

بررسی باکتریهای مولداسهال در کودکان زیر پنج سال در شهر کرمان

دکتر شهلا منصوری^۱

خلاصه

از مدفع ۳۸۵ کودک زیر پنج سال مبتلا به اسهال، مراجعه کننده به بخش‌های اطفال بیمارستانها و مطب‌های متخصصین کودکان، در طول ماههای خرداد تا اوخر شهریور ماه ۷۲ در شهر کرمان، در ۱۰۶ مورد (۵۳/۲۷٪) باکتریهای بیماریزا جدا گردید. انواع انتروپاتوژنیک اشربیشیاکلی - (*Enteropathogenic Escherichia coli*) (EPEC) معمول‌ترین عامل اسهال‌های باکتریال بود (۴۹٪) و پس از آن شیگل‌فلکسنری (*Shigella flexneri*) (۱۷٪) و کمپیلوباکتر (*Campylobacter*) (۱۲/۳٪) قرار داشتند. در ارتباط با جنس، تفاوت آماری معنی‌داری با بروز بیماری مشاهده نگردید (۰/۰٪ < P). عفونت بیشتر در کودکان زیر یک‌سال دیده شد و در کودکان تغذیه شده با شیر مادر، میزان عفونت باکتریال کمتر بود (۰/۰۵٪ < P). اسیدنالیدیکسیک مؤثرترین آنتی‌بیوتیک بر علیه اکثر باکتریهای بیماریزا جدا شده از مدفع کودکان بود، در حالیکه آمپی‌سیلین و کوتربیکسازول کمترین فعالیت ضد میکروبی را در این موارد نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: اسهال، کودکان، باکتری، کرمان

مقدمه

باکتریها غالباً در فصول گرم سال ایجاد اسهال نموده و میزان بروز انواع مختلف باکتری در مناطق مختلف جغرافیایی متفاوت می‌باشد. در کانادا، افریقای شمالی، نیجریه و برزیل انواع انتروپاتوژنیک اشربیشیاکلی (EPEC) عامل اصلی عفونتها بوده و بیشترین میزان بروز در کودکان زیر یک‌سال گزارش گردیده است (۱۴، ۶، ۴).

در کشور امریکا، سالمونلا عامل اصلی اسهال گزارش شده و

در کشورهای در حال توسعه، ابتلاء به اسهال یکی از علل عمده بیماری و مرگ و میر در کودکان و نوزادان می‌باشد، بطوریکه سالانه ۴ تا ۴/۵ میلیون کودک در اثر ابتلاء به این بیماری از بین می‌رونند (۳، ۴، ۶). بیماری اسهال غالباً از طریق ویروسها، باکتریها و یا انگلها در کودکان ایجاد گردیده و در ۷۵-۵۰ درصد از اسهال‌های حاد، می‌توان عامل بیماری را از مدفع جدا نمود (۳).

قرار داده می شد (۲).

۲- تهیه گستره (smear) و کشت: از نمونه مدفعه گستره مستقیم تهیه می شد و از آنجا که کمپیلوباکترها با روش معمولی گرم (Gram) بخوبی رنگ نمی گیرند، تغییرات لازم در روش رنگ آمیزی جهت بررسی این باکتریها (نظری استفاده از فوشنین بازی به عوض سافرانین بعنوان رنگ نهایی بمدت ۱۰ دقیقه)، داده شد (۲). نمونه مدفعه از محیط گلیسروال فسفات را حداکثر پس از ۳ ساعت بر روی محیط‌های افترacci (Eosin Methyleneg Blue Agar-EMB) و مک کانکی (MacConkey Agar) و محیط انتخابی سالمونولا - شیگلا آگار (Salmonella-Shigella Agar-SS) منتقل نموده و تا صبح روز بعد در ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده و باکتریهای رشد کرده در محیط کشت، بر اساس تستهای بیوشیمیابی شناسایی گردید. تشخیص نهایی EPEC، سالمونولا و شیگلا بوسیله تایپ با آنتی سرمهای مربوطه انجام گرفت (۲). آنتی سرمهای اشريشیا کلی شامل: آنتی سرم پلی والان ۱،۲،۳ ساخت کارخانه Biomerieux آنتی سرمهای سالمونولا شامل آنتی سرم بر علیه سالمونولا تیفی، سالمونولا های پاراتیفی A، B و C ساخت کارخانه فوق الذکر، آنتی سرمهای شیگلا شامل آنتی سرمهای پلی والان ۱،۲،۳ بر علیه شیگلابویدئی و آنتی سرمهای پلی والان بر علیه شیگلافلکسبری، شیگلا دیسانتریا، شیگلا سوئی و الکالی رنس دیسپار می باشد (کارخانه Wellcome). برای تشخیص یرسینیا انتروکولیتیکا (Yersinia enterocolitica) از روش غنی‌سازی در ۴ درجه سانتیگراد استفاده گردید، بدین ترتیب که محیط انتقالی گلیسروال فسفات در یخچال نگهداری شده و بطور مرتب هفت‌های یکبار بمدت سه هفته در محیط SS کشت داده می شد و از تستهای بیوشیمیائی و حرکت در ۲۵ درجه سانتیگراد (عدم حرکت در ۳۷ درجه سانتیگراد) جهت تشخیص نهایی این باکتری استفاده گردید (۲).

