

بررسی نوع مایکوباکتریوم و تعیین حساسیت دارویی مایکوباکتریوم توبر کولوزیس جدا شده از نمونه های کلینیکی در کاشان

دکتر رضوان منیری^۱، سید حسن رسا^۲، سید غلامعباس موسوی^۳

چکیده

سل از مهمترین بیماریهای عفونی و یکی از شایعترین علل عمده مرگ و میر در دنیا، خصوصاً در کشورهای در حال توسعه می باشد. نظر به اهمیت بیماری سل و افزایش نمونه های مقاوم به چند دارو و اهمیت تعیین نوع مایکوباکتریوم و الگوی حساسیت دارویی آن از نظر اپیدمیولوژی و سیر درمان این تحقیق بر روی نمونه های کلینیکی بیماران مشکوک به توبرکولوز مراجعه کننده به آزمایشگاه مرکز مبارزه با سل انجام پذیرفت. بررسی حاضر از نوع توصیفی بر روی ۱۰۰ بیمار مبتلا به توبرکولوز اسمر مثبت از فروردین ۱۳۷۷ تا مهر ۱۳۷۸ انجام پذیرفت. پس از تکمیل پرسشنامه حاوی سن، جنس و ملیت نمونه خلط بیماران طبق روش استاندارد (بر روی محیط لوبین اشتاین، جنس کشت داده شده، نوع مایکوباکتریوم با استفاده از سرعت رشد، تولید پیگمان، شکل کلنی، تست نیاسین، احیاء نیترات، هیدرولیزتوزین و تست کاتالاز نیمه کیفی تعیین گردید). تستهای حساسیت دارویی بر روی ایزونیاژید (Sigma)، ریفامپیسین (Sigma)، استرپتومایسین (Sigma) و اتامبوتول (Sigma) به روش استاندارد انجام پذیرفت. اطلاعات با آمار توصیفی ارائه و فاصله اطمینان (Confidence Interval) با احتمال ۹۵ درصد در جامعه بر آورد گردید. ۹۴ سوش مایکوباکتریوم و ۶ سوش MOTT (مایکوباکتریوم غیر سلی) ایزوله گردید. ۴۳/۶٪ از سوشهای مایکوباکتریوم توبرکولوزیس جدا شده به ریفامپیسین مقاوم بوده و مقاومت با ایزونیاژید ۱۸/۱ درصد، به استرپتومایسین ۱۴/۹ درصد و به اتامبوتول ۳/۲ درصد بود. ۱۷ درصد نمونه ها مقاومت به ۲ داروی ایزونیاژید و ریفامپیسین را نشان دادند. میزان مقاومت به دو داروی ایزونیاژید و ریفامپیسین از حداقل ۹/۷ تا حداکثر ۲۴/۳ درصد بر آورد گردید. با توجه به میزان مقاومت بالا در سوشهای مایکوباکتریوم توبرکولوزیس جدا شده تحقیقات تحلیلی برای شناخت علل مقاومت توصیه می گردد.

واژه های کلیدی: مایکوباکتریوم توبرکولوزیس، مقاومت دارویی، کاشان

مقدمه

سل شایعترین بیماری عفونی مایکوباکتریایی در سراسر جهان است. طبق گزارشات سازمان جهانی بهداشت یک سوم مردم جهان به باسیل سل آلوده اند. سالیانه ۱۰-۸ میلیون مورد سل فعال باعث عفونت در ۱۰۰ میلیون نفر

۱-استادیار گروه میکروب شناسی و ایمونولوژی دانشکده پزشکی

۲- کارشناس ارشد میکروب شناسی، آزمایشگاه مرکز مبارزه با سل کاشان

۳- کارشناس ارشد آمار. دانشکده بهداشت

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کاشان

محیط کشت لوین اشتاین، جنس LJM تلقیح و در گرمخانه ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۸ هفته انکوبه گردید. نوع مایکوباکتریوم از طریق سرعت رشد، تولید پیگمان، شکل کلنی، تست نیاسین، احیا نیترات، هیدرولیز توئین و تست کاتالاز نیمه کیفی مشخص گردید. تست حساسیت دارویی با داروهای ایزونیازید (Sigma) به میزان $0.2 \mu\text{g/ml}$ ، ریفامپیسین (Sigma) $4 \mu\text{g/ml}$ ، استرپتومایسین (Sigma) $4 \mu\text{g/ml}$ و اتامبوتول (Sigma) $0.2 \mu\text{g/ml}$ در محیط لوین اشتاین جنس به روش استاندارد انجام پذیرفت. شیوع مایکوباکتریوم توبرکولوزیس و الگوی حساسیت دارویی آن در نمونه های مورد بررسی تعیین و فاصله اطمینان آن با احتمال ۹۵ درصد در جامعه برآورد گردید.

