

## تعیین نرخ ناقلین استرپتوکوک، MIC، MBC پنی‌سیلین و بررسی شیوع گلو درد چرکی در استان چهارمحال و بختیاری

دکتر حبیب‌اله یداله‌هی

### چکیده:

تشخیص فوری و درمان مناسب گلو درد چرکی به منظور جلوگیری از عارضه خطرناک آن یعنی تب رماتیسمی بسیار مهم است. هدف اصلی این طرح تحقیقاتی شناسایی استرپتوکوکهای بتاهمولیتیک A ( $\beta$ HA) (Streptococcus - Beta - Hemolytic A) در استان چهارمحال و بختیاری و در قالب طرح ملی پیشگیری اولیه از تب رماتیسمی (Primary Prevention of Acute Rheumatic Fever) بود. قسمت اول تحقیق به روش توصیفی - مقطعی و به صورت نمونه‌گیری تصادفی انجام شد. حجم نمونه بیش از یک هزار دانش‌آموز و بیمار ۵-۱۵ ساله از سراسر استان برای تعیین نرخ ناقلین سالم و شیوع گلو درد چرکی بوده است. در قسمت دوم تحقیق به روش تجربی - مداخله‌ای و با استفاده از پنی‌سیلین انجام شد که برای استرپتوکوک  $\beta$ HA موجود در گلو بیماریاران و ناقلین سالم حداقل دوز مهارکننده رشد باکتری (Minimum Inhibitory Concentration = MIC) و حداقل دوز کشنده باکتری (Minimum Bactericidal Concentration = MBC) برای پنی‌سیلین تعیین گردید. مقادیر مزبور در سوبه‌های مختلف متفاوت بود و غلظت MIC از ۳/۸۵ الی ۰/۰۳ و غلظت MBC از ۱۲۵ الی ۰/۰۶۰ واحد در میلی‌لیتر تعیین گردید. بر اساس یافته‌های تحقیق ۲۰ درصد گلو دردها از نوع چرکی استرپتوکوکی و نرخ ناقلین سالم ۴/۷ درصد بود. MIC و MBC پنی‌سیلین در این پژوهش بیانگر بروز موارد مقاوم (resistant) و نیمه مقاوم (tolerant) استرپتوکوک در مقابل پنی‌سیلین می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: استرپتوکوک، نرخ ناقلین، تب رماتیسمی، MIC، MBC، پنی‌سیلین، گلو درد.

### مقدمه:

ارتباط بین گلو درد چرکی و تب رماتیسمی حاد به عنوان شایع‌ترین علت بیماریهای اکتسابی قلب مسلم و غیر قابل انکار است (۱،۹،۱۲). اهمیت عمده گلو دردهای چرکی به خاطر عوارض غیر چرکی آن یعنی تب رماتیسمی، بیماریهای رماتیسمال قلب و گلو مرونفریت بعد از عفونت استرپتوکوکی PSAGN

ارتباط بین گلو درد چرکی و تب رماتیسمی حاد به عنوان شایع‌ترین علت بیماریهای اکتسابی قلب مسلم و غیر قابل انکار است (۱،۹،۱۲). اهمیت عمده گلو دردهای چرکی به خاطر عوارض غیر چرکی آن یعنی تب رماتیسمی، بیماریهای رماتیسمال قلب و گلو مرونفریت بعد از عفونت استرپتوکوکی PSAGN

هدف کلی این تحقیق پیشگیری اولیه از تب رماتیسمی (PPORF) و شناسایی استرپتوکوکهای  $\beta$ HA

## گلو درد استرپتوکوکی، ناقلین، پنی‌سیلین

موجود در استان می‌باشد و در صدد است تا موارد زیر را تعیین کند.

۱- تعیین شیوع گلو درد چرکی با  $S\beta HA$  در بین کل موارد مبتلا به گلو درد در سن شیوع بیماری.

۲- تعیین میزان حساسیت (sensitivity) و مقاومت (tolerance) استرپتوکوکهای  $\beta HA$  موجود در استان به پنی‌سیلین.

۳- تعیین حداقل دوز کشنده باکتری (MBC) و حداقل دوز وقفه دهنده رشد باکتری (MIC) برای پنی‌سیلین.