جهت جداسازی گونه‌های کمپیلوباکتر، فیلتر غشائی با منفذ ۶۵/۰ میکرون (Sartorius membranefilter GmbH) را روی محیط کشت بروسل‌آگار حاوی ۵٪ خون گوسفند قرار دادیم. نمونه مدفعه را بطور مستقیم و یا در صورت لزوم پس از رفیق کردن با سرم فیزیولوژی، حداکثر تا ۵ ساعت پس از نمونه گیری روی فیلتر گذاشتیم. فیلتر را بعد از ۳۰ دقیقه از روی محیط کشت برداشته و پلیتها را درون جاربی‌هوازی فاقد کاتالیزور، در گرگمانه با حرارت ۴۲ درجه سانتیگراد قرار دادیم. در صورت رشد باکتری روی محیط مزبور پس از ۴۸ تا ۷۲ ساعت، از

میزان بروز بیماری بیشتر در کودکان زیر ۶ ماه بوده است. پس از سالمونولا، عوامل اسهال به ترتیب شیگلا، کمپیلوباکتر و اشريشیا کلی گزارش گردیده‌اند (۳).

در انگلستان عامل مهم اسهال در کودکان ۲ تا ۳ ساله به ترتیب عفونت با کمپیلوباکتر، سالمونلاتیفی موریم (Salmonella typhimurium) و سایر سالمونلاهای با منشاء حیوانی و شیگلاسونی (S. sonnei) می‌باشد (۲).

در مطالعات انجام شده در کشور چین شایعترین پاتوژن شناخته شده در کودکان و نوزادان مبتلا به اسهال، اشريشیا کلی انتروتوکسین (Enterotoxigenic E. coli-ETEC) گزارش شده و تابستان به عنوان شایعترین فصل ابتلاء ذکر گردیده است. در این کشور سالمونلاها دومین عامل بروز اسهال بوده‌اند (۷).

در تهران، مهاجر و همکاران در سال ۱۳۶۱ اشريشیا کلی‌های مولد اسهال، بخصوص انواع انتروتوکسین و مولد توکسین مقاوم به حرارت (st) heat-stable enterotoxin (st) را بعنوان شایعترین عامل اسهال در کودکان معروف نموده‌اند (۱۱). انواع EPEC، بعنوان مهمترین عامل اسهال در سال ۱۳۶۶ در شهرهای تهران، سندج و بندرعباس گزارش شده و درصد ابتلاء با باکتری مزبور در این شهرها به ترتیب ۷/۱، ۲۶/۱ و ۲۰/۱ و ۳۱/۱ می‌باشد (۸،۹). تقریباً در همین زمان، ولایت و همکاران میزان ابتلاء به انواع EPEC را برابر با ۹/۹٪ یعنی بسیار کمتر از یافته‌های قبلی گزارش نموده‌اند (۱۵). دومین عامل اسهال در تهران سالمونلا و در سندج شیگلا گزارش شده است (۸).

