موثر و مناسب مطرح باشد.

تشکر و قدردانی

از مهندس غفاری، اشرافی، خرمالی در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و مهندس زند در دانشکده علوم پایه دانشگاه جامع امام حسین (ع) و از کارکنان مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی کاربردی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) که ما را در انجام این تحقیق صمیمانه یاری نموده اند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

REFERENCES

1. Kotloff KL, Winickoff JP, Ivanoff B, Clemens JD, Swerdlow DL, Sansonetti PJ, Adak GK, Levine MM. Global burden of Shigella infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. Bull World Health Organ1999;77(8):651-660.

2. Lan R, Alles MC, Donohoe K, Martinez MB, Reeves PR. Molecular evolutionary relationships of enteroinvasive Escherichia coli and Shigella spp. Infect Immun2004 Sep;72(9):5080-8.

3. Jennison AV, Verma NK. Shigella flexneri infection: pathogenesis and vaccine development. FEMS Microbiol Rev2004 Feb;28(1):43-58.

4. Launay O, Sadorge C, Jolly N, Poirier B, Bechet S, van der Vliet D, Seffer V, Fenner N, Dowling K, Giemza R, Johnson J, Ndiaye A, Vray M, Sansonetti P, Morand P, Poyart C, Lewis D, Gougeon ML. Safety and immunogenicity of SC599, an oral live attenuated Shigella dysenteriae type-1 vaccine in healthy volunteers: results of a Phase 2, randomized, double-blind placebo-controlled trial. Vaccine2009 Feb 18;27(8):1184-91.

5. DuPont HL, Levine MM, Hornick RB, Formal SB. Inoculum size in shigellosis and implications for expected mode of transmission. J Infect Dis1989 Jun;159(6):1126-8.

6. Kotloff KL, Pasetti MF, Barry EM, Nataro JP, Wasserman SS, Sztein MB, Picking WD, Levine MM. Deletion in the Shigella enterotoxin genes further attenuates Shigella flexneri 2a bearing guanine auxotrophy in a phase 1 trial of CVD 1204 and CVD 1208. J Infect Dis2004 Nov 15;190(10):1745-54.

7. Ashkenazi S, Levy I, Kazaronovski V, Samra Z. Growing antimicrobial resistance of Shigella isolates. J Antimicrob Chemother2003 Feb;51(2):427-9.

8. Craun GF, Calderon RL, Craun MF. Outbreaks associated with recreational water in the United States. Int J Environ Health Res2005 Aug;15(4):243-62.

9. Sansonetti PJ. Rupture, invasion and inflammatory destruction of the intestinal barrier by Shigella: the yin and yang of innate immunity. Can J Infect Dis Med Microbiol2006 Mar;17(2):117-9.

10. Farshad S, Sheikhi R, Japoni A, Basiri E, Alborzi A. Characterization of Shigella strains in Iran by plasmid profile analysis and PCR amplification of ipa genes. J Clin Microbiol2006 Aug;44(8):2879-83.

11. Ranjbar R, Aleo A, Giammanco GM, Dionisi AM, Sadeghifard N, Mammina C. Genetic relatedness among isolates of Shigella sonnei carrying class 2 integrons in Tehran, Iran, 2002-2003. BMC Infect Dis2007;7:62.

12. Ranjbar R, Mammina C, Pourshafie MR, Soltan-Dallal MM. Characterization of endemic Shigella boydii strains isolated in Iran by serotyping, antimicrobial resistance, plasmid profile, ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis. BMC Res Notes2008;1:74.

13. Ranjbar R, Soltan Dallal MM, Talebi M, Pourshafie MR. Increased isolation and characterization of Shigella sonnei obtained from hospitalized children in Tehran, Iran. J Health Popul Nutr2008 Dec;26(4):426-30.

14. Ranjbar R, Soltan-Dallal MM, Pourshafie MR, Mammina C. Antibiotic resistance among Shigella serogroups isolated in Tehran, Iran (2002-2004). J Infect Dev Ctries2009;3(8):647-8.

