Archive of SID

مجلـه علمـی پـژوهشـی دانشگـاه علـوم پزشکی اردبیل

دوره هشتم، شماره اول، بهار ۱۳۸۷، صفحات ۲۰ الی ۲۸

تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی سویه های بروسلا ملی تنسیس جدا شده از خون بیماران با روش MIC

دکتر هادی پیری دوگاهه[۱]، مرضیه علی قلی[۲]، دکتر محمد حسین دهقان[۳]، دکتر پرویز مالک نژاد[٤]

[۱]استادیارمیکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل **E-mail:** h.peeridogaheh@arums.ac.ir

[۲]مربی میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران [۳] دانشیار بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل [٤] استاد میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

زمینه و هد ف: بروسلوز یکی از شایعترین بیماری های مشترک بین انسان و دام است و بروسلوز انسانی در تمـام نقـاط ایـران آندمیک می باشد. تعداد بیماران ثبت شده در سال ۱۹۸۸، هفتاد یک هزار و ۵۱ نفر (۱۳۲/٤ در هر صد هزار نفـر) بـود. بـدلیل اینکه گونه های بروسلاباکتری های درون سلولی اختیاری می باشند تعداد محدودی آنتـی بیوتیـک بـر ایـن ارگانیـسم هـا مـوثر می باشند. مطاله حاضر با هدف بررسی حساسیت آنتی بیوتیکی ٤۷ سویه بروسلا ملی تنسیس جداشده از نمونه های بالینی انجام شده است.

روش کار: حساسیت آنتی بیوتیکی ٤۷ سویه بروسلا ملی تنسیس جداشده از نمونه های بالینی در آزمایشگاه مورد بررسی قـرار گرفت. حداقل غلظت مهاری MIC (Minimal Inhibitory Concentration) مواد ضد میکروبی مـورد آزمـایش توسـط روش ترقیق آگار دایلوشن (Agar Dilution) اندازگیری شد. مقادیر MIC90 و MIC50 حداقل غلظت، آنتی بیوتیک در نظـر گرفتـه شد که در آن غلظت به ترتیب رشد ۹۰٪ و ۵۰٪ سویه ها مهار گردید. جهـت تفـسیر نتـایج از معیارهـای NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards)برای باکتری های کند رشداستفاده شد.

یافتـــه هـــا: تتراســیکلین (MIC50:0.13، میکروگـــرم/میلـــی لیتـــر ۰/۲۵ :MIC90) و استرپتومایـــسین (MIC50:۰/۰۰۳، میکروگرم/میلی لیتر ۰/۲۵:MIC90) حداقل غلظت مهاری را در آزمایشگاه بر علیه سویه های بروسلا ملی تنسیس داشتند. نـور فلوکساسین بیشترین مقدار MIC90 را نشان داد (۸ میکروگرم/میلی لیتر). حساسیت بیش از نیمی از سویه های بروسلا نسبت به ریفامپین کاهش یافته بود.(مقدارحداقل غلظت مهاری ۲ میکرو گرم /میلی لیتر)

نتیجه گیری: سویه های بروسلادر آزمایشگاه نسبت به اکثر آنتی بیوتیکهائی که در درمان بروسلوز به کار میروند حـساس مـی باشند. در ایران برای آنتی بیوتیک هایی که بر علیه گونه های بروسلا به کار می روند مقاومت قابل ملاحظه ای مشاهده نگردید، با وجود این، از انجائیکه ریفامپین برای درمان بیماریهای شایعی چون سل بطور وسیع مـورد اسـتفاده قـرار میگیـرد، بایـد الگـوی حساسیت منطقه ای ریفامپین بصورت دوره ای مورد بررسی قرار گیرد

واژهای کلیدی: روش آگار دایلوشن، حساسیت آنتی بیوتیکی، بروسلا ملی تنسیس، حداقل غلظت مهاری