نتایج

یافته های این پژوهش نشان داد که سن بیماران مورد بررسی از حداقل ۱۶ تا حداکثر ۸۵ سال با میانگین مورد بررسی از حداقل ۱۶ تا حداکثر ۸۵ سال با میانگین سنی $70/5 \pm 16/6$ متغیر بوده است. ۵۱ نفر از بیماران مرد و ۴۹ نفر زن بودند. ۸۰ نفر از بیماران ایرانی و ۲۰ نفر افغانی بودند. از ۱۰۰ نمونه مورد بررسی ۹۴ سوش جدا شده مایکوباکتریوم های غیر توبرکولوزیس بودند. با احتمال ۹۵ درصد شیوع مایکوباکتریوم توبرکولوزیس از حداقل $89/4$ تا حداکثر $98/6$ درصد برآورد گردید. میزان کل مقاومت دارویی در سوشهای مایکوباکتریوم توبرکولوزیس $47/8$ درصد بود. $27/7$ درصد از سوشها به یک دارو، $9/5$ به ۲ دارو، $9/5$ درصد به ۳ دارو و $1/1$ درصد به ۴ دارو مقاوم بودند. مقاومت به ریفامپیسین به تنهایی در ۴۱ سوش ($43/6$ درصد)، ایزونیازید در ۱۷ سوش ($18/1$ درصد)، استرپتومایسین در ۱۴ سوش ($14/9$ درصد) و با اتامبوتول در ۳ سوش ($3/2$ درصد) مشاهده گردید. ۸ سوش ($8/5$ درصد) به ۳ داروی ریفامپیسین، ایزونیازید و استرپتومایسین مقاوم و به اتامبوتول حساس بودند. یک سوش ($1/1$ درصد) به ۴ داروی مورد بررسی مقاومت به ۲ دارو در ۹۴ سوش مایکوباکتریوم توبرکولوزیس را نشان می دهد.

می گردد و میزان مرگ و میر ناشی از این بیماری ۳ میلیون نفر در سال گزارش شده است^(۱). در کشورهایی که شیوع سل بالا است بیماری در اکثر موارد به دلیل مایکوباکتریوم توبرکولوزیس است ولی در کشورهایی که شیوع آن پایین است تعیین هویت سوشها اهمیت دارد. امروزه پیدایش مقاومت دارویی به عنوان یک مشکل جدی در مقابل برنامه کنترل سل در اغلب کشورها مطرح است. نتیجه مطالعه Cohn و همکاران از مرور ۶۳ تحقیق راجع به مقاومت داروهای ضد سلی بین سالهای ۱۹۸۵ تا ۱۹۹۴ نشان می دهد که مقاومت با ایزونیازید از $16/9$ - 0 درصد و اتامبوتول $4/2$ - 0 درصد بوده است^(۲). از سال ۱۹۹۰ تاکنون چندین مورد انتشار سل MDR (مقاومت همزمان میکروب سل در برابر ایزونیازید و ریفامپیسین) در مناطق مختلف جهان گزارش شده است^(۳). سل مقاوم به چند دارو (MDR) در نپال ۴۸ درصد، گوجرات هند $33/8$ درصد، نیویورک سیتی $30/1$ درصد، بولیوی $15/3$ درصد و کره $14/5$ درصد گزارش شده است^(۲).

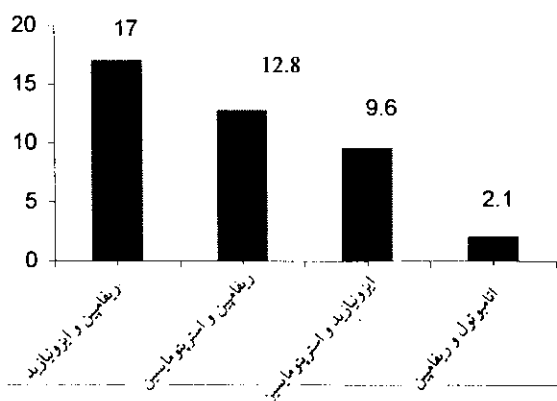
در حال حاضر تعیین میزان سل MDR و ارزیابی روند گسترش و کنترل آن به عنوان یکی از معیارهای اساسی کیفیت و موفقیت برنامه های کنترل سل در کشورها به شمار می رود. از آنجا که شناسایی نوع مایکوباکتریوم و تعیین الگوی حساسیت دارویی در تشخیص، پیگیری روند درمان و مطالعات اپیدمیولوژی سل نقش محوری دارد و با توجه به عدم دسترسی به این اطلاعات لزوم انجام این بررسی در کاشان احساس گردید.