۴- تعیین درصد موارد مقاوم (resistant) و نیمه مقاوم (tolerant) استرپتوکوک به پنی‌سیلین.

۵- تعیین نرخ ناقلین سالم (healthy - carrier - rate) استرپتوکوک  $\beta HA$ .

بر اساس نتایج به دست آمده شیوع گلو درد چرکی با  $S\beta HA$  در بین کل نمونه‌ها تقریباً ۲۰ درصد بوده است. MIC و MBC پنی‌سیلین برای  $S\beta HA$  حاکی از این است که تقریباً ۱۵ درصد استرپتوکوکها به پنی‌سیلین مقاوم و ۱۱ درصد نیمه مقاوم می‌باشند. نرخ ناقلین سالم میکروب در محدوده سنی شیوع گلو درد در حدود ۴/۷ درصد بود.

## مواد و روشها:

روش تحقیق در قسمت اول توصیفی - مقطعی (cross - sectional) و به صورت نمونه‌گیری غیر انتخابی یا تصادفی (simple random sampling) بود و بدینوسیله شیوع گلو درد چرکی استرپتوکوکی و نرخ ناقلین تعیین گردید. در قسمت دوم طرح برای تعیین MIC و MBC پنی‌سیلین از روش تحقیق تجربی - مداخله‌ای استفاده شد.

از گلوی ۱۳۰ بیمار در محدوده سنی ۱۵-۵ سال که با شکایت گلو درد مراجعه کرده بودند با سواب خشک استریل نمونه برداری شد. سواب آغشته به ترشحات گلو در محیط ناقل استریل (transport medium) قرار

گرفت و به آزمایشگاه مخصوص طرح ارسال گردید. کشت نمونه‌های ارسالی در محیط کشت بلاد آگار انجام و کلنی‌های میکروبی حاوی بتا همولیز جدا و پس از تأیید با لام مستقیم، از آنها در محیط کشت بلاد آگار حاوی دیسکهای تاکسو (SXT، باستیراسین و اپتوکین) کشت مجدد انجام شد. نمونه‌ها بر روی محیط مخصوص جهت آنتی بیوگرام پاساژ داده شد. تشخیص حساسیت یا مقاومت کلنی‌های مزبور و جدا سازی گروه A استرپتوکوک به کمک دیسک متد و با دیسک پنی‌سیلین انجام شد. همچنین تعیین حساسیت یا مقاومت نسبی (tolerance) یا مقاومت کامل کلنی‌های مزبور به دیسکهای آنتی بیوتیکی رایج مثل پنی‌سیلین به روش دیسک متد و همچنین پاساژ نمونه‌ها و تهیه رقت سریال پنی‌سیلین به منظور تعیین MIC و MBC آن انجام گردید. سپس نمونه‌ها ثبت شده و سایر فلور باکتریال پاتوژن موجود در نمونه‌ها جدا گردید. طبق تعریف حساسیت میکروب به پنی‌سیلین به روش دیسک، ایجاد منطقه ممانعت از رشد به قطر برابر ۱۱ میلی متر و تولرانس برابر با ۱۰ میلی متر و مقاومت میکروبی کمتر از ۱۰ میلی متر می‌باشد.

جهت تعیین MIC و MBC بدین گونه عمل شد. ابتدا محلول استوک آنتی بیوتیک پنی‌سیلین با غلظت U/ml ۱۰۰۰۰ تهیه شد. سپس به ۳/۶ ml محیط کشت BHI (Brain heart infusion agar) مقدار ۰/۴ ml از استوک فوق افزوده شد. لذا غلظت آنتی بیوتیک موجود در لوله اول معادل ۱۰۰۰ واحد در میلی لیتر (U/ml) تعیین گردید. بعداً از این لوله رقت‌های متوالی با نسبت ۱/۴ تا هیجده لوله تهیه گردید که مقدار آنتی بیوتیک موجود در لوله‌ها از U/ml ۱۰۰۰ در لوله اول تا U/ml ۰/۰۰۷ در لوله هیجدهم متغیر می‌باشد. سپس به هر لوله ۰/۱ ml از کشت ۱۸ ساعته باکتری ایزوله شده در محیط مایع افزوده شد. پس از نگهداری تمامی نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در محیط مخصوص با دمای  $37^{\circ}C$ ، آخرین لوله

MIC به دست آمده از ۲۷ مورد گلو درد چرکی با  $S\beta HA$  در جدول شماره ۱ درج گردیده است. سپس جهت تعیین MBC تا چند لوله قبل از لوله MIC را در محیط جامد فاقد آنتی بیوتیک پاساژ داده شد. لوله‌ای که در آن هیچ کلنی میکروبی مشاهده نگردید، به عنوان MBC پنی سیلین برای استرپتوکوک منظور شد. مقدار MBC متفاوت و از ۱۲۵ الی ۰/۰۶۰ U/ml واحد در میلی لیتر متغیر بود.