دریافت: ۸۵/۱۱/۱۱ **پذیرش:** ۸۶/۱۰/۳۰

مقدمه

بروسلوز یکی از شایع‌ترین بیمـاری‌هـای مـشترک بـین انسان و دام با انتشار جهانی است و بروسلا ملـی‌تنـسیس شایع‌ترین عامل ایجاد بیماری می‌باشـد. تنهـا ۱۷ کـشور در دنیا به عنوان کشورهای عـاری از بروسـلوز شـناخته شده‌اند در حالی که طی سال های اخیـر شـیوع بیمـاری در سراسر جهان رو به افزایش می‌باشد [۱]. بروسـلوز در بسیاری از نقاط جهان آندمیک بوده و در کشورهای در حال توسعه از شیوع بالایی برخوردار است. در ایـران بروسلوز انسانی در تمام نقاط کـشور آنـدمیک اسـت و

www.SID.ir

Archive of SID

تعداد بیماران با تشخیص قطعی در سال ۱۹۸۸، هفتاد و یک هزار و پنجاه و یک نفر بودند، که یکی از بالاترین مقادیر شیوع در جهان می‌باشد [۲]. بر اساس اطلاعاتی که مرکز مدیریت بیماری های عفونی منتشر کرده است، وضعیت ایران در مورد بیماری بروسلوز در حال بهتر شدن است. در سال ۱۹۸۹ موارد بروز سالیانه بروسلوز بیش از ۱۰۰۰ مورد در هر یک میلیون نفر بود،در حالیکه در سال ۲۰۰۳ ، موارد بروز سالیانه به ۲۳۸/۶ کاهش یافت. با وجود این هنوز بروسلوز انسانی بار سنگینی را بر جامعه تحمیل می کند [۳].

سازمان بهداشت جهانی (WHO)[1] تعداد موارد جدید بیماری بروسلوز را در هر سال ۵۰۰ هزار مورد گزارش نموده است و این مقدار بسیار کمتر از میزان واقعی محاسبه شده بروز بروسلوز انسانی می‌باشد[٤].

بروسلوز بیماری است با تظاهرات گوناگون که تمام بافت ها و اندام‌های مختلف انسان را تحت تأثیر قرار می‌دهد [٥،٤].

علایم بالینی فوق‌العاده غیراختصاصی است و تظاهرات بسیار متغیری را نشان می‌دهد. تظاهرات بیماری به صورت یک سندرم تب‌دار همراه با علایم سیستمیک شامل لرز، تعریق، سردرد، کمردرد، بی‌اشتهایی و کاهش وزن بوده و یا به صورت گرفتاری‌هایی مانند آرتریت، اسپوندیلیت، آندوکاردیت، مننژیت، اپیدیدیموارکیت و غیره بروز می‌کند [٥]. درمان بروسلوز با آنتی‌بیوتیک باعث کاهش علایم، کاهش درد و همچنین کاهش عود بیماری و سایر عوارض ثانویه بروسلوز می‌شود. به دلیل تمرکز بروسلاها در داخل سلول‌های میزبان استفاده از داروهایی که قدرت نفوذ به داخل سلول‌ها را دارند ضروری به نظر می‌رسد. در درمان بروسلوز برای جلوگیری از بروز مقاومت از ترکیب دو دارو استفاده می‌شود. درمان معمول بروسلوز ترکیبی از تتراسیکلین خوراکی به همراه استرپتومایسین تزریقی و یا ترکیب ریفامپین خوراکی و تتراسیکلین خوراکی است. به جای استرپتومایسین از جنتامایسین هم استفاده می‌شود[۶].