در این مطالعه برخی عوامل باکتریال مولد اسهال در کودکان زیر ۵ سال در شهر کرمان برسی شده و اطلاعات جنبی مانند ارتباط تقدیمه، سن و یا جنس نوزادان با بروز بیماری نیز، مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش کار

۱- جمع آوری نمونه: نمونه‌های مدفعه ۳۸۵ نفر از کودکان و نوزادان مبتلا به اسهال مراجعه کننده به مطب تعدادی از پزشکان اطفال و بیمارستانهای دارای بخش اطفال در شهر کرمان، از اول خرداد تا اوخر شهریور ۱۳۷۲ جمع آوری گردید. در اکثر موارد نمونه مدفعه در ظروف پلاستیکی درب دار مخصوص جمع آوری شد، ولی در مواردی که تهیه نمونه از نوزادان در زمان مراجعه امکان پذیر نبود، نمونه گیری از طریق گرفتن سواب رکتال انجام گردید. نمونه‌های سواب رکتال و سواب تهیه شده از نمونه مدفعه، بلا فاصله در محیط انتقالی گلیسروال فسفات pH=۷/۲

جدا گردید.

اشریشیا^اکلی انتروپاتوژن معمولترین عامل اسهال در شیرخواران بوده و پس از آن به ترتیب شیگلافلکسزی و کمپلوباکتر قرار دارند (جدول ۱).

جدول ۱- انواع باکتریهای مولد اسهال جدا شده از مدفع ۳۸۵ کودک زیر پنج سال و مقایسه شیوع بیماری در پسرها و دخترها.

جمع (درصد)	تعداد (%) کودکان آلوده		نوع ارگانیزم جدا شده
	پسر	دختر	
۲۱۰۹۴	۳۶۴۴	۱۶۱۵	اشریشیا ^ا کلی انتروپاتوژن
۱۸۱۷	۱۱۱۰۴	۷۱۱	شیگلافلکسزی
۷۷۴	۴۲۷	۴۳۷	شیگلا بودنی
۴۲۷	۱۰۹	۲۱۸	شیگلا شی
۱۰۹	۱۰۹	-	شیگلا دیستزی
۲۱۱۸	۱۰۹	۱۰۹	مالتوزلاتاریتی C
۱۳۱۲۲	۶۵۶	۷۵۶	کیلوباکتر
۱۰۹	-	۱۰۹	ابروزمناس
۶۵۶	۲۲۸	۳۲۸	ادواردیلا - فاردا
۲۱۱۸	۱۰۹	۱۰۹	بریستیا انتروکولیتیکا
۱۰۶۱۰۰	۱۴۱۰۴	۴۲۳۹۶	جمع کل

از مجموع ۱۵۹ دختر و ۲۲۶ پسر مورد مطالعه، ۴۲ دختر و ۶۴ پسر از نظر باکتری بیماریزا، مثبت بودند.

میزان بروز اسهال چه بصورت باکتریال و چه بصورت غیر باکتریال، در کودکانی که با شیر مادر تغذیه می شدند از نظر آماری به طور معنی داری کمتر از کودکانی بوده است که با شیر مادر تغذیه نمی شدند ($P < 0.01$ ، $t = 2.83$ و $df = 1$). لیکن در مورد جنس کودکان، گرچه موارد ابتلاء در پسرها بیشتر دیده شد، ولی اختلاف مزبور از نظر آماری معنی دار نبود.

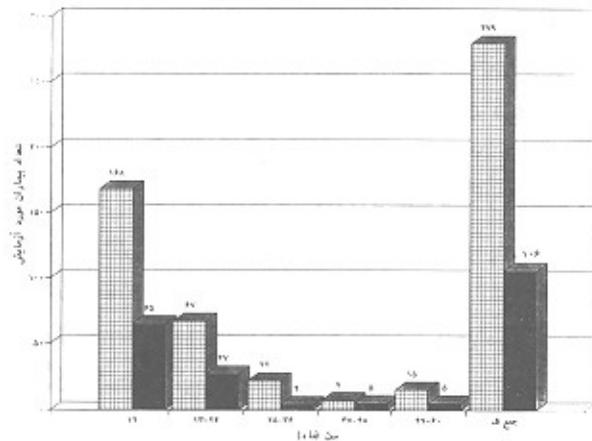
حساسیت باکتریهای جدا شده از مدفع بیماران در جدول شماره ۲ گزارش گردیده است. از میان آنتی بیوتیکهای مصرفی، اسیدنالیدیکسیک مؤثرترین داروی ضد میکروبی بود؛ بخصوص اشریشیا^اکلی های انتروپاتوژن بیشترین حساسیت را نسبت به این دارو نشان دادند. در مورد شیگلافلکسزی، مؤثرترین دارو جنتامایسین بود و پس از آن، اسیدنالیدیکسیک و سفالوئین قرار گرفتند.

