Archive of SID

فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان
شماره پیاپی ۱۰، جلد ۳، شماره ۳، تابستان ۸۹، صفحه ۹۹ تا صفحه ۱۰۶

ارزیابی تولید *E-test* در ایران

محمدرضا صادقی[۱]

۱- عضو هیات علمی گروه صنایع غذائی دانشگاه آزاد واحد ماکو. sadeghi_mhrz@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۱۶ تاریخ پذیرش: ۸۹/۶/۱۶

چکیده

یکی از چالش‌های علوم پزشکی و علوم مرتبط با آن به خصوص در بحث میکروبیولوژی بالینی تولید و به کارگیری داروها و مواد ضد میکروبی موثر علیه پاتوژن‌های شایع انسانی است. تعقیب مستمراین گونه‌های پاتوژن و بررسی الگوی مقاومت آن‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌ها امری اجتناب ناپذیر است. انجام تست‌های حساسیت نسبت به مواد ضد میکروبی با روش‌های Disk diffusion test و Dilution methods از تکنیک‌های رایج مورد استفاده است. روش Disk diffusion test به علت نیمه کمی بودن، نتایج قابل اطمینانی در تعیین الگوی حساسیت گونه‌های میکروبی به دست نمی‌دهد. تعیین MIC با روش‌های Microdilution Technique، Macrodilution Broth و جدیداً E-test نتایج قابل تفسیر و مفیدی در زمینه تعیین الگوی حساسیت گونه‌ها در اختیار محققین قرار می دهد. روش‌های Macrodilution Broth وMicrodilution Broth به علت طولانی بودن روش، از لحاظ زمانی و هم چنین هزینه مقرون به صرفه نبوده و از طرفی احتمال بروز خطا در این روش‌ها قابل توجه است. E-test از روش‌هائی است که با استفاده از آن به سادگی با صرف وقت و هزینه کمی می توان حساسیت یا مقاومت گونه‌ای خاص را نسبت به دارویی معین تعیین کرد. در این تحقیق طراحی، چاپ، کوت نمودن آنتی بیوتیک روی صفحات پلاستیکی و آزمایش‌های کنترل کیفی با استفاده از سویه‌های میکروبی استاندارد براساس استاندارد M7 A7 انستیتو استانداردهای آزمایشگاه‌های بالینی (CLSI) انجام شد. دراین تحقیق کیفیت مواد اولیه مورد استفاده برای طراحی E-test مطلوب ارزیابی شد. نوارهای طراحی شده بر روی سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس مورد ارزیابی قرار گرفته و تکرار پذیری و صحت نتایج آن‌ها مورد تایید قرار گرفت.

کلید واژه: تولید، E-test، ایران.

مقدمه

با توجه به اهمیت مقاومت دارویی در سویه‌های پاتوژن، ارزیابی الگوی مقاومت سویه‌های میکروبی نسبت به داروهای ضد میکروبی به منظور تجویز مناسب ترین دارو ضروری و اجتناب ناپذیر خواهد بود. میکروارگانیسم‌ها علاوه بر این که ممکن است دارای مکانیسم‌های متعددی برای مقاومت نسبت به عوامل ضد میکروبی باشند، الگوی مقاومت و سطوح مقاومت آن‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌ها ثابت نبوده و با گذشت زمان و تحت شرایط مختلف الگوی مقاومت متفاوتی از خود نشان می دهند. این ویژگی سبب شده در فرآیند درمان سویه‌های پاتوژن، الگو و سطوح مقاومت این سویه‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌ها به طور مستمر مورد ارزیابی و تعقیب قرار گیرد. برای این منظور فعالیت ضد میکروبی داروهای متعدد نسبت به سویه‌های پاتوژن مورد ارزیابی قرار می گیرد. تعیین الگو و سطوح مقاومت یا حساسیت یک پاتوژن باکتریال نسبت به یک داروی ضد میکروبی با یکی از دو روش اصلی Dilution