هر یک از این رژیم‌های دارویی مضراتی را به همراه دارد. استرپتومایسین باید به صورت تزریق عضلانی به مدت ۲ تا ۳ هفته تجویز شود. اما تزریق‌های مکرر برای بیمار آزار دهنده است تجویز استرپتومایسین و تتراسیکلین در خانم‌های حامله و تتراسیکلین در کودکان کمتر از ۸ سال به دلیل تأثیر بر دندان‌ها، مجاز نیست. این ترکیب‌های دارویی نتایج خوبی دارند [۱۱-۷] و نسبت عود در ترکیب درمان ۳۰ روزه استرپتومایسین و تتراسیکلین بین ۸/٤-۰ درصد بوده و در ترکیب تتراسیکلین و ریفامپین با دوره درمان بر ۳۸/۸٪ و دوره درمانی ۶ هفته‌ای تتراسیکلین و استرپتومایسین برابر ۱۳/٤-۰ درصد است [۱۲].

علاوه بر معایب رژیم‌های دارویی که در بالا ذکر شد، در زنان حامله‌ای که ریفامپین به تنهایی تجویز می‌شود عود بیماری نسبتاً بالاست، که خود ممکن است باعث بروز سویه‌های مقاوم گردد [۱٤،۱۳].

در ایران نیز هیچ آمار و ارقام دقیق و قابل استفاده در مورد الگوی مقاومت و حساسیت بروسلا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج در دسترس نمی‌باشد. این فقدان اطلاعات موجب درمان نامناسب همراه با صرف هزینه‌های نابجا برای بیماران است. وجود گزارش‌های منتشر شده از بعضی نقاط دنیا مبنی بر مقاومت بروسلا نسبت به برخی داروها مانند ریفامپین و تری‌متوپریم/ سولفامتوکسازول و یافتن ژن مقاومت نسبت به ریفامپین [۱۸-۱۵] و نبودن آمار درست، نیاز به مطالعه‌ای دقیق احساس می‌شود. آگاهی از الگوی مقاومت این باکتری موجب استفاده از داروهای مناسب در بیماران مبتلا می‌گردد که از میزان هزینه‌های اقتصادی درمان نیز خواهد کاست. ضمن این که نتایج و یافته‌های این طرح در پروتکل درمانی بروسلوز مورد استفاده قرار خواهد گرفت. مطالعه حاضر با هدف بررسی کارآیی تاثیر مواد ضد میکروبی مختلف بر علیه سویه های بروسلا ملی تنسیس جدا شده از کشت خون انجام شده است.

[1] World Health Organization

www.SID.ir

Archive of SID

روش کار

در این مطالعه که برای تعیین MIC[1] آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان بروسلوز انجام شد، از ۵۰ سویه بروسلا که از بیماران مبتلا به بروسلوز توسط گروه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران جدا شده بود، استفاده گردید. مطالعه حاضر از نوع توصیفی- تحلیلی می باشد. روش نمونه گیری از نوع آسان و زمان انجام مطالعه در یک دوره یکساله (دی ماه ۸٤ تا دی ماه ۸۵) می باشد و برای آنالیز نتایج از روش های آمار توصیفی استفاده شد. باکتری‌ها در محیط تریپتی‌کیس سوی‌برات (TSB)[2] کشت داده شده بودند که پس از انکوباسیون ۲٤ ساعته در ۳۷-۳۵ درجه سانتی‌گراد به آن گلیسرول اضافه و در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شده بودند.

تعیین MIC:

جهت تعیین MIC از روش رقت در آگار (agar dilution) و بر اساس استاندارد (NCCLS)[3] استفاده شد.

آماده‌سازی باکتری ها:

قبل از انجام آزمایش MIC، باکتری ها را از فریزر خارج کرده ودو بار بر روی محیط آگار خون کشت داده ودر مجاورت ۱۰-۵ درصد CO_2 گرمخانه گذاری شد. پس از حصول اطمینان از خالص بودن کشت باکتری‌ها از آنها جهت تعیین MIC استفاده شد. از ۵۰ سویه‌ای که کشت مجدد داده شده بود ۳ سویه از دست رفته و آزمایش ها بر روی ٤۷ سویه انجام شد.