کلشی های رشد کرده گسترده تهیه نموده و از تستهای کاتالاز و اکسیداز جهت تشخیص این باکتری استفاده نمودیم (۳). حساسیت باکتریها نسبت به آنتی بیوتیکها با استفاده از روش دیسک دیفیوژن و مطابق با تکنیک Kirby-Bauer انجام گرفت (۱۲). بجز دیسکهای آمپی سیلین و اسیدنالیدیکسیک که از شرکت ابوریحان تهیه گردیده بود، مابقی دیسکهای مصرفی ساخت شرکت پادتن طب بودند (جدول شماره ۳).

نتایج

از میان ۳۸۵ کودک زیر پنج سال مبتلا به اسهال، ۲۳۳ (۶۰٪) بیمار زیر یک سال بودند و باکتریهای بیماریزا تیز بیشتر از این گروه جدا گردید (نمودار شماره ۱).

نمودار شماره ۱- ارتباط میان ابتلاء به اسهال باکتریال و سن کودکان



کودکان مبتلا به اسهال که از مدفع آنها باکتری بیماریزا جدا شده.

کودکان مبتلا به اسهال که از مدفع آنها باکتری بیماریزا جدا نشده.

در این بررسی، جمعاً در ۱۰۶ (۲۷٪) مورد، باکتری بیماریزا از کشت مدفوع کودکان جدا گردید. ۳۴٪ کودکان مورد آزمایش ۱۳۲ کودک از مجموع ۳۸۵ کودک مبتلا به اسهال، پس از درمان اولیه با آنتی بیوتیکها و عدم بهبودی، مجدداً به پزشک مراجعه کرده بودند. بیشترین آنتی بیوتیک تجویز شده در درجه اول آمپی سیلین (۹۴ مورد) و در مرتبه دوم کوتربی موکسازول (۱۵ مورد) بوده است که با وجود مصرف آنتی بیوتیک، از مدفع کودکان مزبور ۴۳ مورد باکتری بیماریزا

جدول ۲ - بررسی حساسیت باکتریهای جدا شده نسبت به مواد ضد میکروبی.

باکتری جدا شده (تعداد موارد)	اسیدنالیدیکسیک تعداد (%)	آمپی سیلین تعداد (%)	جستامايسین تعداد (%)	کوتری موکسازول تعداد (%)	سفالوتوین تعداد (%)	کلرامفینیکل تعداد (%)
اُسربیا کلی انتروپاتوژن (۵۲)	۴۸(۹۲/۳)	۲(۲/۸)	۱۸(۳۴/۶)	۲(۵/۷)	۱۷(۳۲/۷)	۱۵(۲۰/۸)
شیگلافلکسیزی (۱۸)	۱۳(۷۲)	۴(۱۶/۶)	۱۴(۷۷/۷)	۲(۱۱)	۱۳(۷۷)	۴(۲۲/۲)
کپیلو باکتر (۱۳)	۹(۶۲/۳)	**	۷(۵۲/۸)	**	**	**
سایر باکتریهای جدا شده*	۱۵(۶۵)	۳(۱۲)	۱۲(۵۶)	۱(۴/۳)	۹(۳۹)	۸(۴۴/۷)

* سایر باکتری های جدا شده، شامل نمونه هایی می شود که تعداد موارد مثبت آنها از ۱۰ نفر کمتر بوده است (جدول شماره ۱).

* حساسیت کپیلو باکترها نسبت به این آنتی بیوتیک ها بررسی شده است. حساسیت کپیلو باکترها در عرض نسبت به اریترومايسین و توبرامايسین بررسی شده که در فصل شایع ذکر گردید.

بررسینیا انتروکولیتیکا، مجدداً از نظر وجود سالمونولا و شیگلا بررسی شدند. سالمونولاها نیز نسبت به سرما مقاوم می باشند؛ از این جهت احتمال اینکه وجود سالمونولا در نمونه ها تشخیص داده شده باشد غیر محتمل است. بعلاوه در تحقیقاتی که در رفسنجان (در فاصله ۱۱۰ کیلومتری کرمان) نیز انجام گرفته، از ۱۱۵ بیمار مورد آزمایش، عفونت با سالمونولاها گزارش نشده و اشريشیا کلی انتروپاتوژن و شیگلافلکسیزی به ترتیب اولین و دومین عامل مولد اسهال بوده اند (۱).

