

بررسی میزان شیوع مقاومت دارویی بسیار گسترده باسیل سل (XDR-TB) در استان آذربایجان شرقی

رشدی ملکی مهدی (M.Sc)^۱ * ، مؤدب سید رضا (Ph.D)^۲ ، مرادی مددلو قاسم (M.Sc)^۳
(۱) گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ملکان و باشگاه پژوهشگران جوان تبریز
(۲) دانشکده پیراپزشکی و مرکز تحقیقات سل و بیماری‌های ریوی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
(۳) باشگاه پژوهشگران جوان تهران
نویسندهٔ رابط: مهدی رشدی ملکی گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ملکان
تلفن همراه: ۰۹۱۴۳۲۰۰۸۴۶ تلفن ثابت: ۰۸۴-۸۲۲-۰۴۲۲
Me2_roshdi@hotmail.com

چکیده :

زمینه و اهداف : انسان خود باعث پیدایش سل مقاوم به دارو شده است. پیدایش جهانی XDR-TB نخستین بار در سال ۲۰۰۵ میلادی گزارش شد. XDR-TB فرمی از مقاومت دارویی است که در آن باسیل سل علاوه بر اینکه حداقل به ۲ داروی مهم و اصلی ضد سل (ایزونیازید و ریفامپین) مقاوم است، به یک فلوروکوئینولون و حداقل به یکی از سه داروی تزریقی آمیکاسین، کانامایسین و کاپرئومایسین مقاوم است. با توجه به اینکه میزان XDR-TB به سرعت رو به گسترش است لذا هدف از این مطالعه بررسی میزان شیوع XDR-TB در استان آ- شرقی بود.

روش انجام آزمایش : تستهای حساسیت دارویی داروهای رده دوم (آمیکاسین، کانامایسین، افلوکسازین و سیپروفلوکسازین) بر روی سویه های ایزوله شدهٔ مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مقاوم به چند دارو (MDR-TB) طی چهار سال اخیر به روش نسبی انجام گرفت. از سویه استاندارد H37Rv که حساس به تمامی آنتی بیوتیک هاست به عنوان کنترل کیفی استفاده شد.

یافته ها: از ۸ سویهٔ MDR-TB، ۳ سویه (۳۷/۵٪) XDR-TB تشخیص داده شدند.

نتیجه گیری : با توجه به اینکه مقاومت XDR-TB فقط در نمونه های بیماران نخبوانی مشاهده شد، مراجعهٔ این افراد به مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی تبریز جهت تشخیص و درمان مسئله ساز می باشد و باید تمهیدات ویژه ای در نظر گرفته شود.

کلمات کلیدی : سل ، XDR-TB ، آذربایجان شرقی

مقدمه

داروهای رده اول و رده دوم مقاوم است، میزان موفقیت در درمان آن محدود است (میزان درمان ۵۰٪-۳۰٪). از این رو، کنترل و اداره صحیح XDR-TB، حیاتی می باشد. درمان MDR-TB و XDR-TB، بعلاوه تأثیر اندک داروهای رده دوم و نیز طولانی بودن مدت زمان درمان، بسیار مشکل و در بعضی مواقع با شکست همراه است (۷). از طرفی، گران بودن درمان سل مقاوم به دارو در کشورهای فقیر و کم درآمد یک مشکل مضاعف به شمار می رود. بطوریکه هزینه درمان بیمار مسلولی که به داروهای اصلی مقاوم است، صد برابر بیشتر از هزینه درمان بیمار مسلول حساس به داروهای اصلی است. از این رو، استفاده از برنامه های صحیح کنترل جهت جلوگیری از شیوع سل مقاوم به چند دارو و سل با مقاومت بسیار بالا، یک ضرورت اساسی به حساب می آید (۸).

