اثرضدباکتریایی نانوذره اکسیدروی بر استرپتوکوک های ویریدانس مقاوم به دارو جدا شده از نمونه های دندانی کودکان دبستانی

رقیه سیاه بالایی[۱]، لیلا فزونی[۲]*، الهه کیایی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشدمیکروبیولوژی، گروه زیست شناسی ، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران
۲- استادیارمیکروبیولوژی، گروه زیست شناسی ، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران
۳- مدیر علم و صنعت، گروه زیست شناسی ، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

***نشانی برای مکاتبه:** شماره تلفن:۰۰۹۸۹۱۱۱۵۱۸۶۷۴، نمابر ۰۰۹۸۱۱۳۳۳۱۴۹۹۰، lili_kia@yahoo.com

دریافت مقاله: آبان نود و شش پذیرش برای چاپ: بهمن نود و شش

چکیده

سابقه و هدف: *پوسیدگی دندان یکی از معمول ترین بیماریهای عفونی کودکان است که علت اصلی ایجاد آن میکروبهای ساکن در دهان هستند.استرپتوکوک های ویریدانس شایع ترین میکروبهایی هستند که ارتباط نزدیکی با این عفونت دارند. هدف مطالعه حاضر تعیین اثر ضدباکتریایی نانوذره اکسید روی بر رشد استرپتوکوک های ویریدنس مقاوم به دارو جدا شده از کودکان دبستانی است.*

روش کار: *این مطالعه تجربی روی ۱۲۰ کودک دبستانی و به صورت کاملا تصادفی انجام شد. پس از نمونه گیری،از تست های بیوشیمیایی برای شناسایی سویه های استرپتوکوکوس ویریدنس استفاده شد. حساسیت یا مقاومت به آنتی بیوتیک های: آموکسی سیلین، اریترومایسین ، کلیندامایسین و سفوتاکسیم به روش دیسک دیفیوژن (روش کربی بائر) تعیین شد و خاصیت آنتی باکتریال نانوذره اکسید روی به روش انتشارچاهک در آگار ارزیابی گردید.تجزیه و تحلیل داده ها با بهره گیری از آزمون های مجذور کای و واریانس یک طرفه انجام شد.*

یافته ها: *میزان فراوانی استرپتوکوک های ویریدنس درنمونه های دندانی کودکان ۶۶/۷ ٪ گزارش شد. بیشترین میزان مقاومت باکتریایی با ۸۱ ٪ نسبت به ونکومایسین دیده شد. ۸۱٪ استرپتوکوک های جدا شده نسبت به آموکسی سیلین حساس بودند. سفوتاکسیم با۵۶٪ ،اریترومایسین با ۲۷ ٪، ونکومایسین با ۱۹ ٪ وکلینداماسین با ۱۱ ٪ در رتبه های بعدی حساسیت قرار داشتند. در بررسی چاهک ۷۲ ٪ از سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک های اریترومایسین و کلینداماسین، ۹۲ ٪ سویه های مقاوم به سفوتاکسیم و آموکسی سیلین و ۷۸ ٪ سویه های مقاوم به ونکومایسن در غلظت ۵۰ میلی گرم برمیلی لیتر از نانوذره اکسید روی از بین رفتند و مابقی در غلظت ۱۰۰ میلی گرم برمیلی لیتر از بین رفتند.*

نتیجه گیری: *نانوذره اکسید روی مورد استفاده در این مطالعه علیه همه جدایه های استرپتوکوک های ویریدنس مقاوم به دارودارای فعالیت ضد میکروبی بالایی بوده و با افزایش غلظت نانوذره ،خاصیت باکتری کشی نیزافزایش یافت.*

واژگان کلیدی: استرپتوکوک ویریدنس، کودکان،پوسیدگی دندان ، نانوذره اکسید روی، مقاومت دارویی

مقدمه

حفرهِ دهان حاوی میکروارگانسیم های زیادی است،استرپتوکوک ها یکی از مهمترین ارگانیسم های ساکن در دهان می باشند علاوه بر استرپتوکوک ها گونه های نایسریا ،کورینه باکتریوم، هموفیلوس انفلوانزا ، لاکتوباسیل ها ،استافیلوکوک ها، مایکوپلاسماها، اسپیروکت ها و اکتینومیسس ها به طورطبیعی دردهان وجود دارند(۱) استرپتوکوک های ویریدانس شایع ترین میکروب هایی هستند که از نمونه های دندانی جدا می شوند و ارتباط نزدیکی با پوسیدگی دندان دارند و شیوع آن ها در بررسی های اپیدمیولوژیک گزارش شده است به رغم اینکه این میکروارگانسیم ها به طور طبیعی در دهان زندگی می کنند، لیکن مسبب عفونت های دهان ودندان از طریق تخریب مینا و پوسیدگی دندان می باشند که یکی از معمول ترین بیماری های عفونی کودکان است(۲و۳)

پوسیدگی در کودکان به علت مصرف مکرر مواد قندی بخصوص هنگام شب مربوط به عادات فرهنگی و اقتصادی جامعه و تربیت خانوادگی می باشد(۴و۵).