در بررسی حاضر، میزان بروز بیماری در کودکان تعذیه شده با شیر مادر کمتر از سایر کودکان می باشد. مطالعات زیادی نقش شیر مادر را در محافظت نوزادان در برابر عفونتها نشان داده است (۱۰). علاوه بر نقش محافظت کننده شیر مادر، عواملی نظر روش تهیه شیرهای خشک و یا سایر شیرهای جایگزین شیر مادر، تمیز نکردن صحیح شیشه های شیر، استفاده از آبهای نجوشیده و غیره می توانند در زمرة عوامل ایجاد اسهال در این کودکان باشند. بنابراین نقش محافظت کننده شیر مادر با توجه به فاکتورهای متعدد مؤثر احتیاج به پژوهش بیشتری دارد.

جالب اینکه، آمپی سیلین و کوتری موکسازول که داروهای انتخابی در درمان عفونتها شیگلانی می باشند (۱۲)، اثر ضد میکروبی بسیار اندکی بر علیه شیگلانها و سایر باکتریهای جدا شده از مدفوع کودکان در این تحقیق داشته اند و مقاومت توأم نسبت به این دو آنتی بیوتیک، در میان بسیاری از باکتریهای جدا شده در

در مورد کپیلو باکترها مؤثر ترین داروهای به ترتیب اریترومايسین (۹۵٪)، اسیدنالیدیکسیک (۶۲/۳٪)، جستامايسین (۵۶٪) و توبرامايسین (۴۶٪) بوده اند.

بحث و نتیجه گیری

اسهال هنوز یکی از عوامل مهم مرگ و میر کودکان در کشورهای در حال توسعه می باشد. در این مطالعه جمعاً از مدفوع ۵/۲۷٪ کودکان مورد مطالعه باکتریهای بیماری زا جدا گردید که بیشترین تعداد بیماران در میان کودکان زیر یک سال بود (نمودار شماره ۱).

اشريشیا کلی انتروپاتوژن، فراوانترین عامل مولد بیماری بوده، بطوریکه ۴۹٪ موارد مثبت مربوط به این باکتری می باشد. لازم به ذکر است که در این مطالعه بدليل عدم وجود امکانات لازم، متأسفانه بررسی انواع دیگر اشريشیا کلی مولد اسهال نظیر انواع انترو توکسین که بعنوان دومین عامل مولد اسهال در تهران و سنترج گزارش شده، میسر نگردید (۸).

شیگلافلکسیزی دومین عامل اسهال کودکان مبتلا در این شهر، در سایر کشورهای در حال توسعه نیز از سایر انواع شیگلا معمولتر می باشد (۵).

مسئله مهمی که در این بررسی مشخص گردید، میزان بسیار کم عفونتها سالمونلایی بود. در این تحقیق، نمونه های نگهداری شده در محیط فضلات با فر در یخچال هر هفته علاوه بر بررسی

در مورد درمان عفونتهای اسهالی باید توجه نمود که مصرف آنتی بیوتیکها در درمان تمامی عفونتهای باکتریال ضروری نبوده و علاوه بر آن نقشی در درمان عفونتهای ناشی از ویروس یا انگل ندارد.

در بسیاری از موارد جایگزینی آب والکتروولیتها برای درمان کافی می باشد و با توجه به مقاومت اکتسایی باکتریها نسبت به آنتی بیوتیکها از طریق پلاسمید، بهتر است پس از تشخیص عفونت باکتریایی، درمان را مطابق با شرایط بیمار و در صورت لزوم برآسانس تستهای آنتی بیوگرام شروع نمود.

این مطالعه دیده شد. در مقابل، اسید نالیدیکسیک مؤثرترین دارو بر علیه اکتریت باکتریهای بیماریزای جدا شده از مدفوع کودکان بود (جدول شماره ۲). این آنتی بیوتیک گرچه بعنوان ضد عفونی کننده ادراری مورد استفاده قرار می گیرد، لیکن بر علیه بیشتر باکتریهای گرم منفی مؤثر بوده و مطالعات کلینیکی نشان داده است که این دارو در درمان عفونتهای دیگر نیز مؤثر می باشد (۱۳). در مورد شیگلاها در صورتی که سوش مورد نظر نسبت به آمپی سیلین و کوتربیوموکسازول مقاوم باشد، نالیدیکسیک اسید برای درمان پیشنهاد گردیده است (۱۲).