مواد و روشها:

چون هدف از این مطالعه بررسی میزان مقاومت دارویی بسیار گسترده بود، لذا در این مطالعه بررسی حساسیت دارویی سویه های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مقاوم به چند دارو نسبت به آمینوگلیکوزیدها (آمیکاسین و کانامایسین) و فلوروکوئینولونها (افلوکساسین و سپروفلوکساسین) انجام گرفت. جهت اطمینان از سویه ایزوله شده، برخی از آزمایشهای بیوشیمیایی از جمله: تست نیاسین، تست احیای نیترات، تست کاتالاز مقاوم به حرارت (۶۸ درجه سانتی گراد) بر روی آنها صورت گرفت. و تعداد ۸ سویه MDR-TB از میان نمونه های سالهای ۸۶ الی ۸۹ انتخاب گردید. سپس تأثیر داروهای رده دوم بر روی سویه های مورد مطالعه بررسی شد (۹). تمامی سویه ها بر روی محیط های کشت لوانشتاین - جانسون حاوی آنتی بیوتیک و لوانشتاین - جانسون فاقد آنتی بیوتیک (محیط کشت شاهد) کشت داده شدند. از سویه استاندارد H37Rv که حساس به تمامی دارو هاست به عنوان کنترل کیفی استفاده شد. روشی که برای تعیین حساسیت دارویی استفاده شد روش نسبی (Proportional method) بود. این روش مرجع بوده و

با گذشت بیش از ۱۲۸ سال از کشف مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، بیماری سل همچنان خطری دائمی و بعنوان یک پیشتاز باعث مرگ و میر در سرتاسر جهان است (۱). در حال حاضر بر آورد اپیدمیولوژیست ها نشان می دهد، حدود یک سوم جمعیت جهان با باسیل سل آلوده اند و این بیماری سالانه ۳ میلیون نفر را به کام مرگ می کشاند(۲). از زمان شروع شیمی درمانی بر علیه بیماری سل، شمار سویه های مقاوم به دارو افزایش چشمگیری داشته است. میزان بروز سل مقاوم به چند دارو (MDR- TB : Multi Drug Resistant tuberculosis) در کشورهای همجوار از جمله آذربایجان بسیار بالا گزارش شده است(۳). و با توجه به اینکه عده ای از این بیماران جهت تشخیص و درمان به مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی دانشگاه علوم پزشکی تبریز مراجعه میکنند احتمال سرایت بیماری سل مقاوم به دارو به هموطنان ایرانی نیز بالا است. و این زنگ خطری برای مسئولین، متخصصین مبارزه با بیماری سل و اهالی منطقه می باشد. از عواملی که باعث افزایش مقاومت مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به داروها می شوند، می توان به عدم درمان صحیح (تجویز نابجای دارو، عدم استفاده از درمان چند دارویی و بکار گیری رژیم تک دارویی، قطع مصرف دارو) ، نبود برنامه های کنترل بیماری سل در برخی از کشورها، کاهش اثر داروهای ضد سل، و بالاخره شیوع بیماری ایدز (AIDS) اشاره کرد(۴).

امروزه MDR-TB و XDR-TB، یک مشکل اساسی برای کنترل و مبارزه با بیماری سل در جهان محسوب می شوند. بطوریکه این دو نوع مقاومت دارویی از تمام نقاط دنیا گزارش شده اند (۵). پیدایش جهانی XDR-TB نخستین بار در سال ۲۰۰۵ میلادی گزارش شد. فرمی از سل است که در آن باسیل سل، به غیر از مقاومت چند دارویی (MDR-TB)، به هر فلوروکوئینولون و همچنین دست کم به یکی از سه داروی تزریقی کاپرومایسین، کانامایسین و آمیکاسین مقاوم است(۶). زمانیکه داروهای رده دوم نادرست استفاده شوند، یا بدرستی کنترل نشوند، می تواند گسترش یابد. بعلاوه اینکه XDR-TB به

بحث:

گسترش مقاومتهای چند دارویی (MDR-TB) و مقاومت بسیار گسترده (XDR-TB) یک مسئله مهم جهانی است که بسیار نگران کننده شده است (۱۱). استفاده غیر اصولی و ناکافی از داروها از جمله مهمترین عوامل هستند که باعث بروز مقاومت دارویی به داروهای ضد سل می شوند. و هر روز بر گستردگی این مقاومت افزوده می شود. نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد. میزان سل با مقاومت دارویی بسیار گسترده در استان آذربایجان شرقی در حال شیوع است و این مسئله بایستی جدی گرفته شود. با اینکه هر ۳ سویه XDR-TB از میان نمونه های نخجوانی بود اما این مسئله که برخی بیماران نخجوانی جهت تشخیص و درمان بیماری سل به مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی دانشگاه علوم پزشکی تبریز مراجعه میکنند می تواند زنگ خطری برای اهالی منطقه، مسئولین و متخصصین مبارزه با سل باشد. در صورتیکه سویه های MDR-TB و XDR-TB با روش اصولی درمان نشوند می توانند باعث بروز فرم جدیدتری از سل مقاوم به دارو بنام SXDR-TB (Super Extensively Drug-Resistant) یا TDR (Totally Drug Resistant) شوند.