درواقع دوبیماری عمده دهان (پوسیدگی و بیماری های پریودنتال) حاصل عدم تعادل در فلور میکروبی است که می تواند سبب ظهور باکتری های بالقوه پاتوژن گردد. عوامل محیطی و فردی مانند رژیم غذایی، قرارگیری در معرض فلوراید ، بهداشت دهان ، جریان بزاق و عوامل ایمنی می توانند بر روی فلوردهانی و ایجاد پوسیدگی دندانی تأثیر بگذارند(۶و۷).

این باکتریها می توانند به طرق مختلف از عفونت های دهانی به دیگر ارگان های بدن مثل قلب و ریه گسترش یابند و در ایجاد بیماری های سیستمیک از جمله اندوکاردیت ، باکتریمی و پنومونی دخالت کنند(۸-۹).

دندانپزشکان برای درمان عفونت های دندان و پیشگیری از بیماری های سیستمیک ناگزیر به استفاده از انواع آنتی بیوتیک ها می باشند. چرا که انتخاب یک آنتی بیوتیک مناسب علاوه بر درمان مطلوب بیماری، منجر به کاهش هزینه های درمان ، کاهش عوارض بیماری ، کاهش زمان بیماری و کاهش انواع باکتری های مقاوم به درمان می گردد(۱۰و۱۱).

در اغلب کشورها با توجه به اهمیت فراوان پوسیدگی دندان، مطالعات مختلفی در زمینه مقاومت دارویی استرپتوکوک های ویریدانس انجام شده است که هر یک درصدهای متفاوتی از مقاومت داروئی را گزارش کرده اند(۱۲و۱۳) بنابراین نه تنها بررسی مقاومت و حساسیت داروئی استرپتوکوک های ویریدانس در مناطق مختلف جهت در اختیار قرار نهادن الگوی درمانی مناسب به دندانپزشکان حائز اهمیت است بلکه معرفی ترکیبات ضد میکروبی جدید به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک ها نیز منطقی به نظر می رسد.

گسترش علم نانو تکنولوژی در دهه گذشته فرصت هایی را برای کشف اثر ضد باکتریایی نانوذرات فلزی فراهم کرده است.اکسید روی یه ترکیب معدنی با فرمول Zno می باشد که در کتاب های کهن، توتیا نامیده می شود(۱۴).

یکی از ویژگی های اکسیدروی خاصیت ضد میکروبی آن در PH طبیعی ودر شرایط عدم حضور نورمی باشد.این نانوذره دارای سمیت انتخابی بوده و می تواند یک ماده ضدمیکروبی با پتانسیل ایده آل به جای برخی از آنتی بیوتیک ها باشد در واقع اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی به دلیل القای استرس اکسیداتیو ناشی ازتولید رادیکال های اکسیژن فعال و واکنش این رادیکال های اکسیژن فعال با DNA ، پروتئین ها ، لیپیدها و در نتیجه مرگ سلول می باشدمحققین خاصیت ضدمیکروبی نانوذرات اکسید روی،ایمن بودن آن برای انسان و عدم آلودگی محیط در اثر استفاده از آن را به عنوان ویژگی مهم این نانوذره ذکر کرده اند(۱۵).

این مطالعه با هدف تعیین تأثیر ضد باکتریایی نانوذرات اکسید روی بررشداسترپتوکوکوس ویریدانس های مقاوم به دارو جدا شده از کودکان دبستانی در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. این مطالعات می تواند به منظور برنامه ریزی هدفمند پیشگیری از پوسیدگی بسیار مفید باشد.

روش کار

در این مطالعه توصیفی_ مقطعی در سال ۹۴ تعداد ۱۲۰ دانش آموز ابتدایی۱۲-۷ ساله در شش مدرسه شهرستان گرگان به بررسی شدمد. پس از کسب رضایت نامه از والدین ، توسط نخ دندان و سوآپ استریل از سطح بوکال و لینگوال دندان های خلفی نمونه گیری انجام شد. عدم مصرف آنتی بیوتیک در ۳ ماه اخیر، عدم بیماری های سیستمیک یا ضعف ایمنی در زمان انجام مطالعه، معیار ورود به مطالعه در نظر گرفته شد و پس از جمع آوری اطلاعات فوق نمونه ها به محیط کشت BHI براث (شرکت مرک) حاوی بافر منتقل شد و نهایتاً به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه ارسال گردید. در آنالیز میکروبی، ابتدا نمونه ها بر روی بلادآگار(شرکت مرک) حاوی ۷٪ خون دفیبرینهٔ گوسفند کشت شدند و در شرایط بی هوازی در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند سپس بر اساس مورفولوژی کلنی، رنگ آمیزی گرم، نوع همولیز، آزمایش کاتالاز، تجزیهٔ اسکولین ومقاومت به اپتوچین استرپتوکوک های ویریدنس شناسایی و جدا گردیدند.

