بررسی فراوانی و مقاومت دارویی استرپتوکوک پنومونیه مقاوم به درمان در بیماران مبتلا به اوتیت

آرزو اسدی [۱،۲](M.Sc)، مهدی گودرزی [۱،۲](Ph.D) ، حسین گودرزی [*۱،۲](Ph.D)، حمیدرضا حوری [۲](M.Sc)، نسرین ابراهیمی [۲] (M.Sc)، تینا دلسوزبحری [۲](M.Sc)

۱ – مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲ – گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: عفونت حاد گوش میانی یکی از عفونت‌های شایع دوران کودکی است. ۸۰٪ از کودکان تا سن سه سالگی حداقل یک بار به این عفونت مبتلا می‌شوند. این تحقیق به منظور بررسی شیوع استرپتوکوک پنومونیه و الگوی مقاومتی آنتی‌بیوتیکی پنوموکوک در بیماران مبتلا به اوتیت به روش توصیفی مقطعی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۶۰ نمونه از عفونت گوش میانی توسط پزشک متخصص جمع‌آوری شد. میزان حساسیت استرپتوکوک پنومونیه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین کلاولانیک اسید، اریترومایسین، ونکومایسین، تتراسایکلین، ریفامپین، سیپروفلوکساسین، سفکسیم، کلرامفنیکل و کوتریماکسازول مورد بررسی قرار گرفت. شناسایی و تایید ایزوله‌ها با استفاده از کشت و PCR انجام شد.

یافته‌ها: از ۶۰ نمونه به دست آمده ۳۳ مورد (۵۵٪) مربوط به آقایان و ۲۷ مورد (۴۵٪) مربوط به خانم‌ها بود. دامنه سنی بیماران ۲ تا ۲۶ سال بودند. از ۶۰ ایزوله مورد بررسی ۸ عدد (۱۳٪) استرپتوکوک پنومونیه جداسازی گردید. میزان مقاومت پنوموکو های جدا شده در این مطالعه نسبت به اریترومایسین ۶۷٪، ونکومایسین ۲۲٪، تتراسایکلین ۵۶٪، سیپروفلوکساسین ۵۶٪، کلرامفنیکل ۵۶٪، ریفامپین ۴۴/۴٪ و سفکسیم ۱۰۰٪، کوتریماکسازول ۷۷/۸٪، آموکسی‌سیلین کلاولانیک اسید۲۲٪ گزارش شد.

نتیجه‌گیری: استرپتوکوک پنومونیه از عوامل مهم اوتیت می‌باشد. در مطالعه ما میزان مقاومت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها بالا بوده است به طوری‌که بیش‌ترین مقاومت مربوط به سفکسیم و کوتریماکسازول و کم‌ترین مقاومت مربوط به آموکسی‌سیلین کلاولانیک اسید بوده است. با توجه به افزایش ظهور سویه‌های مقاوم استرپتوکوک پنومونیه نسبت به درمان آنتی‌بیوتیکی رایج لازم است مطالعات جامع‌تری نسبت به الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی صورت گرفته و عامل ضد میکروبی مناسب جهت درمان اتخاذ گردد.

واژه‌های کلیدی: مقاومت میکروب به دارو، التهاب گوش میانی، استرپتوکوک پنومونیه

مقدمه

عفونت حاد گوش میانی یکی از شایع‌ترین عفونت‌های دوران کودکی می‌باشد. ۸۰٪ از کودکان تا سن سه سالگی حداقل یک بار به این عفونت مبتلا می‌شوند. عوامل مختلفی از جمله باکتری‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها از علل مهم این عفونت می‌باشند. شایع‌ترین باکتری‌های پاتوژن استرپتوکوکوس

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۳۱۰۸۱۰۴

Email: gudarzim@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۹

پنومونیه، هموفیلوس آنفلوانزا، موراکسلاکاتارالیس و استرپتوکوکوس پیوژن هستند [۱-۳]. عفونت گوش میانی Otitis Media (OME) یکی از شایع‌ترین دلایل مراجعه کودکان به پزشک می‌باشد [۴]. علائم اوتیت میانی شامل گوش درد، ترشح مایع از گوش، از دست دادن شنوایی، احساس پری گوش، درد و تب است [۵].