برای تعیین نرخ ناقلین طی ۸ مرحله، نمونه برداری از گلوی حدود ۹۲۱ دانش آموز ابتدایی و راهنمایی در مناطق مختلف استان انجام شد. که از این تعداد ۱۷۶ مورد استرپتوکوک  $\beta H$  جدا گردید که با روش لام مستقیم و تست کاتالاز منفی تأیید شد. سپس با پاساژ مجدد بر روی BA، کلنی مجزا به دست آمد که با استفاده از دیسکهای تاکسو و باستیراسین تعداد ۴۳ مورد  $S\beta HA$  جدا و برای ناقلین هم MIC و MBC پنی سیلین تعیین شد.

#### بحث:

بر اساس نتایج این پژوهش شیوع گلو درد چرکی  $S\beta HA$  نسبت به کل موارد مبتلا به گلو درد ۲۰ درصد، نرخ ناقلین سالم استرپتوکوک  $\beta HA$  در سنین شیوع بیماری گلودرد ۴/۷ درصد به دست آمد همچنین شیوع بیماری در هر دو جنس یکسان بوده است. MIC و MBC پنی سیلین برای استرپتوکوک  $\beta HA$  در مبتلایان به گلو درد و ناقلین باکتری تعیین شد. طبق یافته‌های موجود ۱۵ درصد استرپتوکوکهای  $\beta HA$  مقاوم به پنی سیلین و ۱۱ درصد نیمه مقاوم بودند.

گلو درد چرکی یکی از شایع‌ترین انواع عفونتها در کودکان ۵-۱۵ سال می‌باشد (۹). در بررسیهای انجام شده توسط مراکز دیگر و مندرجات کتب مرجع در حدود ۲۰-۱۵ درصد گلو دردها از نوع چرکی استرپتوکوکی هستند (۲، ۳، ۷، ۹) که با یافته‌های این طرح مطابقت دارد. این بیماری در ماههای سرد سال و در

فاقد کدورت به عنوان MIC پنی سیلین برای استرپتوکوک در نظر گرفته شد.

#### نتایج:

در بین ۱۳۰ مورد مبتلا به گلو درد که نمونه برداری شده‌اند، نتایج میکرب شناسی نشان می‌دهد که موارد مثبت استرپتوکوک ۸۱ مورد بوده که ۶۲/۳۰ درصد کل موارد را شامل می‌شود. موارد مثبت از نظر استرپتوکوک بتاهمولیتیک ۵۱ مورد بوده که ۳۹/۲۰ درصد کل موارد را تشکیل می‌دهد. در این میان سهم  $S\beta HA$  از کل موارد گلو درد ۲۷ مورد و برابر با ۲۰/۷۷ درصد بوده است. بنابراین شیوع گلو درد چرکی با  $S\beta HA$  در بین کل نمونه‌ها تقریباً ۲۰ درصد، موارد مقاوم به پنی سیلین ۴ مورد و تقریباً معادل ۱۵ درصد از استرپتوکوکهای  $\beta HA$  و موارد نیمه مقاوم (tolerant) به پنی سیلین ۳ مورد و تقریباً معادل ۱۱ درصد و نرخ ناقلین سالم  $S\beta HA$  در محدوده سنی ۷-۱۵ سال در حدود ۴/۷ درصد به دست آمد. از نظر شیوع جنسی ۵۲ درصد دختران و ۴۸ درصد پسران مورد گلو درد استرپتوکوکی را شامل می‌شدند. لذا اختلاف معنی داری از نظر شیوع جنسی بیماری وجود نداشت.

