

بررسی جنبه های همه گیر شناسی و مقاومت آنتی بیوتیکی ویبریو کلرا، بیو تایپ التور سروتایپ اینابا در همه گیری تابستان سال ۱۳۸۴ در ایران

دکتر محمد رهبر^۱، رقیه صبوریان^۲، مهناز صارمی^۳، دکتر محمد عباسی^۴، دکتر حسین معصومی اصل^۵،

دکتر محمود سروش^۶

^۱ نویسنده مسئول: استادیار گروه میکروب شناسی مرکز تحقیقات آزمایشگاه های رفرانس E-mail: mhhf_rz@yahoo.com
^۲ کارشناس میکروب شناسی ^۳ استادیار علوم آزمایشگاهی مرکز تحقیقات آزمایشگاه های رفرانس ^۴ استادیار اطفال ^۵ متخصص بیماری های عفونی مرکز مدیریت بیماری ها

چکیده

زمینه و هدف: بیماری وبا در ایران یک بیماری بومی می باشد و هر ساله مواردی از آن در بعضی از نقاط کشور گزارش می گردد. هدف از این مطالعه بررسی جنبه های اپیدمیولوژیکی و تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های ویبریو کلرای التور سروتایپ اینابا در همه گیری تابستان سال ۱۳۸۴ در ایران می باشد.

روش کار: نمونه های مدفوع از بیماران مشکوک به وبا که به بیمارستان ها و درمانگاه ها مراجعه می کردند جمع آوری و سپس در محیط های آب پیتون قلیائی و تیو سولفات سیترات بایل ساکاروز آگار TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose) کشت داده شدند و سپس با استفاده از روش های باکتریولوژیکی تأیید و نهایتاً با آنتی سرم های اختصاصی سروتایپ شدند. جهت تأیید نهایی ۵٪ سویه های جدا شده به آزمایشگاه رفرانس کشوری ارسال گردیدند. در آزمایشگاه رفرانس پس از تأیید نهایی آنتی بیوگرام به روش دیسک دیفیوژن و E-test جهت تعیین حد اقل غلظت مهار کنندگی از رشد (MIC) انجام شد.

یافته ها: در مجموع ۱۱۱۸ بیمار مبتلا به وبا در مدت زمان همه گیری تشخیص داده شد. بیماری از ۲۶ استان کشور گزارش گردید. بیشترین موارد بیماری از استان های تهران، همدان و قم گزارش گردید. ۵۰٪ از بیماران بین سنین ۱۵-۳۴ سال بودند. ۵۳٪ از بیماران مذکر و ۴۷٪ مؤنث بودند. ۹۷/۷٪ از بیماران ملیت ایرانی و ۲/۳٪ غیر ایرانی و از کشورهای پاکستان و افغانستان بودند. ۲۰٪ از بیماران در بیمارستان بستری شدند و ۸۰٪ بصورت سرپایی درمان شدند. میزان مرگ و میر بیماری ۱٪ بود. از ۱۱۱۸ سویه جدا شده، ۱۱۰۴ مورد سروتایپ اینابا و ۱۴ مورد اگاوا بودند. مطالعه حاضر نشان داد به احتمال زیاد منشأ بیماری بواسطه مصرف سبزی خام بوده است که بواسطه فاضلاب آبیاری می شدند. مواردی از ویبریو کلرا، سروتایپ اینابا از سبزی جدا گردید. تمامی سویه های جدا شده نسبت به کوتریموکسازول، نالیدیکسیک اسید، و فورازولیدون مقاوم بودند. بر عکس تمامی سویه ها در مقابل تترا سیکلین، سیپروفلوکساسین، اریترومایسین و آمپی سیلین حساس بودند. حد اقل غلظت مهار کنندگی از رشد برای کوتریموکسازول، نالیدیکسیک اسید و فورازولیدون بیش از ۲۵۶ میکرو گرم در میلی لیتر بود و برای اریترومایسین ۱/۵ میکروگرم در میلی لیتر بود. با توجه به یکسان بودن نتایج آنتی بیوگرام بنظر می رسد که تمامی سویه های جدا شده از بیماران منشأ یکسانی داشته باشند.