Summary

Bacterial Causes of Diarrhoea in Kermanian Children Under Five Years Old

SH. Mansouri, PhD¹

1. Assistant Professor of Microbiology, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran

Pathogenic bacteria were isolated from 106 diarrhoeal patients (27.53%), out of 385 children under the age of five admitted to pediatric clinics and departments in Kerman, during June to March 1992. Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) was the most common cause of bacterial diarrhea (49%) followed by Sh.flexneri (17%) and Campylobacter spp (12.3%). No significant difference was observed in respect to sex ($P<0.3$), but most of the infections were found in infants under 1 year old. Breast feeding appeared to have a protective effect in these infants. Antimicrobial susceptibility test showed that nalidixic acid was the most effective drug against all pathogenic bacterial isolates, whereas ampicillin and co-trimoxazole had very little activity.

Journal of Kerman University of Medical Sciences 1994;1:108-113

Key Words: *Diarrhoea, Children, Bacteria, Kerman*

References

- ۱-محسنی مقدم، فاطمه: بررسی عوامل باکتریال و انگلی مولد اسهال در نوزادان و کودکان تا ۵ سال در شهرستان رفسنجان. پایان نامه تحصیلی دانشکده پزشکی دانشگاه کرمان، ۱۳۷۱، ۱۳۷۱، ص ۴۶-۶۲.
2. Baron EJ, Finegold SM, (ed): Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 8th ed. St Louis C V Mosby Co, 1990;pp171-444.
3. Cohen MB: Etiology and mechanisms of acute infectious diarrhea in infants in the United States. *Pediatr Infect Dis J* 1991;118:S34-S43.
4. Cravito A, Reyes RE, et al: Risk of diarrhea during the first year of life associated with and subsequent colonization by specific enteropathogens. *Am J Epidemiol* 1990;

- 131:886-894.
5. Ferreccia C, Peado V, et al : Epidemiologic patterns of acute diarrhoea and endemic Shigella infections in children in a poor periurban setting in Santiago, Chile. *Am J Epidemiol* 1991;134:614-628.
 6. Glass R, Lew SF, et al : Estimates of morbidity and mortality rates for diarrhoeal disease in American children. *Pediatr Infect Dis J* 1991;118:S27-S34.
 7. Kain CK, Barteluk RL, et al : Etiology of childhood diarrhoea in Beijing China. *J Clin Microbiol* 1991;29:90-95.
 8. Katouli M, Jaafari A, et al : Aetiological studies of diarrhoeal diseases in infants and young children in Iran. *J Tropic Med & Hyg* 1990;93:22-27.
 9. Katouli M, Jaafari A, et al : The role of diarrhoeagenic Escherichia coli in acute diarrhoeal disease in Bandar-Abbas, Iran. *J Med Microbiol* 1988;27:71-74.
 10. Megraud F, Boudraa G, et al : Incidence of Campylobacter infection in infants in Western Algeria and the possible protective role of breast feeding. *Epidemiol Infect* 1990;105:73-78.
 11. Mohadjer S, Bidanjiri, et al : The first report of the isolation of enterotoxigenic Escherichia coli as a cause of infantile diarrhoea in Iran. *Iranian J public Health* 1982;11:77-78.
 12. Pickering LK : Therapy for acute infectious diarrhoea in children. *Pediatr Infect Dis J* 1991;118:S118-S128.
 13. Tilton RC, Howard BJ : Antimicrobial susceptibility testing: In clinical and pathogenic microbiology. St Louis, The C.V. Mosby Co, 1987:pp121-156.
 14. Toledo RF, Alvarisa MS, et al : Enteropathogenic E.coli serotype and endemic diarrhoea in infants. *Infect Immun* 1983; 39:586-589.
 15. Velayti AA, Ghazi-Saidi K, et al : Study of Salmonella, Shigella, and enteropathogenic Escherichia coli serotypes in acute gastroenteritis in children under the age of five. *Med J Islamic Rep Iran* 1987;1:22-26.