به منظور تعیین حساسیت دارویی با روش دیسک دیفیوژن از کشت ۲۴ ساعته جدایه های استرپتوکوکوس ویریدنس سوسپانسیونی با کدورت ۰/۵ مک فارلند در سرم فیزیولوژی تهیه گردید سپس با استفاده از سواپ استریل از سوسپانسیون باکنری به صورت یکنواخت کشت و دیسک گذاری برای آنتی بیوتیک های آموکسی

سیلین(۲۵میکروگرم)،اریترومایسین(۱۵میکروگرم)،ونکومایسین(۳۰م یکروگرم)،کلینداماسین(۲میکروگرم)وسفوتاکسیم(۳۰میکروگرم) خریداری شده ازپادتن طب انجام شد و پس از۲۴-۱۸ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی گراد قطر هاله عدم رشد با جداول استاندارد CLSI (Clinical and laboratory standards Institute) سنجیده شد ونتایج به عنوان مقاوم، نیمه حساس و حساس اعلام گردید (۱۶).

از انجایی که سفوتاکسیم داروی انتخابی جدیدتری جهت درمان عفونت های دندانی می باشد لذا به منظور تعیین حساسیت دارویی دقیق تر از روش میکرودایلوشن براث نیز استفاده شد.برای تهیه سوسپانسیون از آنتی بیوتیک سفوتاکسیم ۰/۰۱۶ گرم پودر آنتی بیوتیک سفوتاکسیم به لوله فالکون حاوی ۵ سی سی آب مقطر استریل اضافه گردید.جهت حل شدن کامل پودر آنتی بیوتیک ، لوله های فالکون درون شیکر قرار داده شدند.۰/۱ سی سی از هر سوسپانسیون دارویی به ۹/۹ سی سی محیط کشت مولر هینتون براث اضافه گردید تا غلظت نهایی برابر با۱۶ میکروگرم بر میلی لیتر گردد. نهایتا جهت انجام تست میکرودایلوشن براث ۱۰

رقت از ۱۶-۰/۰۳میکروگرم بر میلی لیترطی رقت سازی سریال حاصل شد. در ادامه از کشت ۲۴ ساعته باکتری های مقاوم به سفوتاکسیم در روش دیسک، سوسپانسیونی با کدورت نیم مک فارلند حاصل گردید.

برای انجام تست میکرودایلوشن براث ابتدا در ۱۲ چاهک از چاهک ۹۶ خانه ای ۵۰ µL از محیط کشت مولر هینتون براث ریخته شد. به منظور تهیه رقت، به چاهک شمارهٔ ۲ به میزان ۵۰ µL استوک دارو اضافه گردید. عمل رقت سازی از چاهک شمارهٔ ۲ تا چاهک شمارهٔ ۱۱ ادامه یافت.چاهک شمارهٔ ۱و ۱۲ به ترتیب به عنوان کنترل منفی و کنترل مثبت در نظر گرفته شدند.چاهک کنترل منفی حاوی ۵۰µL استوک دارو به همراه ۵۰ µL محیط کشت مولر هینتون براث بود.

چاهک کنترل مثبت حاوی ۵۰ µL محیط کشت مولر هینتون براث به همراه ۵۰ µL از سوسپانسیون باکتری بود. در ادامه به چاهک های ۱۲-۲، ۵۰ µL سوسپانسیون باکتری با غلظت ۰/۵ مک فارلند اضافه گردید و میکروپلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. حداقل غلظت دارویی ضد باکتریایی که به میزان ۹۰٪ مانع از رشد باکتری درمقایسه با چاهک کنترل مثبت شده شده باشد به عنوان MIC_{90} تلقی میگردد. در نحوه گزارش MIC علاوه بر متد کدورت سنجی چشمی از دستگاه ال ایزا ریدر هم برای تایید استفاده شد و با جداول استاندارد CLSI-M27Aتطبیق داده شد . طبق دستورالعمل این کمیته برای سفوتاکسیم MIC ≤۱µg/ml به عنوان حساس، ۲ µg/ml =MIC به عنوان نیمه حساس و MIC≥ ۴µg/ml به عنوان مقاوم شناخته می شود(۱۶). از سویه استاندارد Streptococcus pneumonia ATCC 49619 نیز جهت کنترل آزمایشات تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی استفاده شد .