www.SID.ir

Archive of SID

و Diffusion قابل انجام است. از آن جائی که فاکتورهای متعددی بر فعالیت ضد میکروبی یک دارو تحت شرایط آزمایشگاهی تاثیر می گذارند، روش استانداردی برای ارزیابی الگو و سطوح مقاومت ارگانیسم‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌ها باید وجود داشته باشد. انستیتوی استانداردهای آزمایشگاه‌های بالینی یا Clinical Laboratory Standards Institute(CLSI) تدوین کننده این استانداردها بوده و در حال حاضر استاندارد مرجع برای تعیین الگوی حساسیت سویه‌های پاتوژن محسوب می شود. در روش Dilution method رقت‌های سریالی از داروی ضد میکروبی در محیط کشت مایع یا جامد ایجاد می‌شود. این محیط‌های کشت در مرحله بعد با باکتری مورد آزمایش تلقیح و انکوبه می شوند. حداقل غلظتی از دارو که سبب مهار رشد ارگانیسم می شود تعیین کننده سطوح مقاومت ارگانیسم نسبت به آنتی بیوتیک مورد نظر می باشد. متداول ترین روش تعیین الگوی حساسیت پاتوژن‌های باکتریال Disk Diffusion Test می باشد. در این روش دیسک‌های کاغذی آغشته به مقدار معینی از آنتی بیوتیک‌های مختلف در سطح محیط کشت جامدی که به طور متراکم توسط باکتری مورد آزمایش کشت داده شده قرار داده می شود. پس از انکوباسیون، اندازه قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های کاغذی به عنوان معیاری از قدرت مهار کنندگی دارو برای ارگانیسم مورد نظر می باشد. به منظور تعیین الگوی حساسیت یک پاتوژن لازم است کشت خالصی از آن ارگانیسم داشته باشیم. بنابراین نمونه گیری صحیح از محل عفونت و تهیه کشت خالصی از آن ارگانیسم تاثیر قابل توجهی بر نتیجه درمان عفونت حاصل از آن خواهد داشت. چنان چه ارگانیسم عامل عفونت بدرستی مورد تعیین هویت قرار گیرد تجویز دارو می تواند در مواردی بر اساس تجربیات قبلی پزشک و بدون تعیین الگوی حساسیت صورت گیرد. اما از آن جائی که الگوی حساسیت ارگانیسم‌ها تحت شرایط و زمان‌های مختلف متغیر است از این رو ارزیابی الگو و سطوح مقاومت ارگانیسم‌های پاتوژن امری اجتناب ناپذیر است (۱۳،۱۴،۱۵،۱۶،۱۸). تولید E-test اولین بار در کشور سوئد توسط شرکت AB Biodisk در سال ۱۹۹۱ صورت گرفت. این شرکت موفق به دریافت تاییدیه و گواهینامه بین المللی تولید این محصول بر اساس استاندارد ۲۰۰۳ ISO ۱۳۴۸۵ در سال ۲۰۰۶ شده است. این محصول از بدو تولید توسط محققین مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته و مقاله‌های متعددی در این زمینه منتشر شده است(۳،۴،۶،۷،۸،۱۰،۱۱،۱۲،۱۷). در این مقالات صحت نتایج و تکرار پذیری آن‌ها با استفاده از E-Test در ارگانیسم‌های مختلف تایید شده و استفاده از آن در جهت ارزیابی الگوی حساسیت ارگانیسم‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌های مختلف توصیه شده است. E-Test نواری آغشته به غلظت‌های سریالی از آنتی بیوتیک است. غلظت‌های سریال از آنتی بیوتیک در قسمت پشتی این نوارها کوت شده اند. هر نقطه کوت شده از آنتی بیوتیک دارای غلظت مشخص و دقیقی از آنتی بیوتیک است. در این روش نواری از E-Test بر روی کشت متراکمی از باکتری مورد نظر بر روی محیط کشت جامد مولر هینتون آگار قرار داده می شود. حداقل غلظتی از دارو که سبب مهار رشد ارگانیسم مورد آزمایش می شود در محل تقاطع کلونی‌های باکتری با نوار E-Test قابل رویت و گزارش است. در این روش بعلت کوت شدن رقت‌های سریال از قبل، دیگر، نیازی به مراحل طولانی تهیه رقتهای سریال نبوده و روشی ساده و سریع برای اندازه گیری MIC نسبت به روش‌های Micodilution Broth و Macrodilution Broth می باشد. بنابراین این تحقیق به منظور طراحی این وسیله مفید پیشنهادگردید.