15. Talukder KA, Islam Z, Dutta DK, Islam MA, Khajanchi BK, Azmi IJ, Iqbal MS, Hossain MA, Faruque AS, Nair GB, Sack DA. Antibiotic resistance and genetic diversity of Shigella sonnei isolated from patients with diarrhoea between 1999 and 2003 in Bangladesh. J Med Microbiol2006 Sep;55(Pt 9):1257-63.

16. Jafari F, Hamidian M, Rezadehbashi M, Doyle M, Salmanzadeh-Ahrabi S, Derakhshan F, Reza Zali M. Prevalence and antimicrobial resistance of diarrheagenic Escherichia coli and Shigella species associated with acute diarrhea in Tehran, Iran. Can J Infect Dis Med Microbiol2009 Fall;20(3):e56-62.

17. Hossain MA, Rahman M, Ahmed QS, Malek MA, Sack RB, Albert MJ. Increasing frequency of mecillinam-resistant shigella isolates in urban Dhaka and rural Matlab, Bangladesh: a 6 year observation. J Antimicrob Chemother1998 Jul;42(1):99-102.

18. Peirano G, Agerso Y, Aarestrup FM, dos Prazeres Rodrigues D. Occurrence of integrons and resistance genes among sulphonamide-resistant Shigella spp. from Brazil. J Antimicrob Chemother2005 Mar;55(3):301-5.

19. Anh NT, Cam PD, Dalsgaard A. Antimicrobial resistance of Shigella spp isolated from diarrheal patients between 1989 and 1998 in Vietnam. Southeast Asian J Trop Med Public Health2001 Dec;32(4):856-62.

20. Isenbarger DW, Hoge CW, Srijan A, Pitarangsi C, Vithayasai N, Bodhidatta L, Hickey KW, Cam PD. Comparative antibiotic resistance of diarrheal pathogens from Vietnam and Thailand, 1996-1999. Emerg Infect Dis2002 Feb;8(2):175-80.

21. Rawashdeh MO, Ababneh AM, Shurman AA. Shigellosis in Jordanian children: a clinico-epidemiologic prospective study and susceptibility to antibiotics. J Trop Pediatr1994 Dec;40(6):355-9.

22. Kagalwalla AF, Khan SN, Kagalwalla YA, Alola S, Yaish H. Childhood shigellosis in Saudi Arabia. Pediatr Infect Dis J1992 Mar;11(3):215-9.

23. Zafar A, Sabir N, Bhutta ZA. Frequency of isolation of shigella serogroups/serotypes and their antimicrobial susceptibility pattern in children from slum areas in Karachi. J Pak Med Assoc2005 May;55(5):184-8.

24. Barnoy S, Jeong KI, Helm RF, Suvarnapunya AE, Ranallo RT ,Tzipori S, Venkatesan MM. Characterization of WRSs2 and WRSs3, new second-generation virG(icsA)-based Shigella sonnei vaccine candidates with the potential for reduced reactogenicity. Vaccine2010 Feb 10;28(6):1642-54.

25. Faruque SM, Khan R, Kamruzzaman M, Yamasaki S, Ahmad QS, Azim T, Nair GB, Takeda Y, Sack DA. Isolation of Shigella dysenteriae type 1 and S. flexneri strains from surface waters in Bangladesh: comparative molecular analysis of environmental Shigella isolates versus clinical strains. Appl Environ Microbiol2002 Aug;68(8):3908-13.

26. Dutta S, Rajendran K, Roy S, Chatterjee A, Dutta P, Nair GB, Bhattacharya SK, Yoshida SI. Shifting serotypes, plasmid profile analysis and antimicrobial resistance pattern of shigellae strains isolated from Kolkata, India during 1995-2000. Epidemiol Infect2002 Oct;129(2):235-43.

27. Sivapalasingam S, Nelson JM, Joyce K, Hoekstra M, Angulo FJ, Mintz ED. High prevalence of antimicrobial resistance among Shigella isolates in the United States tested by the National Antimicrobial Resistance Monitoring System from 1999 to 2002. Antimicrob Agents Chemother2006 Jan;50(1):49-54.