در مطالعه ای که توسط علی اکبر ولایتی و همکاران انجام گرفته از مجموع ۱۴۶ سویه MDR-TB، ۸ سویه XDR-TB (۵/۴٪) و ۱۵ سویه TDR-TB (۱۰/۳٪) تشخیص داده شده اند که از مهاجران افغانی، آذربایجانی و عراقی بوده اند (۱۲). مدیریت نادرست توبرکلوزیس راه را برای افزایش مقاومت دارویی باسیل سل هموار میکند. در مطالعه ای که توسط Jain و همکاران انجام شده پیدایش XDR-TB کاملاً جهانی گزارش شده است و میزان ظهور آن در آسیا بطور متوسط ۱/۵٪ گزارش شده است (۱۳). در مطالعه دیگری که توسط Datta و همکاران در کشمیر صورت گرفته میزان XDR-TB ۱۵/۳٪ گزارش شده است (۱۴). Punga و همکاران نیز مطالعه ای در شهر مسکو انجام داده اند و میزان XDR-TB را ۴/۹٪ گزارش نموده اند. برای جلوگیری از گسترش XDR-TB، انجام تستهای حساسیت دارویی، گزارش موارد، مراقبتهای ویژه و کنترل عفونت مورد نیاز است (۱۵).

مورد تأیید سازمان بهداشت جهانی و CLSI می باشد (۱۰).

برای این منظور از سوسپانسیون باکتری ها رقتی برابر نیم مک فارلند تهیه و از آن رقت ۰/۰۱ تهیه گردید. سپس مقدار ۰/۲ میلی لیتر از سوسپانسیون رقیق شده باکتری با غلظت ۰/۰۱ را به هر یک از محیط های کشت لوانشتاین - جانسون حاوی آنتی بیوتیک و لوانشتاین - جانسون فاقد آنتی بیوتیک (محیط کشت شاهد) تلقیح شد. در مرحله بعد محیط کشتها به مدت ۲۸-۴۲ روز در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند. غلظت نهایی هر یک از داروها در محیط کشت لوانشتاین - جانسون به قرار زیر بود:

سیپروفلوکساسین (۴μg/ml) افلوکساسین (۴μg/ml)، آمیکاسین (۲۰μg/ml)، کانامایسین (۲۰μg/ml). پس از انجام انکوباسیون، تعداد کلنی های رشد کرده در محیط کشت شاهد با محیط های حاوی آنتی بیوتیک مقایسه شد. مطابق روش نسبی در صورتیکه میزان رشد باکتری (تعداد کلنی ها) در محیط کشت حاوی آنتی بیوتیک کمتر از یک درصد (< ۱٪) تعداد کلنی ها در محیط کشت بدون آنتی بیوتیک (محیط کشت شاهد) باشد، باکتری حساس گزارش می شود. اما چنانچه میزان رشد باکتری مساوی یا بیشتر از یک درصد (>= ۱٪) کلنی ها در محیط کشت بدون آنتی بیوتیک باشد، باکتری مقاوم محسوب می گردد.

نتایج:

نتایج انجام تستهای حساسیت دارویی به قرار زیر بود: از مجموع ۸ سویه MDR-TB مورد بررسی، ۲ سویه (۲۵٪) تنها به افلوکساسین مقاوم بودند. ۳ سویه (۳۷/۵٪) نسبت به کانامایسین، ۱ سویه (۱۲/۵٪) نسبت به آمیکاسین و ۱ سویه (۱۲/۵٪) نسبت به سیپروفلوکساسین مقاومت تک دارویی داشتند. ۳ سویه نیز (۳۷/۵٪) نسبت به هر چهار دارو (آمیکاسین، کانامایسین، افلوکساسین، سیپروفلوکساسین) مقاومت نشان دادند. اکثریت سویه ها نسبت به آمیکاسین و سیپروفلوکساسین حساسیت نشان دادند به عبارتی آمیکاسین و سیپروفلوکساسین کمترین میزان مقاومت و بیشترین تاثیر را داشتند. و کانامایسین بیشترین مقاومت را از خود نشان داد.