مواد و روش‌ها

ارزیابی بار میکروبی صفحات پلاستیکی O.H.P FILM

صفحات پلاستیکی مورد استفاده در این تحقیق از لحاظ بار میکروبی مورد آزمایش قرار گرفتند. این صفحات به منظور تولید نوارهای E-test باید استریل

www.SID.ir

Archive of SID

باشند. در صورت آلوده بودن، این صفحات باید با روشی مناسب قبل از کوت نمودن آنتی بیوتیک روی آن استریل شوند. مقدار بار میکروبی این صفحات تعیین کننده روش استریلیزاسیون آن‌ها خواهد بود. به منظور تعیین بار میکروبی، محیط کشت‌های EMB آگار و آگار خون دار ساخت شرکت مرک در پلیت‌های ۸ سانتی تهیه شدند. صفحات پلاستیکی مورد آزمایش در یک نمونه گیری تصادفی به اندازه قطر داخلی پلیت‌ها برش داده شد و بر روی محیط‌های کشت فوق قرار داده شد. مقدار بار آلودگی آن‌ها پس از یک شب انکوباسیون مورد بررسی قرار گرفت. مقدار آلودگی برحسب cfu/mm^2 گزارش شد.

تایید صحت Potency آنتی بیوتیک پنی سیلین مطابق با استانداردهای ISO/FDIS و CLSI

در این تحقیق از آنتی بیوتیک پنی سیلین ساخت شرکت SIGMA استفاده شد. این دارو باید قبل از استفاده از لحاظ صحت Potency یا قدرت اثر بخشی درج شده روی آن مورد تایید قرار گیرد. برای این منظور MIC سویه استاندارد استافیلوکوکوس ورئوس ATCC29213 برای آنتی بیوتیک پنی سیلین مطابق با استانداردهای ISO/FDIS 20776-1 و CLSI مورد ارزیابی قرار گرفت و نتیجه بدست آمده با MIC گزارش شده در استانداردهای فوق مورد مقایسه قرار گرفت. چنان چه MIC بدست آمده برای سویه استاندارد با MIC استاندارد تطابق داشته باشد صحت Potency آنتی بیوتیک مورد نظر مورد تایید بوده و نتایج کمی حاصل از هرگونه تحقیق با استفاده از این آنتی بیوتیک قابل استناد خواهد بود (۱،۲،۵،۹).

بررسی تاثیر احتمالی صفحات O.H.P بر نتایج MIC بدست آمده از E-testهای طراحی شده

در این تحقیق صفحات پلاستیکی مورد استفاده برای طراحی E-test از لحاظ تاثیر در نتایج MIC مورد ارزیابی قرار گرفتند. مواد مورد استفاده در ساخت این صفحات، احتمالاً می توانند با تاثیرات نامطلوبی که بر رشد میکروب‌ها ایجاد می کنند، در نتایج MIC خطا ایجاد کنند. چنانچه نوارهای E-test با استفاده از صفحات نامناسب تولید شوند، مقادیر MIC بدست آمده از مقادیر واقعی آن بیشتر خواهد بود. برای این منظور در این بررسی MIC سویه استانداردی که MIC آن در مرحله قبل تعیین شده بود، مجدداً یک بار دیگر در حضور قطعه ای از صفحات اندازه گیری شد. این بررسی برای ۱۰۰ قطعه از این صفحات انجام شد و نتایج آن با مقدار MIC سویه استاندارد مورد مقایسه قرار گرفت. این روش با استفاده از روش Macrodilution Broth صورت گرفت با این تفاوت که قطعه ای از این صفحات استریل بریده شد و در داخل تمامی لوله‌های مربوطه قرار داده شد (۱،۲،۵،۹).