پنوموکوک‌ها فلور نرمال نازوفارنکس انسان می‌باشند و از طریق قطرات تنفسی منتقل می‌شوند. به‌طوری‌که کودکان زیر ۲ سال در مهدکودک‌ها دارای بیش‌ترین میزان کلونیزاسیون در نازوفارنکس خود هستند. بررسی‌ها نشان داده‌اند که اغلب کودکان در همان ۲ ماه اول زندگی حداقل یک دوره کلنیزاسیون با پنوموکوک را داشته‌اند [۶]. البته میزان کلونیزاسیون پنوموکوک در نازوفارنکس بزرگسالان بسیار کم‌تر و در حدود ۵٪ افراد یک جمعیت می‌باشد. علت این کاهش چشمگیر کلونیزاسیون باکتری در نازوفارنکس بزرگسالان؛ بلوغ سیستم ایمنی، افزایش کلونیزه شدن S.aureus، فاکتورهای محیطی و سیگار کشیدن می‌باشد. کلونیزاسیون پنوموکوک در نازوفارنکس کودکان که بدون علائم بالینی می‌باشد مهم‌ترین منبع انتشار باکتری به محیط اطراف و سایر افراد می‌باشد [۷]. هم‌چنین این حضور باکتری به عنوان فلور در نازوفارنکس عامل ایجاد عفونت‌های جدی و راهیابی باکتری به دستگاه تنفسی تحتانی و هم‌چنین خون و CNS می‌باشد که البته ایجاد این‌گونه اختلالات خطرناک کاملاً به کیفیت عمل‌کرد سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی میزبان بستگی دارد. هم‌چنین پنومونی حاصل از پنوموکوک پس از آسپیراسیون باکتری رخ می‌دهد [۷]. پنوموکوک در سنین پایین در نازوفارنکس کلنیزه می‌شود. به طور کلی کلونیزاسیون بدون علامت می‌باشد ولی شواهدی وجود دارد که کلونیزاسیون با علائم خفیف تنفسی به خصوص در سنین بسیار پایین هم‌راه است. اگر باکتری به صورت موضعی به سطوح مخاطی گسترش پیدا کند مسبب ایجاد اوتیت حاد میانی (AOM)، سینوزیت، کونژکتیویت و یا پنومونی موضعی می‌شود [۶]. از آن‌جایی که این باکتری دارای پتانسیل بسیار بالایی برای تبادلات افقی عناصر ژنتیکی مخصوصاً ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیک و هم‌چنین ژن‌های دخیل در مستعد کردن باکتری به ایجاد عفونت‌های تهاجمی می‌باشد، به طور دائم با یک جمعیت باکتریایی درحال تغییر و تبدیل روبرو هستیم. از این رو مقاومت استرپتوکوک پنومونیه به ماکرولیدها، بتالاکتام‌ها و خصوصاً پنی‌سیلین [۸]، فلوروکینولون‌های جدید [۹]، تریمتوپریم/سولفامتوکسازول [۱۰] و حتی ونکومایسین [۱۰] در حال گسترش می‌باشد. قبل از سال ۱۹۶۷ استرپتوکوک پنومونیه به طور کامل و در سراسر دنیا به پنی‌سیلین G کاملاً حساس بود. اما در سال ۱۹۹۰ ایزوله‌هایی از پنوموکوک که دارای مقاومت به پنی‌سیلین و سایر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام از اقصی نقاط دنیا گزارش شدند که زنگ خطر دوباره‌ای در رابطه با عفونت‌های پنوموکوکی به صدا درآمد [۱۱].

به عنوان مثال در مطالعه‌ای که در ایران توسط سلطان دلال و همکاران در سال ۲۰۱۲ بر روی ۱۰۲ نمونه ترشحات گوش میانی صورت پذیرفت میزان فراوانی استرپتوکوک پنومونیه ۱۴/۷٪ گزارش شد و میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین ۸۶٪، کانامایسین ۸۰٪، آمیکاسین ۷۴٪، تتراسایکلین ۷۳٪، کلیستین ۷۳٪، پنی‌سیلین ۸۰٪، آموکسی‌سیلین ۸۰٪، سفالوتین ۷۳٪، اریترومایسین ۶۵٪، آمپی‌سیلین ۶۵٪، نالیدیکسیک اسید ۶۰٪، نیتروفورانتوئین ۶۰٪، ونکومایسین ۵۳٪، کلرامفنیکل ۵۳٪، کاربنی سیلین ۵۳٪ گزارش شد [۱۲]. در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۵-۲۰۰۴ توسط مهدی بخشایی و همکاران در شهر مشهد انجام شده بود از نمونه نازوفارنکس ۱۱۶۱ کودک زیر ۶ سال مورد بررسی در کودکستان‌های شهر مشهد، تعداد ۱۰۲ (۸/۸٪) مورد استرپتوکوک پنومونیه ایزوله گردید. میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی به شرح زیر گزارش شد: کوتریماکسازول ۸۰/۴٪، اریترومایسین ۴۳/۳٪، سفکسیم ۴۰/۱۹٪، آموکسی‌سیلین ۲۲/۵۵٪، پنی‌سیلین ۴۸/۰۳٪، آموکسی‌سیلین کلاونیک اسید ۱۸/۶۲٪ [۱۳].

با توجه به مطالعات صورت گرفته و افزایش میزان کلونیزاسیون استرپتوکوک پنومونیه به عنوان مهم‌ترین عامل

اوتیت و نیز افزایش میزان بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی، مطالعه بیش‌تر به منظور تعیین فراوانی این باکتری و بررسی الگوی حساسیت میکروبی به صورت منطقه‌ای امری ضروری و لازم به نظر می‌رسد.