روش بررسی

این مطالعه به روش توصیفی - مقطعی بر روی خلط ۱۰۰ بیمار مشکوک به توبرکولوز اسمیر مثبت مراجعه کننده به آزمایشگاه مرکز مبارزه با سل کاشان در فاصله فروردین ۱۳۷۷ تا مهر ۱۳۷۸ انجام پذیرفت.

نمونه ها به روش پتروف با محلول سود ۴ درصد هضم و آلوده زدایی شدند. لوله ها به مدت ۱۵ دقیقه و در 3000 دور سانتریفوژ گردید و سپس $0/5$ میلی لیتر از ته نشین نمونه به

بحث



نمودار ۱: توزیع فراوانی مقاومت به ۲ دارو در ۹۴ سوش مایکوباکتریوم توبرکولوزیس جدا شده از نمونه های کلینیکی کاشان در سال ۱۳۷۸

و استرپتومایسین مقاوم بودند طبق مطالعه Dawson ۱۵ درصد از ایزوله های مایکوباکتریوم مقاوم به چند دارو بوده اند^(۱۳). در مطالعه ما ۱/۱ درصد سوشها به چهار دارو مقاوم بوده است. در مطالعه Foder میزان مقاومت به چهار دارو و ۳ درصد گزارش شده است^(۱۴). از نظر بالینی مقاومت میکروب سل همیشه یک مشکل ساخته دست بشر است و در اثر تمکین بیماران، پزشکان و دیگر کارکنان بهداشتی به صورت تجویز نسخه های درمانی نادرست یا غیر مؤثر و نارسائی های برنامه ای از قبیل عدم پیش بینی، تدارک و توزیع به موقع دارو و از طرف مسئولین مربوطه می تواند در ایجاد این مشکل شدیداً تأثیر بگذارد^(۳). بروز مقاومت به درمان (خصوصاً سل MDR) امکان بهبودی بیماران را در واحدهای بهداشتی درمانی به شدت تضعیف کرده و کنترل بیماری را در جامعه به شکست می کشاند. لذا با توجه به میزان مقاومت بالا به ریفامپیسین و خصوصاً مقاومت همزمان ایزونیازید و ریفامپیسین در منطقه انجام درمان قبلی، نظم درمان، طول مدت درمان، رژیم درمانی جهت تعیین هر یک از عوامل و قضاوت آماری آن در میزان بروز مقاومت پیشنهاد می گردد.

یافته های تحقیق نشان می دهد که ۹۴ درصد از نمونه های مورد بررسی مایکوباکتریوم توبرکولوزیس و ۶ درصد MOTT (مایکوباکتریوم های غیر توبرکولوز) می باشد. طبق مطالعات انجام شده ۹۰ درصد سوشهای جدا شده از بیماران مبتلا به توبرکولوز مایکوباکتریوم توبرکولوزیس و ۱۰ درصد آن مربوط به ایزوله های MOTT می باشد^(۴). در مطالعه ما میزان کلی مقاومت ۴۷/۸٪ بود. طبق مطالعه Hamze در لبنان^(۵) میزان کلی مقاومت در ۹۶ بیمار مورد بررسی ۲۶ درصد و در مطالعه YU-MC در تایوان ۱۲/۳٪^(۶) گزارش گردیده است. آمار کلی مقاومت در کشورهای نظیر کره ۴۷/۸-۲۷٪، فیلیپین ۴۸/۵٪ و موریتانی ۴۶/۶٪ گزارش گردیده که با نتایج مطالعه ما مطابقت دارد^(۲). در مطالعه ما میزان مقاومت به ریفامپیسین به عنوان ۴۳/۶٪ بود. مقاومت اولیه به ریفامپیسین به عنوان یک داروی منفرد در درمان سل غیر معمول بوده و از صفر تا ۳٪ گزارش شده است^(۲). در مطالعه Karamal در روالپندی میزان مقاومت به ریفامپیسین ۲۴٪^(۷) و در مطالعه Araj در بیروت میزان مقاومت از ۱۲/۵٪ در سال ۱۹۹۵ به ۱۶/۲٪ در سال ۱۹۹۸ افزایش یافته^(۸) و در مطالعه Bengisun در ترکیه میزان مقاومت ۶/۹٪ گزارش گردیده است^(۹). میزان مقاومت به ایزونیازید در مطالعه ما ۱۸/۱ درصد بود. گزارشات از میزان مقاومت بالا به ایزونیازید ۱۶/۹٪ در هند، ۱۲/۲٪ در هایتی، ۱۰/۲٪ در کنیا و میزان مقاومت پایین در آرژانتین ۱/۶ درصد، جنوب شرقی انگلستان ۲/۱٪ و ملیورن استرالیا ۳/۵ درصد ارائه گردیده است^(۲). میزان مقاومت همزمان به ۲ داروی ریفامپیسین و ایزونیازید MDR در مطالعه ما ۱۷ درصد می باشد. در مطالعه Karamat در روالپندی سل MDR ۱۳/۷ درصد^(۷)، در مطالعه Garcia در مکزیک ۷/۷ درصد^(۱۰)، در مطالعه Bengisun در ترکیه ۵/۸ درصد^(۹)، مطالعه فرزاد در کانادا ۰/۷ درصد^(۱۱) و در مطالعه Robert فرانسه ۰/۳ درصد گزارش شده است^(۱۲). در مطالعه ما ۸/۵ درصد از سوشها به سه داروی ریفامپیسین، در مطالعه ما ۸/۵ درصد از سوشها به سه داروی ریفامپیسین، ایزونیازید