طراحی و تولید E-test و ارزیابی صحت و تکرار پذیری نتایج

پس از انجام کنترل‌های کیفی لازم بر روی مواد اولیه، طراحی نوارهای E-test با استفاده از نرم افزار Microsoft Word ۲۰۰۳ صورت گرفت. نوارهای E-test در یک سطح خود دارای درجه بندی‌های چاپ شده ای هستند که نشان دهنده غلظتهای استاندارد MIC هستند. در این سطح علاوه بر این علائم، حروف اختصاری نشان دهنده نوع آنتی بیوتیک کوت شده نیز درج شده است. این نوارها در سطح دیگر خود دارای فونت‌هائی از آنتی بیوتیک کوت شده هستند. یکی از نکات مهمی که باید در طراحی E-test مورد توجه قرار گیرد تطابق بسیار دقیق علائم در یک سطح با فونتهای کوت شده از آنتی بیوتیک در سطح دیگر می باشد. حتی یک خطای بسیار جزئی در این تطابق سبب بروز خطای فاحشی در تفسیر نتایج MIC خواهد شد. در این مرحله، طراحی در ابعاد A۴ و به تعداد ۱۰۴ عدد E-test در یک صفحه از O.H.P صورت گرفت(۱،۲،۵،۹).

کوت نمودن صفحات O.H.P با آنتی بیوتیک پنی سیلین G :

به منظور کوت نمودن سطح پشتی صفحات با آنتی

www.SID.ir

Archive of SID

بیوتیک لازم بود طراحی جداگانه ای برای فونت‌های آنتی بیوتیک صورت گیرد. این طراحی نیز با استفاده از نرم افزار Microsoft Word 2003 صورت گرفت. فونت‌های طراحی شده برای کوت نمودن آنتی بیوتیک بصورت گرد و با فونت‌های مختلف صورت گرفت. در این طراحی اندازه فونت و رنگ فونت بر حسب سیستم RGB تعیین کننده غلظت آنتی بیوتیک کوت شده می باشد. به منظور کوت نمودن آنتی بیوتیک با غلظت‌های استاندارد از دو طیف آبی و سیاه در سیستم RGB استفاده شد. موقعیت فونت‌ها و تطابق آن‌ها با علائم چاپ شده در سطح دیگر از نکات مهمی است که در این طراحی باید رعایت شود.

به منظور کوت نمودن صفحات با آنتی بیو تیک از پرینتر EPSON STYLUS C91 استفاده شد. در این روش ابتدا محلول استانداردی از آنتی بیوتیک با غلظت ۱۰۰۰۰ µg/ml تهیه شد. در مرحله بعد این محلول تحت شرایط آسپتیک در کارتریج‌های مخصوص این چاپگر ریخته شد. این محلول با استفاده از بافر PBS ساخته شد. این بافر بدون اینکه در مقادیر MIC تاثیری داشته باشد به Coating بهتر سطح صفحات O.H.P کمک موثری می کند. صفحات چاپ شده با استفاده از پرینتر لیزری، در مرحله بعد تحت شرایط آسپتیک با استفاده از پرینتر جوهر افشان مدل فوق کوت شدند. صفحات کوت شده در مرحله بعد تحت شرایط آسپتیک خشک شده و توسط کاتر مخصوص به نوارهای جداگانه برش داده شد(۱۸).