هدف از این پژوهش، تعیین فراوانی استرپتوکوکوس پنومونیه در عفونت‌های گوش میانی و هم‌چنین تعیین الگوی مقاومت دارویی این میکروارگانیسم در نمونه‌های جمع‌آوری شده بود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر یک مطالعه توصیفی (Cross sectional) می‌باشد. در یک مطالعه ۹ ماهه که از بهمن ماه سال ۱۳۹۲ تا مهر ماه ۱۳۹۳در بیمارستان امیراعلم به طول انجامید تعداد ۶۰ بیمار مورد بررسی قرار گرفتند. جامعه مورد نظر در این مطالعه افراد مبتلا به اوتیت میانی در رنج‌های مختلف سنی از هر دو جنس از زن و مرد وارد مطالعه شدند. تشخیص عفونت گوش میانی و التهاب گوش میانی همراه با علائم بالینی و مشخصات اوتیت میانی با افیوژن Otitis media with effusion (OME) توسط پزشک متخصص گوش، حلق و بینی انجام شد. قبل از پروسه‌ی عمل جراحی و جمع‌آوری نمونه, کانال گوش خارجی به وسیله‌ی Povidine -iodine به مدت ۲ دقیقه ضد عفونی شده و سپس سه مرتبه با سالین نرمال استریل شست و شو داده شد. جمع‌آوری نمونه توسط تمپانوسنتز انجام شد. در هنگام عمل جراحی, توسط پزشک متخصص بر روی پرده صماخ برش کوچکی صورت گرفته و در صورت وجود مایع در گوش میانی نمونه وارد محفظه‌ی پلاستیکی تمپانوسنتز می‌شود و نمونه‌ها در ظرف کم‌تر از ۳ ساعت به بخش میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی شهید بهشتی انتقال داده شدند.

کشت و جداسازی باکتری. نمونه‌های عفونت گوش میانی در محیط TSB براث جمع‌آوری شدند. نیمی از حجم نمونه جمع‌آوری شده به منظور انجام تست‌های مولکولی در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و مابقی جهت شناسایی باکتری مورد نظر و انجام روش‌های فنوتایپی مورد استفاده قرار گرفت. برای جداسازی استرپتوکوک پنومونیه نمونه‌ها را در محیط Blood Agar (از شرکت Mast) که با ۵٪ خون گوسفند غنی شده با روشStreak-culture کشت داده وانکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و شرایط ۵٪ دی‌اکسیدکربن به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. از کلنی‌های مشکوک آزمون‌های تشخیصی و تاییدی، از قبیل بررسی میکروسکوپی، رنگ‌آمیزی گرم و تست کاتالاز و حساسیت به اپتوچین انجام شد [۱۴].

آنتی‌بیوگرام. حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جدا شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های، کوتریماکسازول، اریترومایسین، سفیکسیم، آموکسی‌سیلین کلاولانیک اسید، کلرامفنیکل، سیپروفلوکساسین، ونکومایسین، ریفامپین و تتراسایکلین به روش انتشار دیسک در آگار (Disk diffusion) انجام شد. تمامی دیسک‌های مورد استفاده در این مطالعه از شرکت روسکو تهیه شد. به طور خلاصه، چند کلنی از کشت ۲۴ ساعته باکتری از محیط بلاد اگار برداشته و در ۰/۹٪ محلول نمکی استریل حل شده تا به غلظت نیم مک فارلند برسد، سپس با استفاده از سواب سوسپانسیون میکروبی تهیه شده را برداشته و بر روی پلیت‌های حاوی محیط بلاد آگار حاوی ۵٪ خون گوسفند کشت داده شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی را با فاصله مناسب روی محیط قرار داده و پلیت‌های را برای مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. نتایج آنتی‌بیوگرام با استفاده از پروتکل CLSI تفسیر شد [۱۲].

استخراج DNA و انجام PCR. استخراج DNA از باکتری‌های ایزوله شده و هم‌چنین نمونه عفونت گوش به روش فنل کلروفرم انجام شد [۱۵]. در ادامه برای تایید روش‌های فنوتایپی از تکنیک PCR برای شناسایی ژن LytA استفاده شد. این ژن کدکننده اتولیزین استرپتوکوک پنومونیه می‌باشد که عامل پدیده اتولیز در باکتری می‌باشد. وجود باند ۷۶ جفت باز نشان‌دهنده مثبت بودن استرپتوکوک پنومونیه از نظر ژن LytA بود. به طور کلی گذشته از روش‌های بیوشیمیایی سال‌هاست که از روش‌های مولکولی مبتنی بر

PCRهم در تشخیص باکتری‌هایی که کشت و جداسازی آن‌ها مشکل است استفاده می‌شود [۱۶].