جدول شماره ۱: مقادیر MIC به دست آمده از ۲۷ نمونه مثبت استرپتوکوک گروه A

غلظت MIC (U/ml)	تعداد موارد
۳۱/۸۵	۱
۱۵/۶۰	۲
۷/۸۰	۱
۱/۹۵	۷
۰/۹۸۰	۴
۰/۴۹۰	۷
۰/۲۴۵	۲
۰/۱۲۰	۱
۰/۰۳۰	۲

جاهای شلوغ و پر جمعیت از شیوع بیشتری برخوردار است (۱۰،۸).

ناقلین سالم که در این پژوهش ۴/۷ درصد جمعیت مورد مطالعه را تشکیل می دهند، نقش مهمی در گسترش (seeding) باکتری در سطح جامعه دارند.

Bach و همکارانش نقش ناقلین و موارد بدون علامت بیماری (subclinical) را در گسترش بیماری گلو درد چرکی و عوارض آن یعنی تب رماتیسمی حاد و گلومرولونفریت بسیار مهم می دانند (۳).

شاید یکی از عوامل مؤثر در عدم ریشه کن شدن استرپتوکوک از گلوئی بیماران و تبدیل آنها به ناقلین، سوش باکتری و عدم حساسیت آن به دارو و پیدایش موارد مقاوم و نیمه مقاوم استرپتوکوک به پنی سیلین به عنوان داروی انتخابی در درمان گلو درد چرکی باشد (۱۱،۶). نتایج این تحقیق نشان می دهد که شیوع موارد مقاوم و نیمه مقاوم باکتری به پنی سیلین قابل توجه می باشد. به دنبال کشف پنی سیلین در درمان گلو درد چرکی و پیشگیری از عوارض خطرناک آن یعنی تب رماتیسمی و گلومرولونفریت انفلابی به وجود آمد، به طوری که تا قبل از دهه ۱۹۸۰ کاهش چشمگیری در تعداد مبتلایان مشاهده گردید (۹،۸،۲). مطالعه Fabecic-Sabadi و همکارانش نشان می دهد که در فواصل سالهای ۱۹۵۵-۸۵ تعداد مبتلایان بستری شده در بیمارستان به علت تب رماتیسمی حاد کاهش چشمگیری یافته اند (۸). اما نتایج مطالعه Bronze و همکاران در سال ۱۹۹۶ نشان می دهد که عفونتهای استرپتوکوکی  $\beta$ HA و تب رماتیسمی در طی دو دهه گذشته مجدداً مشاهده شده است (۴).

شعله ور شدن مجدد (reemergence flare up) تب رماتیسمی حاد و شیوع فزاینده گلو دردهای چرکی استرپتوکوکی اکنون به عنوان یک معضل بهداشتی در کشورهای توسعه یافته دنیا مطرح است (۷،۴،۱). شیوع مجدد تب رماتیسمی حاد به دنبال کاهش چشم گیر آن

بعد از کشف پنی سیلین به چه معنی است؟ و چگونه می توان این پدیده را توجیه کرد؟ در این مطالعه به موارد مقاوم و نیمه مقاوم  $S\beta$ HA برخورد کرده ایم. اگر چه این یافته ها از ارزش والای پنی سیلین به عنوان درمان انتخابی (drug of choice) گلو دردهای چرکی و بهترین روش پیشگیری اولیه از تب رماتیسمی حاد (۶) نمی کاهد اما مسئله شعله ور شدن مجدد تب رماتیسمی حاد و گزارش موارد مقاوم و نیمه مقاوم استرپتوکوک به پنی سیلین تا چه حد می تواند با هم مرتبط باشد؟ سؤالی است که باید با بررسیهای بیشتر در این زمینه به آن پاسخ داد. همچنین باید اقداماتی جهت شناسایی ناقلین سالم و ریشه کنی استرپتوکوک از گلوئی این بیماران و نیز جلوگیری از تبدیل شدن بیمار به ناقل میکروب به عمل آید (۱۱،۶). سن شیوع تب رماتیسمی حاد مشابه سن شیوع گلو دردهای چرکی استرپتوکوکی است (۹،۷) در این یافته ها، تفاوت چندانی بین دو جنس از نظر ابتلا به گلو درد چرکی وجود ندارد و جنس پارامتر تعیین کننده ای در شیوع بیماری نمی باشد. سن شیوع گلو دردهای چرکی و بالطبع عوارض غیر چرکی آن چون تب رماتیسمی در اکثر مراجع ۵-۱۵ سال ذکر شده است (۱۰،۹،۲،۱) و انتخاب این محدوده سنی در این تحقیق برای نمونه گیری به همین علت بوده است.