ارزیابی صحت و تکرار پذیری نتایج حاصل از E-testهای طراحی شده

در این مرحله از تحقیق صحت و تکرار پذیری نتایج حاصل از نوارهای E-test طراحی شده مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور در وهله اول، این ارزیابی با استفاده از سویه استاندارد ATCC 29213 استافیلوکوکوس اورئوس صورت گرفت. از آن جائی که مقدار MIC این سویه نسبت به پنی سیلین G در مرحله قبل تعیین شده بود، مقادیر MIC این سویه این بار با استفاده از E-testهای طراحی شده اندازه گیری شد. در این مرحله ابتدا سوسپانسیون میکروبی استانداردی مطابق با ۰/۵ مکفارلند از سویه استاندارد تهیه شد. برای این منظور ۳ تا ۵ کلونی از باکتری کشت داده شده در محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار ساخت شرکت مرک انتخاب و در سرم فیزیولوژی حل شد. کدورت این سوسپانسیون مطابق با استاندارد ۰/۵ مکفارلند با استفاده از سرم فیزیولوژی تنظیم شد. با استفاده از سوآب استریل کشت متراکمی از سوسپانسیون فوق بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار ایجاد شد. در مرحله بعد دو نوار E-test بر روی کشت متراکم به موازات هم قرار داده شد. در این روش از پلیت‌های ۱۰ سانتی استفاده شد. این پلیت‌ها دارای گنجایش کافی برای قرار دادن حداکثر دو نوار E-test هستند. این روش نیز مطابق با استاندارد اخیر CLSI صورت گرفت. طی این مرحله MIC سویه میکروبی استاندارد با استفاده از ۲۰۰ نوار طراحی شده مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور کنترل کیفی و کمی، نوارهای طراحی شده در وهله دوم با مشابه خارجی مورد مقایسه قرار گرفتند. در این بخش از تحقیق، MIC سویه استاندارد توسط ۱۰۰ نوار E-test خارجی ساخت شرکت AB biodisk اندازه گیری و نتایج آن با نتایج حاصل از اندازه گیری MIC سویه استاندارد توسط ۲۰۰ نوار E-test طراحی شده مورد مقایسه قرار گرفت(۱،۲،۵،۹).

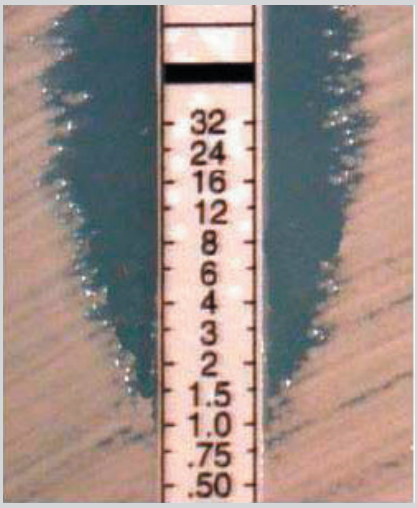
نتایج

در بررسی بار میکروبی صفحات O.H.P، میزان آلودگی cfu/mm^2 ۰/۱۰۰ تعیین شد. در این بررسی بار میکروبی صفحات پس از استریلیزاسیون توسط گاز اکسید اتیلن نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. بار میکروبی پس از استریلیزسیون به میزان مطلوبی حدود cfu/mm^2 ۰/۱۰۰۰۰۰ کاهش داده شد. در ارزیابی صحت Potency آنتی بیوتیک پنی سیلین، که مطابق با استانداردهای ISO و CLSI صورت گرفت، MIC سویه استاندارد نسبت به

www.SID.ir

Archive of SID

پنی سیلین ۱/۵ میکروگرم در میلی لیتر تعیین شد که در رنج MIC تایید شده در استانداردهای فوق یعنی ۰/۵ تا ۲ میکروگرم در میلی لیتر می باشد. در ارزیابی تاثیرات ضد میکروبی صفحات O.H.P، MIC سویه استاندارد در حضور قطعه ای از صفحات O.H.P اندازه‌گیری شد. برای این منظور MIC سویه استاندارد با استفاده از روش Macrodilution method اندازه گیری شد. در این روش در تمامی لوله‌های آزمایش مربوط به این تست قطعه ای از صفحات O.H.P قرار داده شد. در این بررسی تغییری در MIC سویه استانداردنسبت به پنی سیلین در حضور این قطعات مشاهده نشد. در ارزیابی صحت و تکرار پذیری نتایج حاصل ازE-testهای طراحی شده، MIC سویه استاندارد توسط E-testهای طراحی شده مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی MIC سویه استاندارد نسبت به پنی سیلین توسط ۲۰۰ نوارE-Test، مطابق با استانداردهایISO و CLSI تعیین شد. در این ارزیابی ۹۸/۴٪ نتایج بدست آمده مطابق با MIC سویه استاندارد بود. در ارزیابی کیفیت نوارهای طراحی شده با استفاده از مشابه خارجی از ۱۰۰ نوار E-test پنی سیلین ساخت شرکت AB Biodisk استفاده شد. طبق این ارزیابی ۹۸/۵٪ نوارهای طراحی شده، نتایج یکسانی در مقایسه با مشابه خارجی نشان دادند. شکل ۱ نمونه‌ای از نوارهای طراحی شده در این بررسی را نشان می‌دهد.