بررسی خاصیت آنتی باکتریال نانوذره اکسید روی به روش انتشار چاهک در آگار انجام شد.در این بررسی ابتدا۰/۲ گرم نانوذره اکسید روی (شرکت نانوپیشگامان) در لوله استریل حاوی ۲ ml آب مقطر استریل و دی متیل سولفوکسید (DMSO) افزوده تا غلظت نهایی ۱۰۰ mg/ml حاصل گردد.لوله به مدت ۳۰ دقیقه شیک گردید. سپس رقت های متوالی ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ و ۳/۱۳ میلی گرم بر لیتراز پودر نانوذره اکسید روی در آب مقطر تهیه گردید.

به منظور بررسی اثر ضد میکروبی غلظت های مختلف نانوذره بر روی سویه هایی که به آنتی بیوتیک های تست مقاومت نشان داده بودند، از تمامی جدایه های مقاوم به آنتی بیوتیک های مورد مطالعه، سوسپانسیون میکروبی تهیه شد و روی محیط آگار خوندار با ۷٪ خون گوسفندی، کشت سفره ای تهیه گردید سپس چاهک هایی با قطر ۷ میلی متر بر روی محیط کشت ایجاد و از رقت های تهیه شده نانوذره اکسید روی به میزان ۱۰۰ µL درون چاهک ها ریخته شد.یک چاهک به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد که حاوی آب مقطر بود. پس از افزودن نانوذره درون چاهک ها، پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید بعد از ۲۴ ساعت قطر هاله عدم رشد ایجاد شده در اطراف هر چاهک بر حسب میلی متر اندازه گیری و ثبت شد هر مرحله از آزمون سه بار تکرار شد.

پس از جمع آوری داده ها، یافته ها در قالب جداول فراوانی و شاخص های عددی ارائه گردید. داده ها با استفاده از نرم افزارSPSS(Microsoft office , Chicago, LL., USA ver18)، Excel 2007 professional) آزمون های آماری انالیزواریانس یک طرفه و مجذور کای انجام شد. سطح معنا دار P>۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

در این مطالعه پس از بررسی ۱۲۰ نمونه ، ۸۰ سویه به عنوان استرپتوکوک ویریدنس شناسایی و جداشدند لذا فراوانی استرپتوکوک های ویریدنس در نمونه های دندانی کودکان ۶۶/۷ ٪ گزارش گردید. بیشترین میزان فراوانی سویه های استرپتوکوک ویریدنس جداشده ازکودکان برحسب جنس در پسران(۵۲ ٪)و بر حسب سن در گستره سنی ۸ تا ۹ سال(۴۰ ٪) دیده شد(جدول۱) .برخلاف انتظار صرفا ۲۲ ٪ ایزوله ها از کودکانی جدا شد که ازابزار های ارتودنسی استفاده کرده بودند.

جدول۱ـ فراوانی سویه های استرپتوکوک ویریدنس جدا شده ازکودکان دبستانی شهرستان گرگان بر حسب سن. ۱۳۹۴

سن	درصد
۸-۷	۱۷
۹-۸	۴۰
۱۰-۹	۱۷
۱۱-۱۰	۸
۱۲-۱۱	۱۸

در این مطالعه ۸۹٪ جدایه ها نسبت به دیسک آنتی بیوتیک کلیندامایسین مقاوم بوده و هاله ممانعت از رشد ایجاد نکردند، در حالی که ۸۱٪ استرپتوکوک های جداشده نسبت به آموکسی سیلین حساس بودند. سفوتاکسیم ، اریترومایسین ، ونکوماسین ، وکلینداماسین به ترتیب در رتبه های بعدی حساسیت قرار داشتند(جدول۲) اختلاف فراوانی و حساسیت سویه های استرپتوکوکوس ویریدنس جدا شده از کودکان معنی دار بود(P<۰/۰۴).

جدول۲-فراوانی جدایه های استرپتوکوک ویریدنس مقاوم وحساس به آنتی بیوتیک درکودکان دبستانی شهرستان گرگان. ۱۳۹۴ آزمون مجذور کای

تعداد	درصد	MIC($\mu g/ml$)
۱۲	۱۵	۰/۲۵
۲۴	۳۰	۰/۵
۱۴	۱۷,۵	۱
۱۲	۱۵	۲
۱۶	۲۰	۴
۲	۲,۵	۸

مقدار MIC_{90} آنتی بیوتیک سفوتاکسیم برای استرپتوکوکوس ویریدنس ۰/۵ µg/ml به دست آمده است. دامنه MICدر مقایسه با دامنه سویه استاندارد برابر با۸-۰/۲۵میکروگرم بر میلی لیتر بود به طوری که ۵/۷۷ درصد سویه ها در گستره ۲-۰/۲۵= MIC و ۵/۲۲ درصد آنها در دامنه ۴ ≤MIC میکروگرم بر میلی لیتر قرار داشتند(جدول۳).