برای انجام واکنش PCR از سویه استرپتوکوک پنومونیه ATCC 49619 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. در این مطالعه از تکنیک PCR و پرایمرهای اختصاصی 5′- ACGCAATCTAGCAGATGAAGCA -3 به عنوان پرایمر فوروارد و از توالی 5′- TCGTGCGTTTTAATTCCAGCT -3 به عنوان پرایمر ریورز مورد استفاده قرار گرفت. سیکل دمایی واکنش PCR در این مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. سیکل دمایی واکنش PCR برای ژن lytA

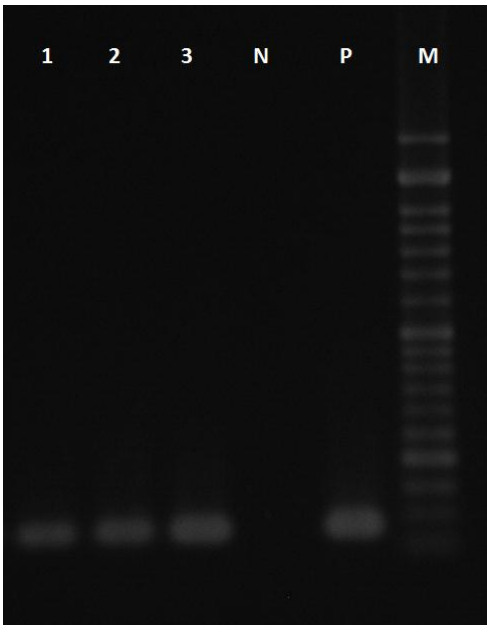
مرحله	دما	زمان	تعداد سیکل
Initial denaturation	95 °c	3 min	1
Denaturation Annealing Extension	95 °c 56 °c 72 °c	30s 45s 30s	30
Final extension	72 °c	1 min	1

نتایج

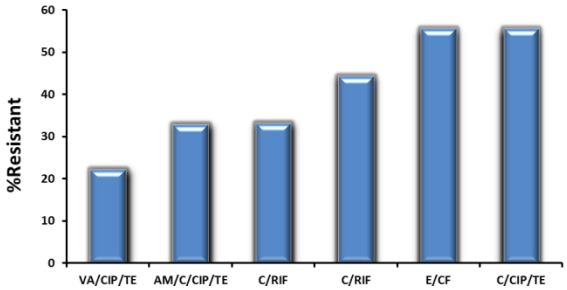
در این مطالعه تعداد ۶۰ نمونه عفونت گوش میانی در مدت حدود ۹ ماه جمع‌آوری شد. نمونه‌ها از بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان امیراعلم تهران که به تایید پزشک مربوطه مشکوک به عفونت گوش میانی بودند جمع‌آوری شد. ۲۷ نمونه (۴۵٪) از بیماران مونث و ۳۳ نمونه (۵۵٪) مذکر بودند. ۳۸ نمونه (۶۴٪) بالای ۷ سال و ۲۲ نمونه (۳۶٪) بین ۰ تا ۷ سال بودند. از ۶۰ نمونه عفونت گوش میانی (۱۳٪) ۸ ایزوله استرپتوکوک پنومونیه جداسازی و هر ۸ نمونه به روش PCR تایید شدند. در PCR۶۰ نمونه‌ی عفونت گوش میانی (۲۳/۳٪)۱۴ نمونه مثبت ارزیابی شدند.

میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۸ ایزوله استرپتوکوک پنومونیه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین کلاولانیک اسید۲۲٪، ونکومایسین ۲۲٪، ریفامپین ۴۴/۴٪، تتراسایکلین ۵۶٪، سیپروفلوکساسین ۵۶٪، کلرامفنیکل ۵۶٪، اریترومایسین ۶۷٪، کوتریماکسازول ۷۷/۸٪، سفکسیم ۱۰۰٪ گزارش شد.

مقاومت چند دارویی میکروب‌ها به عنوان یک چالش برای مدیریت و درمان بیماری‌های عفونی مطرح است [۱۷]. در این مطالعه ۲۲٪ به ونکومایسین، سیپروفلوکساسین و تتراسایکلین، ۳۳٪ به چهار آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین کلاولانیک اسید، کلرامفنیکل و سیپروفلوکساسین و تتراسایکلین، ۳۳/۳٪ به ریفامپین و کلرامفنیکل، ۴۴٪ به کلرامفنیکل و ریفامپین، ۵۵/۶۶٪ نمونه‌ها دارای مقاومت همزمان به اریترومایسین و سفکسیم، ۵۵/۶٪ به سه آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل، سیپروفلوکساسین و تتراسایکلین مقاومت داشتند.



شکل ۱. تصویر ژل الکتروفورز محصولات PCR استرپتوکوک پنومونیه.
M: مارکر 50 BP،1،2،3 نمونه مثبت بیمار، N: کنترل منفی، P: کنترل مثبت



شکل۲. فراوانی مقاومت چندگانه داروئی در بین ایزوله های استرپتوکوک پنومونیه

E: Erythromycin, CF: Cefixime, AM: Amoxyclav (Amoxycillin/clavulanic acid), CIP: Ciprofloxacin, TE: Tetracycline, RIF: Rifampicin, C: Chloramphenicol, VA:Vancomycin

بحث و نتیجه‌گیری

عفونت گوش میانی یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گوش اطفال می‌باشد [۱۸]. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به میزان زیادی عوارض بیماری را کاهش داده است. با این حال شایان ذکر است که مصرف زیاد و نا به‌جا از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث ظهور سویه‌های مقاوم گردیده و این امر تهدید جدی در بحث درمان موثر بیماری می‌باشد [۱۹]. بنابراین دو عنصر شناسایی درست عامل ایجادکننده بیماری و تجویز آنتی‌بیوتیک با دوز مناسب می‌تواند در کاهش هر چه بیش‌تر عوارض بیماری موثر باشد. طبق گزارش ایالت متحده استرپتوکوک پنومونیه عامل ۵ تا ۷ میلیون مورد از اوتیت گوش میانی، ۷۱۰۰۰ مورد پنومونیه، ۱۷۰۰۰ مورد باکتریمی و باعث ۱۴۰۰ مورد منتژیت در سال می‌باشد که شناسایی استرپتوکوک پنومونیه در این موارد با کمک روش کشت صورت گرفته است [۲۰].