شکل ۱- نوار E-Test طراحی شده حداقل غلظت مهار کننده رشد را نسبت به پنی سیلینG برای سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC29213، ۱/۵ میکروگرم در میلی لیتر نشان می‌دهد

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به مکانیسم‌های متعددی که میکروارگانیسم‌ها با واسطه آن در مقابل تاثیرات ضد میکروبی آنتی بیوتیک‌ها مقاومت می کنند و هم چنین طبیعت متغیر این مکانیسم‌ها، تعیین الگوی حساسیت ارگانیسم‌ها و تعقیب آن در سویه‌های پاتوژن، به منظور درمان موفقیت آمیز عفونت‌های مقاوم به دارو امری اجتناب ناپذیر خواهد بود. در بین روش‌هائی که برای ارزیابی الگوی حساسیت ارگانیسم‌ها مورد استفاده قرار می گیرد Disk Difussion Test روشی کم هزینه و مقرون به صرفه است. سایر روش‌ها مثل Macrodilution Broth و Microdilution Broth زمان بر بوده و به صورت روتین استفاده از این روش‌ها در آزمایشگاه‌های بالینی امکان پذیر نیست. چندین سال است که E-test به عنوان روشی روتین و ساده برای اندازه گیری MIC سویه‌های میکروبی در آزمایشگاه‌های بالینی در کشورهای توسعه یافته مورد

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده است. با توجه به هزینه بالای واردات این محصول امکان استفاده روتین در آزمایشگاه‌های داخل کشور وجود ندارد. بنابراین طراحی داخلی این ابزار تشخیصی می تواند هزینه تمام شده انجام این تست را به مقدار قابل توجهی کاهش دهد. روش Disk Difussion Test تعیین کننده مقاومت یا حساسیت سویه میکروبی نسبت به یک آنتی بیوتیک معین بوده و این روش نمی تواند حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) را تعیین کند. یکی از خطاهای مهمی که در روش Disk Difussion Test رخ می دهد این است که بخشی از آنتی بیوتیک موجود در دیسک‌ها جذب فیبرهای سلولزی در دیسک‌های کاغذی شده و جذب آگار نمی شود. این پدیده سبب می شود میکروارگانیسم‌ها با غلظت‌های استاندارد از آنتی بیوتیک مواجه نشده و در الگوی حساسیت سویه‌های مورد آزمایش خطا ایجاد شود. علاوه بر این قطر هاله عدم رشد در این روش، دقیقاً نمی تواند تعیین کننده سطوح مقاومت ارگانیسم نسبت به داروی ضد میکروبی باشد. این روش معمولاً با نتایج نیمه کمی که بدست می دهد روش قابل اطمینانی برای درمان منطقی و اصولی عفونت‌ها نیست. در مقایسه با این روش اندازه گیری MIC با استفاده از E-test نتایج قابل استناد و مفیدی از سطوح مقاومت سویه مورد آزمایش بدست می دهد. در این روش اولاً به دلیل این که دارو بر روی صفحات غیر سلولزی کوت شده، امکان جذب دارو توسط نوار و بروز خطا در نتیجه آزمایش به حداقل می رسد. در این روش تقریباً ۱۰۰٪ داروی کوت شده جذب آگار شده و سویه میکروبی مورد آزمایش با غلظتی دقیق و مشخص از دارو مواجه می شود. ثانیاً در این روش بعلت Coating غلظت‌های معینی از آنتی بیوتیک، سطوح مقاومت یا حساسیت سویه‌ها نسبت به یک داروی معین بطور دقیقی قابل اندازه گیری است. این روش علاوه براین که از هزینه‌های اضافی ناشی از درمان ناموفق جلوگیری می کند بلکه کمک موثری در تشخیص مکانیسم‌های مقاومت ارگانیسم‌ها نسبت به داروهای ضد میکروبی محسوب می شود. از آنجائی که مکانیسم‌های مقاومت، سطوح مقاومت یکسانی در یک سویه میکروبی ایجاد نمی کنند، با توجه به کمیت سطوح مقاومت در یک سویه معین، می توان مکانیسم احتمالی مقاومت را پیش بینی نمود. با توجه به این مطالب، این تحقیق به منظور ارزیابی طراحی و تولید E-test پیشنهاد شد. با توجه به نتایج این تحقیق مواد اولیه مورد استفاده برای طراحی E-test از کیفیت خوبی برخوردار بود. صفحات O.H.P به علت بار میکروبی پائین و عدم ایجاد خطا در نتایج MIC، صفحات مناسبی برای این منظور بودند.