جدول۳- حداقل غلظت مهاری سفوتاکسیم (MIC)در ۸۰ سویه استرپتوکوکوس ویریدانس جدا شده از نمونه های دندانی کودکان دبستان شهرستان گرگان به روش میکرودایلوشن براث. ۱۳۹۴

انتی بیوتیک	حساس		نیمه حساس		مقاوم		P-Value
	%	تعداد	%	تعداد	%	تعداد	
سفوتاکسیم	۵۶	۴۵	۱۰	۸	۳۴	۲۷	۰/۰۴
ونکومایسین	۱۹	۱۵	-	۰	۸۱	۶۵	
آموکسی سیلین	۸۱	۶۵	-	۰	۱۹	۱۵	
کلیندامایسین	۱۱	۹	-	۰	۸۹	۷۱	
اریترومایسین	۲۷	۲۱	۱۸	۱۵	۵۵	۴۴	

نتایج بررسی اثر ضد میکروبی غلظت های مختلف نانوذره اکسید روی بر رشد سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک نشان دادکه ۷۲ ٪ از سویه های مقام به آنتی بیوتیک های ارتیرماسین و کلیندامایسین، ۹۲ ٪ سویه های مقاوم به سفوتاکسیم و آموکسی سیلین و ۷۸ ٪ از سویه های مقاوم به ونکوماسین در غلظت ۵۰ میلی گرم برلیتر و مابقی در غلظت ۱۰۰ میلی گرم برلیتر از بین رفتند در واقع درغلظت بالاتر از۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر هیچکدام از جدایه های مقاوم به آنتی بیوتیک قادر به رشد نبودند(با افزایش غلظت، خاصیت باکتری کشی افزایش یافت)(جدول۴).نتایج آنالیز واریانس نشان داد بین غلظت نانوذره اکسید روی و قطر هاله عدم رشد باکتری رابطه معنی داری وجود دارد($P<0/001$).

جدول۴-میانگین قطر هاله عدم رشد ناشی از تاثیر نانودره اکسید روی بر رشد سویه های استرپتو کوکوس ویریدنس جداشده از کودکان دبستان شهرستان گرگان. ۱۳۹۴

قطرهاله عدم رشد (میلی متر)		
غلظت نانوذرات (میلی گرم برمیلی لیتر)	میانگین±انحراف معیار	P-Value
۱۰۰	۰۰/۱۷±۰۱/۵	P<0/001
۵۰	۰۰/۱۰±۰۰/۴	
۲۵	۱۰/۶±۴۰/۰	
۱۲,۵	۰۰/۶±۰۰	
۶,۲۵	۰۰/۶±۰۰	
۳,۱۳	۰۰/۶±۰۰	

آزمون آنالیز واریانس یکطرفه

بحث

عفونت های دهان و دندان یکی از شایعترین علل تهدید کننده سلامت انسان محسوب می شوند و علت اصلی ایجاد و انتشار آنها انواع میکرو گانسیم ها می باشند که به طور طبیعی در دهان زندگی می کنند. این باکتری ها می توانند به طرق مختلف ازعفونت های دهانی به دیگر ارگان های بدن مثل قلب و ریه گسترش یابند و در ایجاد بیماری های سیستمیک ازجمله اندوکاردیت، باکتریمی و پنومونی دخالت کنند.میزان بالای استرپتوکوس ویریدنس ، فرد را در گروه پرخطر قرار می دهد که این گروه ها بر اساس میزان استرپتوکوکوس در هرکشور و هر نژادی متفاوت اند(۱۹)در این مطالعه فراوانی استرپتوکوک های ویریدنس در نمونه های دندانی کودکان دبستانی درگرگان ۶۶/۷ ٪ گزارش شد، در حالیکه مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۵ این فراوانی ۷۱/۴٪ گزارش شده است (۱۷).

در مطالعهٔ Mitsugi و همکاران که بر روی ۷۷ کودک ژاپنی ۵-۳ ساله به روش PCR انجام شد فراوانی استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سابرینوس به ترتیب ۷۲/۸ ٪ و۶۱/۱٪گزارش شد (۱۸).

در مطالعه حاضر بیشترین میزان فراوانی استرپتوکوک ویریدانس در کودکان دبستانی پسر(۵۲٪) و در رده سنی ۹-۸ سال مشاهده شد. Soltan و همکاران جهت تعیین نقش استرپتوکوکوس موتانس در پوسیدگی دندان ۱۲۰ کودک ۵-۳ ساله در دو گروه حساس و مقاوم به پوسیدگی را مورد مطالعه قرار دادند. ایشان مشاهده کردند سن فرد و تکرار مصرف مواد قندی، در پوسیدگی دندان نقش مؤثری دارد(۲۰) با وجود اینکه میزان حساسیت باکتری های دهان در مکان افراد و نژاد های مختلف متغییر است ولی مطالعات انجام شده در اکثر کشور ها حاکی از روند افزایش مقاومت های دارویی است(۱۲).

نتایج این مطالعه حاکی از مقاومت بالای سویه های استرپتوکوکوس ویریدنس به بیشتر آنتی بیوتیک های رایج می باشد.