نتیجه گیری: مطالعه حاضر نشان می دهد که برخلاف همه گیری های سال های قبل سویه عامل در همه گیری تابستان سال ۱۳۸۴ اینابا بود و با توجه به الگوی آنتی بیوگرام مشابه احتمالاً منشأ یکسانی داشتند.

واژه های کلیدی: ویبریو کلرا، سروتایپ اینابا، سرو تایپ اوگاوا، مقاومت آنتی بیوتیکی

مقدمه

وبا یک بیماری حاد عفونی می باشد که عامل آن ویبریو کلرا است. ویبریو کلرا یک باکتری گرم منفی، خمیده و بی هوازی اختیاری است و در pH قلیایی تا pH=۹ رشد می کند [۱].

وبای همه گیر کلاسیک توسط میکروارگانیسم هایی که با آنتی سرم ضد آنتی ژن O۱ آگلوتینه می شوند و انتروتوکسین تولید می کنند ایجاد می شود. این میکروارگانیسم ها از نظر خواص بیوشیمیایی به دو بیوتایپ التور و کلاسیک تقسیم می شوند. دو بیوتایپ التور و کلاسیک به سرو تایپ های او گاوا، اینابا و هیکو حیما تقسیم می شوند. سروتایپ هیکو حیما بندرت مشاهده می شود [۳،۲].

گروه دیگری از این باکتری ها که توسط آنتی سرم O۱ آگلوتینه نمی شوند Non-O۱ نامیده می شوند. ویبریو کلرای O۱۳۹ اخیراً موجب همه گیری های شدیدی در کشورهایمانند هند و بنگلادش شده است [۴].

بیماری وبای التور یک بیماری بومی در ایران می باشد و همه ساله مواردی از آن در کشور مشاهده می شود. از علایم بیماری اسهال آبکی می باشد که در صورت عدم درمان منجر به کم آبی شدید و نهایتاً شوک و مرگ می گردد. در موارد شدید درمان آنتی بیوتیکی میزان دفع ویبریو کلرا را کاهش می دهد. موارد زیادی از مقاومت ویبریو کلر O۱ در مقابل آنتی بیوتیک هایی از قبیل نالیدیکسید، اسید، کوتریموکسازول و فورازولیدون گزارش شده است. پیدایش مقاومت دارویی چند گانه در ویبریو کلرا مورد توجه زیادی می باشد تتراسیکلین که سوبه های ویبریو کلرا به آن حساس می باشند و همچنین در درمان بیماری در کودکان توصیه نمی شود و درمان با کینولون ها از قبیل سپرو فلوکساسین برای کودکان و خانم های باردار تجویز نمی گردد. در اینگونه موارد اغلب برای درمان، استفاده از اریتروماکسین پیشنهاد می گردد [۳].

هر ساله بخصوص در فصول گرم مواردی از بیماری در مناطق جنوبی و مرکزی ایران توسط ویبریو کلرا بیوتایپ التور سروتایپ اکاوا گزارش می گردد. مهمترین تفاوت همه گیری اخیر شیوع سروتایپ اینابا بوده است که در چند سال اخیر در ایران شایع نبوده است. هدف از این تحقیق بررسی جنبه های همه گیری ها و الگوی مقاومت دارویی سوبه ویبریو کلرای جدا شده در همه گیری تابستان ۱۳۸۴ می باشد.