با توجه به تایید Potency پنی سیلین G مطابق با استانداردهای CLSI و ISO برای سویه استاندارد استافیلوکوکوس ATCC29213، نتایج بدست آمده از تعیین MIC، با استفاده از این آنتی بیوتیک قابل استناد و معتبر بودند. بر همین اساس تطابق ۹۸/۴ درصدی نتایج MIC با استفاده از E-testهای طراحی شده با MIC سویه استاندارد، نشان دهنده صحت نتایج E-test های طراحی شده و تکرار پذیری قابل قبول آن می باشد. این تکرار پذیری بار دیگر با مقایسه این نتایج با نتایج حاصل از ۱۰۰ نوار E-test خارجی مورد تایید قرار گرفت. این یافته‌ها در مقایسه با یافته‌های محققین سوئدی در زمینه طراحی E-test و ارزیابی تکرار پذیری نتایج آن تفاوت قابل توجهی را نشان نمی‌دهد. این محققین در تحقیق خود تطابق ۹۹/۱٪ را بین مقادیر MIC حاصل از E-Testهای طراحی شده با نتایج حاصل از روش Macrodilution Broth در مقایسه با تطابق ۹۸/۴درصدی این تحقیق به دست آوردند(۹-۶).یکی از مهم ترین فاکتورهای تعیین کننده در تولید E-test، هزینه تمام شده آن می باشد. هزینه تمام شده این نوارها در کشور سوئد برای هر نوار دو دلار می باشد. این نوارها در کشور سوئد با قیمت ۳۰۰ دلار به ازای ۱۰۰ نوار به فروش می رسد. هزینه تمام شده واردات E-test به ازای هر نوار ۵ تا ۶ دلار است. از این رو برای

www.SID.ir

Archive of SID

تعیین MIC ۱۰۰ نمونه بالینی، حدود ۵۰۰ تا ۶۰۰ دلار در ایران هزینه می شود. بنابراین استفاده روتین از E-test در آزمایشگاه‌های بالینی با توجه به هزینه بالای آن ممکن نخواهد بود. تولید داخلی این نوارها می تواند هزینه تمام شده E-test را به مقدار قابل توجهی کاهش دهد. در این تحقیق هزینه تمام شده تولید داخل به ازای هر نوار یک دلار محاسبه گردید. چنانچه این تحقیق به مرحله تولید انبوه برسد هزینه تمام شده به مقدار قابل توجهی کاهش خواهد یافت. تحت چنین شرایطی E-test می تواند به عنوان یک ابزار تشخیصی مقرون به صرفه بصورت روتین مورد استفاده قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از حوزه پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد ماکو که این مقاله حاصل از طرح پژوهشی خاتمه یافته با عنوان ارزیابی تولید ای تست در ایران می‌باشد کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

1. American society for microbiology. (2005). Manual of antimicrobial susceptibility testing.

2.Biodisk ,AB. (2007). E-test technical guide no. 6. MIC determinations. AB Biodisk, Solna, Sweden.