میزان مقاومت به اریترومایسین در مطالعه حاضر در حدود ۷۳٪ درصد است مقاومت استرپتوکوکوس ویریدنس به اریترومایسین در دنیا با مقادیر متفاوتی گزارش شده است به طوریکه در تایوان ۵۳/۳٪(۲۱)در یونان ۳۸/۵٪ (۲۲)، در لهستان ۲۳/۵٪ (۲۳)، اسپانیا ۴۸/۳٪ (۲۴) و فنلاند ۲۲/۴ ٪(۲۵)گزارش شده است. بالا بودن میزان مقاومت به اریترومایسین در مطالعه حاضر نشان دهندهٔ این است که در جامعه مورد مطالعه، اریترومایسین نمی تواند آنتی بیوتیک مناسبی جهت درمان عفونت های ناشی از استرپتوکوک های ویریدنس باشد.

میزان مقاومت به کلیندامایسین در کشورهای اسپانیا(۲۴) ، یونان (۲۲)و ایران(۲۶) کمتراز درصد مقاومت تعیین شده در مطالعه حاضر(۸۹٪)است . مقاومت به کلیندامایس با توجه به استفاده از آن در درمان های ثانویه عفونت های دهان و دندان، تردید زیادی را در استعمال آن ایجاد می کند تفاوت در میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در مطالعات نامبرده می توان ناشی از اختلاف در روش های آزمایشگاهی به کار رفته در این مطالعات باشد.

در بین آنتی بیوتیک های مصرفی علیه استرپتوکوکوس ویریدنس آموکسی سیلین بیشترین کاربرد را دارد که مطالعه کمتری در مورد آن انجام شده است درپژوهش حاضر میزان مقاومت به

آموکسی سیلین ۱۹٪ بود که موید حساسیت بالای سویه ها نسبت به این آنتی بیوتیک و تداوم تجویز آن می باشد.
میزان مقاومت به سفوتاکسیم به عنوان یک سفالوسپورین دراین مطالعه ۴۴٪ گزارش شد که بیشتر از مقاومت تعیین شده در تایوان(۲۱)و کاناداست(۲۷) که احتمالا به دلیل تفاوت توزیع منطقه ای مقاومت به آنتی بیوتیک است.تعیین حداقل غلظت مهاری سفوتاکسیم نیز حدود ۲۳ درصدمقاومت را نشان داد.
در این مطالعه میزان مقاومت به ونکومایسین ۸۱٪ بود که بیشتر از مطالعات قبلی است (۲۸)لذا مصرف و تجویز آن به دقت بالایی نیاز دارد. بدین ترتیب بررسی های ما نشان داد میزان مقاومت به ونکومایسین ، کلیندامایسین و اریترومایسین در منطقه بسیار بالاست. درمطالعه حاضر اثر ضدمیکروبی نانوذره اکسید روی در مهار رشد سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک مورد بررسی قرار گرفت. اکسید روی جزء نانوذرات مهم هستند که در بسیاری از کشورها در مقیاس صنعتی در حال استفاده باشند (۲۹).
یکی از ویژگی های اکسید روی خاصیت ضدمیکروبی آن در PH طبیعی و در شرایط عدم حضور نور می باشد.این نانوذره دارای سمیت انتخابی بوده و می تواند یک ماده ضد میکروبی با پتانسیل ایده آل به جای برخی از آنتی بیوتیک ها باشد(۳۰) .
Tayelو همکاران در سال ۲۰۱۱، تأثیر ضد باکتریایی اکسید روی، نانوذرات اکسید روی و آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل و آموکسی سیلین را بر روی شش سویه باکتری، یک گونه قارچ کپکی و یک گونه قارچ مخمری بررسی کردند. ایشان برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی از روش میکرودایلوشن استفاده کردند. آنها مشاهده کردند که ترکیبات مورد بررسی همگی دارای خاصیت ضدمیکروبی هستند. اما بیشترین مهارکنندگی در نانوذرات اکسید روی مشاهده شد(۳۱).
در مطالعه حاضربا توجه به نتایج حاصل از انتشار چاهک، مشاهده شد که با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی، قطر هاله عدم رشد باکتری افزایش می یابد.نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر هیچکدام از جدایه های استرپتوکوک ویریدنس مقاوم به آنتی بیوتیک قادر به رشد نیستند در واقع با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی، اثر ضدمیکروبی و آنتاگونیستی اش بر استرپتوکوک های ویریدنس افزایش یافت.
Ghaderian و همکاران در سال ۲۰۱۴، اثر ضد باکتریایی اکسید روی را براشرشیا کولی و انتروکوکوس فکالیس بررسی کردند و مشاهده کردند که بیشترین هاله عدم رشد بر علیه اشرشیا کولی در غلظت ۱۰۰ میلی گرم مشاهده شد(۳۲)
Jehad در سال ۲۰۱۲، نانو اکسید روی را به عنوان یک عامل ضد میکروبی بالقوه معرفی کرد و مکانیسم های احتمالی برای توجیه خاصیت آنتی باکتریال نانوذرات اکسید روی را به القای استرس اکسیداتیو و تجمع آنها در درون سلول مرتبط دانست[۳۳].
Emamifarوهمکاران در سال ۱۳۸۹ بیان کردند فعالیت ضد میکروبی با افزایش نانو اکسید روی تا ۱ درصد کاهش می یابد [۳۴]که با نتایج ما متفاوت می باشد.دلیل این تفاوت می تواند ناشی از افزایش سطح تماس باشداینگونه به نظر می رسد که افزایش سطح تماس و توزیع یکنواخت نانوذرات بر عملکرد ضدمیکروبی این مواد مؤثراست.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه میتوان نتیجه گرفت میزان مقاومت استرپتوکوکوس ویریدنس به کلیندامایسین و ونکومایسین در منطقه بالاست بتابراین تجویز این آنتی بیوتیک ها بایستی با دقت بیشتری صورت گیرد همچنین با توجه به یافته های این تحقیق مشخص شد که کاربرد نانوذره اکسید روی در مقادیر کم در شرایط آزمایشگاهی از رشد استرپتوکوکوس ویریدنس ممانعت می کند که به عنوان یک ماده ضد میکروبی میتوان بر روی آن تمرکز نمود. لذا چنین پژوهش هایی با سایر نانوذرات فلزی به دلیل خصوصیات جالب توجه الکتریکی،اپتیکی،شیمیایی و مغناطیسی شان منطقی به نظر میرسد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر خود را از تمام کسانی که در این پژوهش یاری کردند و همچنین پرسنل آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد گرگان اعلام می دارند.