روش کار

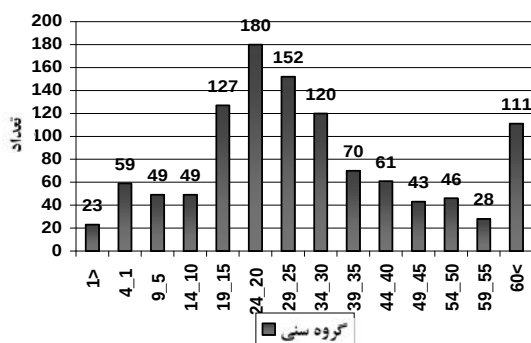
از تیرماه لغایت شهریور ماه ۱۳۸۴ از کلیه بیماران مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی و بیمارستان های کشور که با علایم اسهال مراجعه کرده بودند نمونه مدفوع با سواب جمع آوری و پس از قرار دادن در محیط انتقالی Carry-Blair جهت کشت به آزمایشگاه های میکروشناسی ارسال شدند. نمونه های مدفوع در محیط های ژلوز خوندار، مک کانکی آگار و TCBS^۱ کشت داده شدند. در ضمن بطور همزمان نمونه های رکتال سواب در محیط آب پیتونه قلیائی تلقیح و پس از ۶ ساعت از محیط آب پیتونه در محیط TCBS کشت داده شدند. تمامی پلیت ها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند در صورت رشد کلونی های زرد رنگ، به ویبریو کلرا مشکوک شده و از کلونی های مشکوک رنگ آمیزی گرم بعمل آمد و سپس آزمایش های دیگر از قبیل آزمایش کاتالاز، کشت در محیط Kligler Iron Agar، لایزین آبیرون آگار، آزمایش رشته ای String test واکسیداز انجام گرفت و در نهایت سروتایپینگ با استفاده از آنتی سرم های پلی والان و مونو والان اکاوا و اینابا و O۱۳۹ سروتایپینگ شدند [۵].

از بیش از ۲۲۵ سوبه ویبریو کلرا که به مرکز تحقیقات آزمایشگاه های رفرائس ارسال شدند ۱۰۰ سوبه ویبریو کلرای التور سروتایپ اینابا با روش دیسک

¹ Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose

بیشترین موارد بیماری به تعداد ۹۳ مورد در هفدهم مرداد گزارش گردید. بیشترین گروه مبتلایان در گروه سنی ۲۴-۲۰ سال و ۵۰٪ در گروه سنی ۳۴-۱۵ سال قرار داشتند (نمودار ۲).

نمودار ۲. توزیع سنی بیماران مبتلا به وبا در همه گیری تابستان سال ۱۳۸۴



۵۳٪ از بیماران را زنان و ۴۷٪ را مردان تشکیل می دادند. ۷۹٪ از بیماران ساکن شهر و ۲۱٪ ساکن روستا بودند. از نظر ملیت (۶۸٪/۹۷٪) ایرانی و (۳٪/۲٪) بودند. ۲۶ نفر از کشورهای افغانستان و پاکستان بودند. از لحاظ سروتایپ (۹۹٪/۱۱۰۴) موارد را اینابا و فقط (۱٪/۱۴) موارد سروتایپ اکاوا بودند. ۲۰٪ از بیماران در بیمارستان بستری شدند و ۸۰٪ بطور سرپایی درمان شدند. تعداد موارد مرگ ۱۱ تن گزارش گردید.

بررسی ها نشان داد که راه اصلی انتقال بیماری بر خلاف سال های قبل استفاده از سبزیجاتی بود که با فاضلاب آبیاری می شدند. آزمایش فاضلاب و سبزیجات، آلودگی آنها را به ویبریو کلرا سروتایپ اینابا نشان داد.