3.Carolyn, N.B., Sheila, A.S., David H.C., Clyde, T. (1991). Comparison of the E test to Susceptibility Testing Techniques by Using a Special Challenge Set of Bacteria. J.Clin. Microbiol,29; 533-538.

4.Christopher ,P.D., Steven, S., Gottlieb ,T. (1994).Evaluation of E Test as a Rapid Method for Determining MICs for Nutritionally Variant Streptococci. J.Clin.Microbiol,32;2318-2320.

5.Clinical and laboratory standards institute. (2006). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard.clsi document m2-a9,vol.26,no. 1. Clinical and laboratory standards institute.

6.Doern, G. V., Jones, R. N. (1988). Antimicrobial susceptibilitytesting of Haemophilus influenzae, Branhamella catarrhalis, and Neisseria gonorrhoeae. Antimicrob. Agents Chemother,32;1747-1753.

7.Elizabet, A.M., Edward, O.M., Hermes, Y.O., Mark, T.L. (1994). Comparison of Determining Antibiotic Susceptibilities of Penicillin-Resistant Strain of Streptococcus Pneumoniae. J.Clin.Microbiol,32;430-432.

8.Huang, M. B., Baker, C. N., Banerjee, S., Tenover, F. C. (1992). Accuracy of the E Test for determining antimicrobial susceptibilities of staphylococci, enterococci, Campylobacter jejuni, and gram-negative bacteria resistant to antimicrobial agents. J. Clin. Microbiol,30;3243-3248.

9.ISO/FDSI 20776-1. (2006) Clinical Laboratory testing and in vitro diagnostic test systems-Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility devices. Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against bacteria involved in infectious diseases.

10. John ,H.N., Elizabeth, A.B., Charlene, P., John, A.S. (1992). Evaluation of the E test by Using Selected Gram- Positive Bacteria. J.Clin. Microbiol,30;2150-2152.

11. John, E.S., Daniel, F.S. (1993).Reliability of E Test for Detection of Ampicillin, Vancomycin, and High-Level Aminoglycoside Resistance in Enterococcus spp. J.Clin.Microbiol, 31; 3336-3339.

12. Klingeren, B., Stobberingh, E., MacLaren,

www.SID.ir

Archive of SID

D. M., Schmitz, P. I. M., Smeets, M. T., Dessens, M. (1994). A multicentre survey of resistance in the Netherlands using the E-test. Diagn. Microbiol. Infect. Dis,19;149–156.

13. Lundstrom, T.S., Sobel, J.D. (2004). Antibiotics for gram-positive bacterial infections: vancomycin, quinupristin-dalfopristin, linezolid, and daptomycin. Infect Dis Clin North Am,18;651.

14. Meagher, A.K.(2005). Pharmacokinetic/pharmacodynamic profile for tigecycline—a new glycylcycline antimicrobial agent. Diagn Microbiol Infect Dis ,52;165.

15. Moellering ,R.C. (2000). Anti-infective therapyVolume I Part I Section E, In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principals and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone.

16.O'Donnell, J.A., Gelone, S.P. (2004). The newer fluoroquinolones. Infect Dis Clin North Am ,18;691.

17. Vandenbossche, I., Vaneechoutte, M., Vandevenne, M., De Baere, T., Verschraegen, G. (2002). Susceptibility testing of fluconazole by the NCCLS broth macrodilution method, E-test, and disk diffusion for application in the routine laboratory. J. Clin. Microbiol,40;918–921.

18. Yu, V.L., Merrigan ,T.C., Jr Barriere, S.L. (editors).(1999). Antimicrobial Therapy and Vaccines. Williams & Wilkins.

www.SID.ir