REFERENCES

1.NatagtaE,kayama H, Ito H, Inoue M.and Oha T.Serotype Specific polysaccharide of Streptococcus mutans contributes to infectivity in endocarditis. Oral Microbial .2006;2(7):5-12.
2. Young Y, Seon J. P, Dong K. J, KwangW. K, Sung-Hoon L, Sang-Ho L, Son-Jin C, Young-Hyo,C, soon P and Joong-Ki K.Isolation and Characterization of the Mutans Streptococci from the Dental Plaques in Koreans.J Microbiology. 2007;3(45):246-251.
3. Lessa FC, Enoki C, Ito IY, Faria G, Matsumoto MA, Nelson-Filho P. In-vivo evaluation of the bacterial contamination and disinfection of acrylic baseplates of removable orthodontic appliances. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2007; 131(6): 705.
4.Newmam MG, Takei H, Klokkevold PR, Caranza FA. Clinical periodontology. 10th ed. Philadelphia: W.B Saunders; 2006.p; 100-640.
5.Olak J, Mandar R, Karjalainen S, Soderling E, Saag M. Dental health and oral mutans streptococci in 2-4 year-old Estonian children. Int J Paediatr Dent. 2007;17(2):92-7.
6.Zukanović A, Muratbegović A, Kobaslija S, Marković N, Ganibegović M & Beslagić E . Relationships between socioeconomic backgrounds, caries associated microflora and caries experience in 12-year- olds in Bosnia and Herzegovina in 2004. Eur J Paediatr Dent. 2008 ; 9(3): 118-24.
7.Harris R, Nicoll AD, Adair PM & Pine CM.Risk factors for dental caries in young children: a systematic review of the literature. Community Dent Health. 2004; 21(1): 71-85.
8. Marcotte H, Lavoie MC. Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A-NCBI. Microbiol Mol Biol Rev. 1998; 62(l): 71-109.
9. Balenseifen JW, Madonia JV. Study of dental plaque in orthodontic patients.J Dent Res .1970; 49(2): 320-4.
10. Batoni G, Pardini M, Giannotti A, Ota F, Giuca MR, Gabriele M, et al. Effect of removable appliances on oral colonisation by mutans streptococci in children.Eur J Oral Sci. 2001; orthodontic 109(6): 388-92.
11. Petersen P.E., Bourgeois, D., Ogawa, H Estupinan, S., Day, Ndiaye, C.The global burden of oral diseases and risks to oral health. Bull. World Health Organization. 2005; 9(83): 661- 669.
12. Jawets A, Melnick B, Adelberg M. Medical microbiology. 24 th ed. New York: McGraw-Hill ,2007;51-59.
13. Rozkiewicz D, Danilak T , Sciepuk M, et al. prevalence rate and antibiotic susceptibility of viridans group streptococci in healthy children population. Adv Med sci. 2006;51:191-195.
14. Zrekic D, srdic V ,Maja A et al .Antimicrobial pror perties of zno nanoparticles in corporated in polyurethane varnish. Process Applic of ceramic. 2011; 5(1): 41-45.
15. Saadat M, Roudbar Mohammadi Sh, Yadegari M, Eskandari M,Khavari-nejad R. An assessment of antibacterial activity of zno nanoparticles,catechin,and EDTA on standand strain of Psodomonas aeroginosa.J Jahrom univ med sci. 2012; 1 (1): 13-18.[In Persian]
16.Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M100-S17. Clinical and Laboratory Standards,2008;26,1-182.
17. Hani Hassan Jubair.The Relationship Between Biofilm Forming and Antibiotics Resistance of Streptococcus mutans Isolated From Dental Caries. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. 2015;4(5): 568-574.