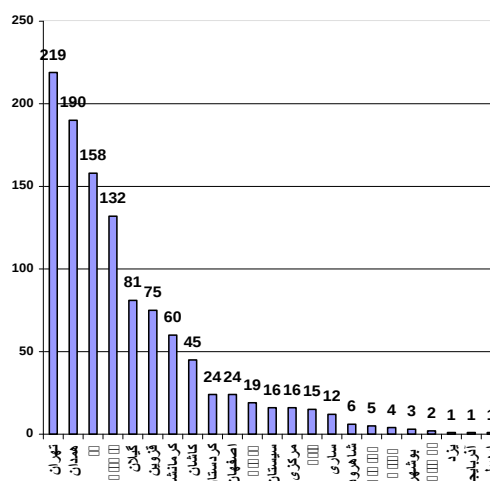
سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی نشان داد که تمامی سویه های جدا شده ۱۰۰٪ نسبت به آنتی بیوتیک های کوتریموکسازول، نالیدیکسیک اسید و فورازولیدون مقاوم بودند و بر عکس تمامی سویه های جدا شده در مقابل آنتی بیوتیک های تتراسیکلین، سیپروفلوکساسین، اریترومايسين و آمپی سیلین حساس بودند. مقاومت آنها در مقابل کلرامفنیکل بینایی بود. با روش E-test حداقل غلظت مهار کنندگی از رشد برای کوتریموکسازول و نالیدیکسیک اسید بیشتر از ۲۵۶ میکروگرم در لیتر بود (مقاوم). حداقل غلظت مهار

دیفیوژن طبق توصیه NCCLS^۱ آنتی بیوگرام شدند. آنتی بیوتیک های مورد سنجش شامل کوتریموکسازول، نالیدیکسیک اسید، فورازولیدون، سیپروفلوکساسین، آمپی سیلین، تتراسیکلین، اریترومايسين و کلرامفنیکل بودند. علاوه بر این حداقل غلظت مهار کنندگی از رشد (MIC) با روش E-Test برای آنتی بیوتیک های کوتریموکسازول، نالیدیکسیک اسید و اریترومايسين انجام گردید. کلیه نتایج با استفاده از جداول NCCLS [۶] تفسیر و گزارش گردید.

یافته ها

در جریان همه گیری تابستان ۱۳۸۴ در مجموع ۱۱۱۸ نفر به بیماری وبا مبتلا شدند. اولین مورد بیماری کودک دو ساله ای بود که از بوشهر گزارش گردید. دومین و سومین مورد بیماری دو نفر تبعه پاکستانی از کنارک چابهار بودند که در اول تیر ماه مبتلا شده بودند. تا تاریخ بیست و دوم شهریور ۱۳۸۴ بیماری از ۲۶ استان کشور گزارش گردید. بیشترین موارد بیماری از استان های تهران، همدان، قم و گلستان به ترتیب با ۲۱۹، ۱۹۰ و ۱۵۰ مورد گزارش گردید (نمودار ۱).

نمودار ۱. تعداد موارد گزارش شده وبا در تابستان ۱۳۸۴ بر اساس استان



¹ National Committee for Clinical Laboratory Standards

کنندگی در مقابل اریترومايسين ۱/۵ میکروگرم در میلی لیتر بود (حساس).

بحث

در همه گیری تابستان ۱۳۸۴ تعداد ۱۱۱۸ مورد بیماری از بیش از ۲۶ استان گزارش گردید. که بیشترین موارد از استان های تهران، همدان، قم و گلستان بودند. اگر چه هر سال تعدادی از موارد بیماری وبا در ایران گزارش می شود ولی همه گیری سال ۱۳۸۴ پس از همه گیری سال ۱۳۷۷ از بزرگترین همه گیری ها بوده است. تفاوت عمده در همه گیری سال ۱۳۸۴ با سال ۱۳۷۷ در نوع سروتایپ شایع بوده است. در سال ۱۳۷۷ سرو تایپ شایع اگاوا بوده است در حالیکه سروتایپ شایع در سال ۱۳۸۴ اینابا بود با توجه به اینکه مواردی از ویبریو کلرا سروتایپ اینابا از فاضلاب جدا گردید به احتمال زیاد در وهله اول منشأ بیماری بواسطه مصرف سبزیجات خامی بوده است که با فاضلاب آبیاری می شدند.

مطالعات متعددی در خصوص شیوع وبا در ایران در سال های گذشته انجام گرفته است. در مطالعه ای که توسط دکتر کرامت و همکارانش در همه گیری وبا در سال ۱۳۷۷ در استان همدان صورت گرفته است ۷۱۸ مورد وبا از این استان گزارش شده است که تمامی موارد گزارش شده بیوتایپ التور و سروتایپ اگاوا بوده است [۷].