سل و بیماریهای ریوی دانشگاه علوم پزشکی تبریز مسئله ساز می باشد و باید تمهیدات ویژه ای در جهت جلوگیری از سرایت و شیوع سل مقاوم به دارو اندیشیده شود.

نتیجه گیری :

با توجه به اینکه در مطالعه حاضر مقاومت XDR-TB تنها در نمونه های نخجوانی مشاهده شد می توان نتیجه گرفت، مراجعه این افراد جهت مداوا به مرکز تحقیقات

فهرست مطالب:

- 1) WHO. Emergence of Mycobacterium tuberculosis with Extensive Resistance to Second-Line Drugs -- Worldwide, 2000-2004. *MMWR* 2006; 55(11): 301-305.
1. Rodrigo G, Antonio R, Luiz A. The resumption of consumption – A review on tuberculosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 2006; 101(7): 697-714.
- 3) Saydam C, Cavuosoglu C, Burhanoglu D, Ozkalay N, Badak F, Bilgic A. Susceptibility of Mycobacterium tuberculosis Strains to First-Line and Second-Line Anti tuberculosis Drugs in Ege University Hospital. *Turk J Med Sci*, 2001; 31: 395-400.
- 4) Sethi S, Sharma S, Sharma SK, Meharwal SK, Jindal SK, Sharma M. Drug susceptibility of Mycobacterium tuberculosis to primary antitubercular drugs by nitrate reductase assay. *Indian J Med Res*, 2004; 120 (5): 468-471.
- 5) Leung ET, Ho PL, Yuen KY, Woo WL, Lam TH, Kao RY, *etal.* Molecular Characterization of Isoniazid Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: Identification of a Novel Mutation in *inhA*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(3): 1075-1078.
- 6) Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*, 4th ed. osby, St. Louis, Mosby 2002; 366-377.
- 7) Ormerod LP. Multidrug-resistant tuberculosis: Epidemiology prevention and treatment. *Br Med Bull*, 2005; 74 : 17-24.
- 8) Surendra K, Sharma , Alladi Mohan. Multidrug-Resistant tuberculosis: A menace that threatens to destabilize tuberculosis control. *Chest*, 2006; 130:261-272.
- 9) Sharma SK, Mohan A. Multidrug-resistant tuberculosis. *Indian J Med Res*, 2004; 120 : 354-376.
- 10) Bjorn P, Seven H. Drug-Resistant and multidrug-resistant tubercle bacilli. *Int J Antimicrob Agents*, 1999; 13: 93-97.
- 11) Poojary A, Nataraj G, Kanade S, Mehta P, Baveja S. Rapid antibiotic susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis : Its utility in resource poor settings. *Indian J Med Microbiol*, 2006;24(4):268-72.
- 12) Velayati AA, Masjedi MM, Farnia P, Tabarsi P, Ghanavi J, Ziazarifi AH, *etal.* Emergence of new forms of totally drug-resistant tuberculosis bacilli: super Extensively Drug-Resistant tuberculosis or totally drug-resistant strains in iran. *Chest*. 2009 Aug; 136(2): 420-425.
- 13) Jain A, Dixi P. Multidrug-resistant tuberculosis to Extensively Drug-Resistant tuberculosis: What is nex? *J Biosci*. 2008 nov; 33 (4): 605- 616.
- 14) Datta BS, Hassan G, Kadri SM, Qureshi W, Kamili MA, Singh H, *etal.* Multi drug-resistant and extensively drug-resistant in Kashmir, India. *J Infect Dev Ctries*. 2009 nov 21; 4(1): 16-23.
- 15) Punga VV, Jakubowiak WM, Danilova ID, Somova TR, Volchenkov GV, Kazionnyy BY, *etl.* Prevalence of Extensively Drug-Resistant tuberculosis in Vladimir and Oreal regions, Russia. *Int J Tuber Lung Dis*. 2009 Oct; 13(10):1309-1312.