### پیشنهادات:

چون گلو درد چرکی بیماری شایع و خطرناکی است، همواره باید در افراد ۵-۱۵ ساله مبتلا به گلو درد به فکر آن باشیم. چون ممکن است منجر به تب رماتیسمی حاد (Acute Rheumatic Fever) ARF و گلومرولونفریت (Post Streptococcal Acute Glomerulonephritis) PSAGN شود. در صورت عدم دسترسی به امکانات تشخیص سریع و در صورت شک قوی به وجود بیماری (high index of suspicion) جهت جلوگیری از عوارض

### تشکر و قدردانی:

این پژوهش با اعتبارات مالی معاونت پژوهشی و حمایت اجرایی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد اجرا گردیده است. لذا بدینوسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت محترم وقت جناب آقای دکتر پوریامفرد و جناب آقای دکتر رفیعیان و جناب آقای دکتر نفیسی و سرکار خانم فریبا هوشمند به دلیل راهنماییهای ارزنده و مفیدشان و نیز جناب آقای خلیج سرپرست تیم آزمایشگاه طرح تحقیقاتی پیشگیری اولیه از تب رماتیسمی اعلام می‌دارم.

خطرناک آن باید فوراً نسبت به درمان آن اقدام شود. وجود تعداد قابل ملاحظه ناقلین و موارد مقاوم و نیمه مقاوم باکتری به پنی سیلین لزوم بررسیهای بیشتری را در این مورد ثابت می‌کند. همچنین پیشنهاد می‌شود برای جلوگیری از تبدیل شدن بیماران به ناقلین سالم که سبب گسترش بیماری و seeding باکتری در سطح جامعه می‌شود نیز اقداماتی به عمل آید.

### References:

- 1- Bach JF.; Chalons S. 10 years educational programe aimed at rheumatic fever in two French caribbean Islands. *Lancet*, 347(9002): 644-8, 1996.
- 2- Bison A. Infection diseases - ARF. In: Wyngaarden JB. *Cecil textbook of mediaine: From WB Saunders*. Philadelphia: USA, 19th ed. 1631-8, 1992.
- 3- Bisno A. Non supporative poststreotococal sequela (ARF). In: Mandell GL.; Bennett JE.; Dolin R. *Principles and practice of infectious diseases: From Churchill Livingstone*. New York: USA, 3rd ed. 1528-34, 1990.
- 4- Bronze MS.; Dale JB. The reemergence of serious group A streptococcal infections and ARF. *Am J Med Sci*, 311(1): 41-54, 1996.
- 5- Carapedis JR.; Curric BJ. Toward- understanding the pathogenesis of ARF. *Scandn J Rheumatol*, 25(3): 127-30, 1996.
- 6- Dajan A.; Taubrt K. Treatment of ARF and prevention. *Pediatr*, 69: 758-64, 1995.
- 7- Dianc WW.; Emery HM. Collagen vascular disease (ARF). In: Abraham M.; Rudolph AM. *Rudolph's Pediatrics: From Appleton & Lange*. Norwalk: USA, 19th ed. 492-5, 1991.
- 8- Fabecic-Sabadi V. The effect of prevention in the decrease in ARF: *Lijec Vjsn*, 120(6): 151-6, 1998.
- 9- James K.; Group TA. Streptococcus - ARF. In: Behrman RE.; Kliegman KM. *Nelson textbook of pediatrics: From WB Saunders Company*. Philadelphia: USA, 16th ed. 806-10, 2000.
- 10- Onwuchekwa AC.; Ug Wu-Ec. Pattern of rheumatic heart disease in nigerria. *Trop Doct*, 26(2): 67-9, 1996.
- 11- Stolleman GH. Penicilin for streptococca  $\beta$ HA pharyngitis. *Hosp Pract off Ed*. 30(3): 80-3, 1995.
- 12- Zaman MM. Socio-economic depnivation associated with ARF. *Pediatr Perinat Epidemiol*, 11(3): 322-32, 1997.