در مطالعه ای که در دو سال متوالی ۷۰-۱۳۶۹ در استان خوزستان توسط دکتر کجاف و همکارانش انجام گردیده است. علاوه بر سروتایپ اگاوا، سروتایپ های اینابا و هیکو جیما نیز گزارش شده اند بطوریکه در سال ۱۳۶۹، ۷۸٪ سویه های جدا شده اینابا بوده اند. در مطالعه نامبردگان مقاومت در مقابل آنتی بیوتیک های آمپی سیلین، تتراسیکلین، کوتریموکسازول، اریترومايسين و کلرامفنیکل به ترتیب ۵۶٪، ۴۱٪، ۴۱٪، ۴۱٪ و ۰٪ بوده است [۸].

در یک مطالعه دیگر در همه گیری سال ۱۳۷۷ در تهران که توسط پور شفیع و همکارانش در انستیتو

پاستور صورت گرفته است از ۳۵۰ نمونه مدفوع مورد آزمایش ۱۴۰ ویبریو کلرا جدا گردید که ۱۳۹ سروتایپ از آنها اگاوا و یک سرو تایپ آنها ۱ non-O بود. همچنین محققین برای نمونه های مثبت، تست سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی انجام دادند که بهترین دارو سپروفلوکساسین و بعد از آن جنتامایسین، داکسی سیلین، اریترومايسين و کلرامفنیکل شناخته شدند که به ترتیب میزان مقاومت به آنها ۲/۹٪، ۲/۲٪ و ۸/۶٪ بود، در حالیکه مقاومت سویه های جدا شده نسبت به کوتریموکسازول ۹۸/۶٪، اکسی تتراسیکلین ۸۷/۶٪ و تتراسیکلین ۶۱/۹٪ بود [۱].

در یک بررسی گذشته نگر توسط دکتر خزائی و همکارانش در بین سال های ۸۱-۱۳۷۷ در شهرستان زابل تعداد ۳۶۲ مورد وبا گزارش شده است که ۳۳۶ مورد آنها سروتایپ اگاوا و ۲۶ سویه جدا شده non-O۱ بوده است. از ۳۶۲ مورد وبای بررسی شده در مطالعه محققین ۶۸ مورد از کشور همسایه افغانستان بوده است [۹].

مطالعات انجام شده در سایر کشورها نیز حاکی از افزایش روند مقاومت ویبریو کلرا در مقابل آنتی بیوتیک های رایج دارد، بعنوان مثال در مطالعه انجام شده در هند توسط گارگ^۱ و همکارانش در سال ۱۹۸۹ تمامی سویه های جدا شده ویبریو کلرا در مقابل نالیدیکسیک اسید حساس بوده اند در حالیکه سویه های جدا شده در همه گیری سال ۱۹۹۸ همگی نسبت به این آنتی بیوتیک مقاوم شده بودند [۱۰].

مطالعات صورت گرفته در تانزانیا نشان می دهد که بیش از ۹۰٪ سویه های جدا شده در مقابل کوتریموکسازول مقاوم بوده اند [۱۱]. اخیرا مواردی از مقاومت ویبریو کلرا نسبت به فلوروکینولون ها در بین بیماران بستری شده در بیمارستان از کلکته هند گزارش شده است.

در این مطالعه تمامی سویه ها نسبت به کوتریموکسازول و نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند در حالیکه نسبت به تتراسیکلین حساس بودند. چون نتایج

¹ Garg

مقابل آنتی بیوتیک های کوتریموکسازول، نالیدیکسیک اسید و فورازولیدون مقاوم بودند و بر عکس تمامی سویه های جدا شده در مقابل آنتی بیوتیک های تتراسیکلین، سیپروفلوکساسین، اریترومایسین و آمپی سیلین حساس بودند. داشتن الگوی مقاومت یکسان بیان گر این مطلب می باشد که تمامی سویه ها دارای منشأ یکسانی می باشند.