در مطالعه حاضر از ۶۰ نمونه مورد بررسی ۲۷ نمونه (۴۵٪) مونث و ۳۳ نمونه (۵۵٪) مذکر بودند. میزان فراوانی استرپتوکوک پنومونیه با روش کشت (۱۳٪) و با روش PCR (23%) به دست آمد. با توجه به مشکلات موجود در نمونه‌گیری و جداسازی و تشخیص بیوشیمیایی پنوموکوک می‌توان در موارد ضروری از روش PCR برای تشخیص پنوموکوک استفاده کرد هم‌چنین می‌توان پنوموکوک‌های مقاوم به اپتوچین را هم تشخیص داد [۱۴]. در مطالعاتی که توسط Maria da Gloria در سال ۲۰۰۷ [۲۱] و Seki در سال ۲۰۰۵ [۲۲] انجام گرفت از ویرولانس فاکتور LytA جهت شناسایی پنوموکوک استفاده گردید.

بیش‌ترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سفکسیم و کوتریماکسازول و کم‌ترین مقاومت به آموکسی‌سیلین کلاولانیک اسید گزارش شد. دیگر میکروارگانیسم‌های شناسایی شده در نمونه ترشحات گوش میانی شامل استافیلوکوک اورئوس ۴ عدد، استافیلوکوک اپیدرمیدیس ۱۵ عدد، میکروکوک ۳ عدد، پروتئوس میرابیلیس ۲ عدد، سودوموناس آئروجینوزا ۷ عدد، هموفیلوس آنفولانزا ۲ عدد، موراکسلا کاتارالیس ۳ عدد، آلویوکوک اوتیدیتیس ۴ عدد گزارش شد.

در مطالعه‌ای که در ایران توسط سلطان دلال و همکاران در سال ۲۰۱۲ بر روی ۱۰۲ نمونه ترشحات گوش میانی صورت پذیرفت میزان فراوانی استرپتوکوک پنومونیه با روش کشت ۱۴/۷٪ گزارش شد و میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین ۸۶٪، کانامایسین ۸۰٪، آمیکاسین ۷۴٪، تتراسایکلین ۷۳٪، کلیستین ۷۳٪، پنی‌سیلین ۸۰٪، آموکسی‌سیلین ۸۰٪، سفالوتین ۷۳٪، اریترومایسین ۶۵٪، آمپی‌سیلین ۶۵٪، نالیدیکسیک اسید ۶۰٪، نیتروفورانتوئین ۶۰٪، ونکومایسین ۵۳٪، کلرامفنیکل ۵۳٪، کاربنی سیلین ۵۳٪ گزارش شد [۱۲]. در مقایسه مطالعه صورت گرفته با مطالعه حاضر می‌توان دریافت که میزان مقاومت به اریترومایسین و کلرامفنیکل با مطالعه ما هم‌خوانی دارد. اما میزان مقاومت به ونکومایسین و تتراسایکلین در مطالعه ما کم‌تر گزارش شده است. این تفاوت می‌تواند ناشی از روش نمونه‌گیری و تفاوت در زمان نمونه‌گیری مربوط به این باکتری باشد. به منظور تهیه نمونه از ترشحات می‌توان از دستگاه کالکتور استفاده نمود این دستگاه مکشی در مجرای گوش ایجاد کرده و ترشحات وارد دستگاه می‌شوند. از آن‌جایی که این وسیله قابل استریل مجدد نمی‌باشد به ناچار برای هر بیمار یک دستگاه لازم است و این روش از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نیست. می‌توان از سرنگ استفاده نمود. گاهی اوقات ترشحات در مجرای گوش انقدر حالت صمغی و سفت به خود می‌گیرند که جمع‌آوری نمونه بسیار مشکل خواهد بود.