18. Mitsugi O,Yoshika S,Fumiko H,Takako D,Junji S,Kazuo M . PCR detection of Streptococcus mutans andS. sobrinus in dental plaque samples from Japanese pre-school children. .J.Med.Microbial .2002;51:443-447.
19. Moulana Z, Ghasem Pour M, Asghar Pour F, Elmi M, Baghban Shaker P. The Frequency of Streptococcus Mutans and Lactobacillus spp.in 3-5-year- old Children with and without Dental Caries .mljgoums .2013; 7(1) :29-34.[In Persian]
20.Soltan Dallal M.M, Dargahi H,Mehrani F, Sharifi Yazdi M.K,Rahimi Forushani A,Miremadi S.A.The Role Of Streptococcus Mutants In DentalCaries In Two Groups Of Sensitive And Resistance Children Age Between 3 To 5 Years. payavard .2013;6(6): 467-477.[In Persian]
21.Jiunn-jong W,Ku-Yuan L,Po-Ren H,JieWei L,Hsin-I P and Shwu-Meei S. High Incidence of Erythromycin-Resistant Streptococci in Taiwan. Antimioob Agents Chemother. 1997;41(4):844-846.
22. Ioannidou S, Tassios PT, Kotsovili-Tseleni A, et al.Antibiotic resistance rates and macrolide resistance phenotypes of viridanse group streptococci from theoropharynx of healthy Greek children. Int J Antimicrob Agents .2001;17(3):195-201.
23.Rozkiewicz D, Daniluk T, Sciepuk M, et al. Prevalencerate and antibiotic susceptibility of viridans groupstreptococci (VGS) in healthy children population. AdvMed Sci. 2006; 51(1): 191-5.
24. Aracil B, Minambres M, Oteo J, et al. High prevalenceof Erythromycin resistant and clindamycin-susceptible(M phenotype) viridanse group streptococci frompharyngeal samples: A reservoir of mef genes incommencal bacteria. J Antimicrob Chemother. 2001;48(4): 592-594.
25. Seppala H, Haanpera M, Al-Juhaish M, et al.Antimicrobial susceptibility patterns and macrolideresistance genes of viridans group streptococci fromnormal flora. J Antimicrob Chemother. 2003; 52(4): 636-644.
26.Borji A, Naghavi A,Borji H. An investigation on drug resistance of viridance group streptococci isolated from 3-12 years healthy individuals.Zahedan Medical Science J .2010;12(4):28-32.[In Persian]
27.Rosser SJ, Alfa MJ, Hoban S, et al. E test versus agardilution for antimicrobial susceptibility testing ofviridans group streptococci. J Clin Microbiol .1999;37(1): 26-30.
28. Tuohy M, Washington JA. Antimicrobial susceptibilityof viridians groupstreptococci. Diagn Microbiol Infect Dis .1997;29(4):277-280.
29. Jones N, Ray B,Ranjit K.T and Manna A.Antibacterial activity of zno nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. FEMS Microbial Lef. 2008;.279:71-76.
30. ZveKic D, Srdic V, Maja A, Karaman M, Matavulj M. Antimicrobial properties of Zno nanoparticles incorporated in polyurethane varnish process. Applic of ceramic. 2011;5(1):41-5.
31. Tayel A.A, El-tras W.F, Moussa S, EL-baz A.f,al. Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens. Journal of food Safety. 2011;31(2), 211-218.
32. Ghaderian H.S, Mohammadi Sichani M, Yousefi M.H. Antibacterial Activity of ZnO Nanoparticles and Filters Coated with ZnO Nanoparticles on Eliminating Escherichia coli and Enterococcus faecalis. Iranian Journal Health & Environ. 2014; 2: 37- 42.[In Persian]
33. Jehad M. Y, Enas N. D. In Vitro Antibacterial Activity and Minimum Inhibitory Concentration of Zinc Oxide and Nano-particle Zinc oxide Against pathogenic *Strains.Journal of Health Sciences*. 2012;2(4):38-42.
34. Emamifar A, Kadivar M, Shahedi M, Soleimanianzadeh S. 2012. Effects of nanocomposite packaging containing silver and zinc oxide on the shelf-lifeof fresh orange juice. Journal of Nutrition and Food Technology .2012;6(1):57-67.[In Persian]