آنتی بیوگرام تتراسیکلین برای داکسی سیکلین قابل تعمیم می باشد لذا می توان گفت تمامی سویه ها نسبت به این آنتی بیوتیک حساس بودند [۱۲].

نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان می دهد که بر خلاف همه گیری های سال های قبل سویه عامل در همه گیری وبا در سال ۱۳۸۴ اینابا بود. تمامی سویه های جدا شده در

منابع

- ۱- پور شفیع محمد رضا، وحدانی پرویز، سیفی مهناز و همکاران. سنجش مقاومت آنتی بیوتیکی ویبریو کلراهای جدا شده از نمونه های مدفوع در تابستان ۱۳۷۷ در تهران: مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی یزد، سال ۱۳۸۰، دوره ۹، شماره دوم، صفحات ۲۹ تا ۳۳.
- 2-Kaper JB, Morris JG, Levine MM. Cholera. Clin Microbiol Rev 1995 Jan; 8 (1): 48-86.
- ۳- صائبی اسماعیل. بیماریهای عفونی در ایران، چاپ چهارم، تهران: انتشارات مرکز نشر فرهنگی و تحقیقاتی نینوا، سال ۱۳۶۹، صفحات ۵۲۸ تا ۵۳۰.
- 4- Faruque SM, Albert MJ, Mekalanos SS. Epidemiology, genetic, and ecology of toxigenic *Vibrio cholerae*. Microbiol Mol Biol 1998 Dec; 62(4): 1301-14.
- 5- WHO/CDS/CSR/EDC/99.8. Laboratory Methods for the Diagnosis of Epidemic Dysentery and Cholera. CDC, Atlanta, Georgia 1999: pp41-53
- 6- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Performance antimicrobial disk susceptibility tests. 7th ed Wayne PA. NCCLS. 2000. Approved standards n. M2-A7
- ۷- کرامت فریبا، رنجبر میترا، محبوب حسین. بررسی علل، علائم بالینی و آزمایشگاهی بیماران مبتلا به وبا در اپیدمی سال ۱۳۷۷ استان همدان: مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان سال ۱۳۸۲ دوره ۱۰، شماره ۲۹، صفحات ۴۳ تا ۵۰.
- ۸- کجباف محمد جواد، مشهدی زاده محمد علی. مطالعات باکتریولوژیک و اپیدمیولوژی یک بیمار مبتلا به وبا در منطقه خوزستان. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گیلان. سال ۱۳۷۶، دوره ۷، شماره ۲۶-۲۵، صفحات ۶۹ تا ۷۳.
- 9- Khazaei HA, Rezaei N, Bagheri GR, Dankoub MA, Shahryari K, Tahai A and et al. Epidemiology of *Vibrio cholerae* in Zabol City, Southeast of Iran. Archives of Iranian Medicine. 2005; 8: 19 7-201
- 10- Garg P, Nandy RK, Chaudhury P, Chowdhury NR, De K, Ramamurthy T and et al. Emergence of *Vibrio Cholerae* O1 biotype ELTor serotype Inaba from the prevailing O1 Ogawa Serotype strains in India. J Clin Microbiol 2000 Nov; 38(11): 4249-53.
- 11- Urassa WK, Mhando YB, Mhalu FS, Mjonga SJ. Antimicrobial susceptibility pattern of *Vibrio cholerae* O1 strains during two Cholera outbreaks. In: Dar es Salam ,Tanzania. East Afr Med J 2000; 77 (7): 350-3.
- 12- Garg P, Sinha S, Chakraborty R, Bhattacharya SK, Nair GB, Ramamurthy T and et al. Emergence of fluoroquinolone- resistant strains of *Vibrio cholerae* O1 biotype ELTor among hospitalized patients with Cholera in Calcutta, India. Antimicrob Agents Chemother 2001 May; 45(5): 1605-06.