References

- 1-Fauci , Braunwald , Isselbacher , Wilison , Harrison.S *Principle of internal Medicine* . Part infection Dis Tuberculosis Vol I , 14th edition McGraw , Hill 1998; P: 997.
- 2-Cohn.D.L, Bustreo.F and Raviglone Mc. *Drug, Resistant tuberculosis : Review of the worldwide situation and the WHO/IUATLD global surveillance project* . Clinical Infection Diseases 1997; 24(Suppl 1) S121030.
- ۳- مسجیدی. محمدرضا ، طباطبائی . سید جواد ، سالک . سالک ، ولایتی. علی اکبر. *راهنمای مبارزه با سل ، مجموعه انتشارات تحقیقات سل و بیماریهای ریوی*، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی چاپ دوم ، ۱۳۷۶ ، صص ۴۰-۱۲.
- 4- NMS Microbiology and Infectious diseases gabriell virella 3rd edition, William and Wilkins 1997; P: 167-173.
- 5- Hamez.M.M, Araj.G.F, *Drug resistance among mycobacterium tuberculosis isolated in lebanon* . Int . J. Tuber. Dis . 1997-Aug 1 (4) ; PP: 1314-8.
- 6- Yn.MC. Suo.J, Change .C.Y, Bai.Ky ; Line TP. *Initial drug resistant of mycobacterium tuberculosis isolated in Taiwan* . J. Formo.Med, Assoc 1997; nov, 6(11) , PP: 890-4.
- 7- Karamat.K.A, Rafi.S, Abbasi.S.A. *Drug resistance in mycobacterium tuberculosis A four years experience* J pak Med Assoc 1999, Nov; 49(11) ; PP: 262-5.
- 8- Araj.G.F, Ttani.Iy, Kanj.N.A, Jamatedeine .G.W, *Comparative study of antitubercrculous drug resistance among mycobacterium tuberculosis isolated recovered at the American university of beirut medical center* , 1996-1998; VS1994-1995; J.Med Liban 2000 Jan. Feb. 48(1), PP: 18-22.
- 9- Bengisum .J.S, Karnak. D, Palabiyikoglu .I, Saygun .N. *Mycobacterium tuberculosis isolated drug resistance in Turkey* , 1976-79 Scand , J. Unfec Dis 2000, 32(5), PP: 507-10.
- 10- Garsia.Garsia.M.L, Jimenez.Corona.M.E, Pone.de.Leon.A, et al . *Mycobacterium tuberculosis drug resistance in a suburban community in southern Mezico*. Int . J. Tubere lung Dis 2000 Dec, (12 Suppl 2) ; S168-70.
- 11- Farzad. E, Holton. D, Long. R, Fitz Gerald.M, Lasto. A , Njoo. H, Fanning. A, Hershfield .E, Hoppner.V, Allene. *Drug resistance study of mycobacterium tuberculosis in Canada* , Feb 1 , 1993; to Jan 31 , 1994; Can J Public. Health 2000 Sep.Oct, 91(5) , PP: 366-70.
- 12- Robert.J, Trystram.D, Truffot.Pernot.C, Carbonnelle .B Grosset .J. *Surveillance of mycobacterium tuberculosis drug resistance in France, 1995-1997. AZAY mycobacterium study group* .Int. Tuberc lung .Dis 2000 Jul, 4(1),PP:665-72.
- 13- Dawson .D. *Tuberculosis in australia bacteriologically confirmed cases and drug resistance* , 1996; report of the australian mycobacterium reference laboratory network Commun dis intell 1998. Sep 3, 22(9) , PP: 183-8.
- 14- Fodor.T, Vadasz.I, Lorinczi.I. *Drug resistnat tuberculosis in budapest* int .J. tubere lung dis 1998 Sep, 2(9), PP:732-5.