در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۵-۲۰۰۴ توسط مهدی بخشایی و همکاران در شهر مشهد انجام شده بود با استفاده از روش کشت از نمونه نازوفارنکس ۱۱۶۱ کودک زیر ۶ سال مورد بررسی در کودکستان‌های شهر مشهد، تعداد ۱۰۲ (۸/۸٪) مورد استرپتوکوک پنومونیه ایزوله گردید. میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی به شرح زیر گزارش شد: کوتریماکسازول ۸۰/۴٪، اریترومایسین ۴۳/۳٪، سفکسیم

۴۰/۱۹٪، آموکسی‌سیلین ۲۲/۵۵٪، پنی‌سیلین ۴۸/۰۳٪، آموکسی‌سیلین کلاونیک اسید ۱۸/۶۲٪ [۱۳]. این مطالعه از نظر مقاومت به آموکسی‌سیلین کلاولانیک و پنی‌سیلین و کوتریماکسازول با مطالعه ما هم‌خوانی دارد اما میزان مقاومت به اریترومایسین و آموکسی‌سیلین و سفکسیم در مطالعه ما بیش‌تر است. که این تفاوت می‌تواند ناشی از نوع نمونه و تفاوت در محل جغرافیایی و تفاوت در زمان جمع‌آوری نمونه باشد. به طور کلی عدم توجه در بحث درمان با آنتی‌بیوتیک‌ها و استفاده نامناسب از این عوامل ضد میکروبی باعث ظهور سویه‌های مقاوم در طول زمان شده است. متاسفانه میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی رو به افزایش است، با توجه به این‌که این مطالعه در سال ۲۰۰۵ صورت گرفته بنابراین تفاوت مقاومت آنتی‌بیوتیکی با مطالعه ما امری بدیهی به نظر می‌رسد [۲۳].

در بررسی دیگر که در سال۲۰۱۲ که توسط Patricia A.sommerfleck در آرژانتین صورت گرفت تعداد ۳۲۴ بیمار مبتلا به اوتیت حاد گوش میانی شناسایی شدند. رنج سنی کودکان بین ۴ تا ۱۵ ماه و میانگین سنی آنان ۸ ماه گزارش شد. بیش‌ترین پاتوژنی که از بیماران به دست آمده بود به ترتیب شامل استرپتوکوک پنومونیه ۳۹/۵٪، هموفیلوس آنفولانزا ۳۷/۴٪، موراکسلا کاتارالیس ۶/۱٪، و ۳٪ استرپتوکوک پایوژن گزارش شده بود که به طور کلی ۷۹/۳٪ ایزوله‌ها به آموکسی‌سیلین حساس بودند. به همین دلیل درمان انتخابی برای این کودکان با عفونت حاد گوش میانی به میزان مصرف ۸۰–۱۰۰ mg/kg/day از آموکسی‌سیلین پیشنهاد گردید [۲۴].

در بررسی که که توسط EmineAydin و همکاران در سال ۲۰۱۲ در ترکیه صورت گرفت از ۳۴ کودک مبتلا به اوتیت همراه با ترشحات; نمونه‌گیری صورت گرفت. رنج سنی بیماران بین ۳ تا ۱۶ سال و میانگین سنی آن‌ها ۸±۳/۵ سال بود و عفونت گوش میانی با روش‌های میکروسکوپی و Tympanometry تائید شد. نتایج بررسی نشان داد که تعداد استپتوکوک پنومونیه به دست آمده ۳ مورد (۸/۸٪)، موراکسلاکاتارالیس ۳ مورد (۸/۸٪) و هموفیلوس آنفولانزا ۱ مورد (۲/۹٪) و آلیوکوکوس ۷ مورد (۵۸٪) از ۳۴ نمونه را به خود اختصاص دادند [۲۵].

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۴ در آفریقا توسط Jeannet C Bos و همکارانش صورت گرفت نشان داد که همه پنوموکوک‌ها به اریترومایسین و پنی‌سیلین حساس بودند و ۴۴٪ سویه‌ها به تری متوپریم سولفامتوکسازول مقاوم بودند [۲۶]. در حالی‌که در مطالعه ما میزان مقاومت به تری متوپریم سولفامتوکسازول ۷۷/۸٪ و میزان مقاومت به اریترومایسین ۶۷٪ ذکر شده است که این تفاوت در نتیجه، می‌تواند ناشی از تفاوت در منطقه جغرافیایی، نوع نمونه و ایزوله مورد بررسی باشد.

با مقایسه مطالعات صورت گرفته با مطالعه حاضر می‌توان دریافت که مقاومت آنتی‌بیوتیکی در همه نقاط جهان و هم‌چنین در کشور ما رو به افزایش می‌باشد. کشف آنتی‌بیوتیک‌ها و تولید و گسترش آنتی‌بیوتیک‌های جدید و رواج استفاده از آن‌ها در درمان بیماری‌های عفونی باکتریایی باعث به وجود آمدن مقاومت‌های باکتریایی نسبت به مواد ضد باکتریایی شده است. از این رو می‌توان گفت شناخت هر چه بهتر و بیش‌تر این مکانیسم‌ها در روند موفق‌تر درمان بیماری‌ها حایز اهمیت می‌باشد [۲۷]. یکی از دلایل مقاومت بالای پنوموکوک به این آنتی‌بیوتیک‌ها مصرف بی‌رویه آن‌ها در عفونت گوش میانی، سینوزیت و عفونت‌های تنفسی است. با توجه به مقاومت باکتریایی مشاهده شده در مورد بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها لازم است مطالعات وسیع‌تر جهت انجام تست‌های حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای باکتری‌های جداسازی شده انجام گردد. با توجه به مصرف آنتی‌بیوتیک‌های متعدد در درمان عفونت گوش میانی نظیر تتراسایکلین، اریترومایسین، سیپروفلوکساسین، پنی‌سلین، آمیکاسین، ونکومایسین، جنتامایسین و غیره که بدون شناسایی عامل عفونت صورت می‌گیرد و نیز احتمال ایجاد مقاومت متقاطع (cross-resistance) به آنتی‌بیوتیک‌ها نظیر اریترومایسین و به دنبال آن شیوع بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی در آن‌ها، نتایج این

بررسی لزوم تعیین هویت ارگانیسم‌های مولد عفونت گوش میانی و انجام آزمون‌های آنتی‌بیوگرام را قبل از شروع هر گونه اقدام درمانی مطرح می‌نماید.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با همکاری گروه میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شده است و هم‌چنین از گروه آموزشی گوش، حلق و بینی بیمارستان امیراعلم و مرکز هموفیلی ایران و گروه میکروب‌شناسی دانشگاه تهران سپاسگزاریم.

منابع

[1] Gribben B, Salkeld LJ, Hoare S, Jones HF. The incidence of acute otitis media in New Zealand children under five years of age in the primary care setting. J Prim Health Care 2012; 4: 205-212.

[2] Klein JO. The epidemiology of pneumococcal disease in infants and children. Rev Infect Dis 1981; 3: 246-253.

[3] Leibovitz E, Jacobs MR, Dagan R. Haemophilus influenzae: a significant pathogen in acute otitis media. The Pediatr Infect Dis J 2004; 23: 1142-1152.

[4] Leskinen K, Hendolin P, Virolainen-Julkunen A, Ylikoski J, Jero J. The clinical role of Alloiococcus otitidis in otitis media with effusion. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 2002; 66: 41-48.

[5] Worrall G. Acute otitis media. Can Fam Physician 2007; 53: 2147.

[6] Rubins JB, Janoff EN. Pneumolysin: a multifunctional pneumococcal virulence factor. J Lab Clin Med 1998; 131: 21-27.

[7] Geoffroy C, Gaillard JL, Alouf JE, Berche P. Purification, characterization, and toxicity of the sulfhydryl-activated hemolysin listeriolysin O from Listeria monocytogenes. Infect Immun 1987; 55: 1641-1646.

[8] Bravo L. Overview of the disease burden of invasive pneumococcal disease in Asia. Vaccine 2009; 27: 7282-7291.

[9] Black RE, Cousens S, Johnson HL, Lawn JE, Rudan I, Bassani DG, et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2008: a systematic analysis. The Lancet 2010; 375: 1969-1987.

[10] Brueggemann AB, Griffiths DT, Meats E, Peto T, Crook DW, Spratt BG. Clonal relationships between invasive and carriage Streptococcus pneumoniae and serotype-and clone-specific differences in invasive disease potential. J Infect Dis 2003; 187: 1424-1432.

[11] Watt JP, Wolfson LJ, O'Brien KL, Henkle E, Deloria-Knoll M, McCall N, et al. Burden of disease caused by< i> Haemophilus influenzae type b in children younger than 5 years: global estimates. The Lancet 2009; 374: 903-911.

[12] Dallal MM, Jabbari H, Forushani AR, Heidarzadeh S, Afrogh P, Yazdi MK. Frequency and Resistance Patterns of Streptococcus Pneumoniae in Acute Otitis Media. J Mazandaran Univ Med Sci 2013; 22 (Persian).

[13] Bakhshaei M, Ghazvini K, Naderi H, Zamanian A, Haghighi J, Boghrabadian M. The prevalence of nasopharyngeal streptococcal pneumonia carriers in Mashhad day care children and their antibiotic resistance pattern. Iranian J Otorhinol 2006; 18: 119-126.

[14] Khoramrooz SS, Mirsalehian A, Emaneini M, Jabalameli F, Aligholi M, Saedi B, et al. Frequency of Alloicoccus otitidis, Streptococcus pneumoniae, Moraxella catarrhalis and Haemophilus influenzae in children with otitis media with effusion (OME) in Iranian patients. Auris Nasus Larynx 2012; 39: 369-373.

[15] Khoramrooz SS, Mirsalehian A, Imaneini H, Jabalameli F, Sharifi A, Aligholi M, et al. Characterization of< i> Alloiococcus otitidis strains isolated from children with otitis media with effusion by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. Intern J Pediatric Otorhinol 2012; 76: 1658-1660.

[16] Greve T, Møller JK. Accuracy of using the lytA gene to distinguish Streptococcus pneumoniae from related species. J Med Microbiol 2012; 61: 478-482.

[17] Doern GV, Brueggemann A, Holley HP, Rauch AM. Antimicrobial resistance of Streptococcus pneumoniae recovered from outpatients in the United States during the winter months of 1994 to 1995: results of a 30-center national surveillance study. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40: 1208-1213.

[18] Qvarnberg Y, Kantola O, Salo J, Toivanen M, Valtonen H, Vuori E. Influence of topical steroid treatment on maxillary sinusitis. Rhinology 1992; 30: 103-112.

[19] Sahni RS, Paparella MM, Schachern PA, Goycoolea MV, Le CT. Thickness of the human round window membrane in different forms of otitis media. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1987; 113: 630-634.

[20] Chatrchyan S, Hmayakyan G, Khachatryan V, Sirunyan A, Adam W, Bauer T, et al. The CMS experiment at the CERN LHC. J Instrument 2008; 3: S08004.

[21] Maria da Gloria SC, Tondella ML, McCaustland K, Weidlich L, McGee L, Mayer LW, Steigerwalt A, et al. Evaluation and improvement of real-time PCR assays targeting lytA, ply, and psaA genes for detection of pneumococcal DNA. J Clin Microbiol 2007; 45: 2460-2466.

[22] Seki M, Yamashita Y, Torigoe H, Tsuda H, Sato S, Maeno M. Loop-mediated isothermal amplification method targeting the lytA gene for detection of Streptococcus pneumoniae. J Clin Microbiol 2005; 43: 1581-1586.

[23] Verhelst R, Kaijalainen T, De Baere T, Verschraegen G, Claeys G, Van Simaey L, et al. Comparison of five genotypic techniques for identification of optochin-resistant pneumococcus-like isolates. J Clin Microbiol 2003; 41: 3521-3525.

[24] Pellegrini S, Gonzalez Macchi ME, Sommerfleck PA, Bernáldez PC. Intratemporal complications from acute otitis media in children: 17 cases in two years. Acta Otorrinolaringologica (English Edition) 2012; 63: 21-25.

[25] Aydın EG, Tel E, Kaplan A, Aydın A. Equilibrium and pre-equilibrium calculations of neutron production in medium–heavy targets irradiated by protons up to 100MeV. Ann Nuclear Energy 2008; 35: 2306-2312.

[26] Bos JC, Beishuizen SJ, Madeira GC, dos Gomonda E, Cossa EO, Macome AC, et al. Antimicrobial susceptibility of Streptococcus pneumoniae in adult patients with pneumococcal pneumonia in an urban hospital in Mozambique. BMC Res Note 2014; 7: 110.

[27] Caraway N, Hawkins E, Hinds D, Mason E. Penicillin susceptibility of Streptococcus pneumoniae in a private pediatric hospital in Houston, Texas. Antimicrob Agents Chemother 1989; 33: 1111-1112.

Investigating the frequency and resistance to treatment of Streptococcus pneumoniaeis in patients with otitis

Arezoo Asadi (M.Sc)[1,2], Mehdi Goudarzi (Ph.D)[1,2], Hossein Goudarzi (Ph.D)[*1,2], Hamidreza houri (M.Sc)[2], Nasrin Ebrahimi (M.Sc)[2], Tina Delsouz Bahri (M.Sc)[2]

1 - Infectious Disease and Tropical Medicine Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2 - Dept. of Microbiology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: 23 Jan 2015; Accepted: 30 Dec 2015)

Introduction*: Streptococcus pneumoniaeis* is the most frequent cause of bacterial meningitis, community-acquired bacterial pneumonia and acute otitis media (AOM). Eighty percent of children have at least once diagnosed by the three years of age. This study was conducted to determine the frequency of patients with *Streptococcus pneumoniaein* diagnosed with acute middle ear infections and antibiotic susceptibility patterns of this microorganism.

Materials and Methods*:* Middle ear discharge specimens were collected from 60 patients with acute otitis media during a period of 8 months, at Amir Alam Hospital (Tehran). Specimens were assessed for *Streptococcus pneumonia* by microscopic examination and culture. The antibiotic susceptibility test was performed by Kirby-Bauer disk diffusion method according to CLSI (clinical and laboratory standard institute) criteria. Antibiotics included tetracycline,erythromycin,vancomycin,chloramphenicol, amoxycilinclavulanate,Rifampine, ,ciprofloxacin, Cefixime,Trimethoprim+Sulfa. Identification and confirmation of isolates were performed by PCR and culture.

Results*:* Thirty three/ 60 and 27/60 of specimen were belong to men and women, respectively**.** Eight/ 60 tested specimens were confirmed as *Streptococcus pneumonia*. The sensitivity of isolated *Streptococcus pneumoniae* to different antibiotics was tested and the results were as following: tetracycline (56%), erythromycin (67%), vancomycin (22%), chloramphenicol (56%), and amoxycilin clavulanate (22%), Rifampine (44.4%), ciprofloxacin (56%), Cefixime (100%) Trimethoprim+Sulfa (77.8%).

Conclusion*: Streptococcus pneumonia* is the main cause for AOM. According to the emergence of resistant strains of *Streptococcus pneumonia* to conventional antibiotic therapy, especially beta-lactam antibiotics and erythromycin, continuous surveillance is needed to determine full picture of antibiotic susceptibility in patients with AOM.

Keywords*:* Microbial Drug Resistance, Otitis Media, *Streptococcus pneumoniae*

* Corresponding author. Tel: +98 9123108104

gudarzim@yahoo.com