مراحل انجام تعیین MIC نسبت به استرپتومایسین

تهیه محلول ذخیره آنتی‌بیوتیک:

پودر استرپتومایسین از کارخانه زیگماتهیه گردید و چون طبق برگه آنالیز حلال و رقیق کننده این آنتی‌بیوتیک آب مقطر است پس از محاسبه و توزین پودر آب مقطر استریل به آن اضافه و پس از استریل کردن به روش فیلتراسیون در شیشه‌های درپیچ‌دار اضافه و در فریزر ۲۰- نگهداری شد. توزین پودر استرپتومایسین جهت تهیه محلول ذخیره براساس روش NCCLS و طبق فرمول زیر انجام می‌شود.

$$\text{Weight}(mg)=\frac{\text{Volume}(ml)\times\text{concentration}(\mu g/ml)}{\text{Assay potency}\ (\mu g/ml)}$$

در این مطالعه محلول ذخیره آنتی‌بیوتیک با غلظت ۱۰۲٤ تهیه گردید. این محلول تا ۶ ماه پایدار است.

تهیه محیط‌های کشت:

در این مطالعه از محیط کشت مولرهینتون آگار (Mast England) استفاده شد که پس از استریل کردن در دمای ۵۵-۵۰ درجه سانتی‌گراد، هموگلوبین به میزان ۱٪ و polyvitex (bio Merieux France) به مقدار ۱٪ اضافه شد سپس از استوک آنتی‌بیوتیک در محیط مولرهینتون براث (ساپلمنت شده با polyvitex به میزان ۱٪) رقت‌های مختلف تهیه و به محیط‌های کشت اضافه گردید به طوری که محیط‌های حاصل حاوی آنتی‌بیوتیک در غلظت های ۰/۰۰۲۵ تا ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر شدند. کلیه محیط‌ها پس از حصول اطمینان از نظر آلوده نبودن مورد استفاده قرار گرفتند.

آماده‌سازی سوسپانسیون میکروبی جهت تلقیح:

از کشت ٤۸ ساعته باکتری در محیط آگار خون ٤ تا ۵ کلنی برداشته و در لوله حاوی ۳ میلی‌لیتر محیط بروسلا براث تلقیح و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند به طوری که پس از انکوباسیون کدورتی معادل ۰/۵ مک‌فارلند (10^8 CFU/ml) داشته باشد.

از سوسپانسیون حاصل در محیط بروسلا آبگوشت رقت 10^{-2} تهیه گردید به طوری که سوسپانسیون حاصل حاوی 10^6CFU/ml باکتری بود. از سوسپانسیون حاصل به میزان ۱۰ میکرولیتر به محیط های کشت اضافه شد به طوری که در هر قطره 10^4 CFU/ml باکتری وجود داشت. پلیت‌ها در ۳۷-۳۵ درجه سانتی‌گراد در مجاورت ۱۰٪ CO_2 به مدت ٤۸ ساعت گرمخانه گذاری شدند. به محیط‌های مولر هینتون آگار تکمیل شده بدون آنتی‌بیوتیک نیز باکتری تلقیح

[1] Minimal Inhibitory Concentration
[2] Trypticase Soy Broth
[3] National Committee for Clinical Laboratory Standards

www.SID.ir

Archive of SID

شد تا هم از رشد و زنده بودن باکتری آگاهی یافته و ضمناً از نظر آلودگی احتمالی نیز کنترل شود. پس از اتمام زمان انکوباسیون پلیت‌ها را از نظر رشد باکتری‌ها بررسی کرده و کمترین غلظتی از آنتی‌بیوتیک که به طور کامل رشد را مهار کرده بود به عنوان MIC در نظر گرفته شد.

تعیین MIC سویه‌های بروسلا نسبت به جنتامایسین:

در این تحقیق از محصول جنتامایسین کارخانه Mast انگلستان استفاده شد. براساس دستورالعمل کارخانه سازنده با حل کردن یک قرص در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر غلظتی برابر ٤ µg/ml به دست می‌آید. محیط‌های کشت همانند دستورالعملی که درمورد استرپتومایسین گفته شد تهیه گردید و آنتی‌بیوتیک با غلظت‌های مورد نظر به محیط های کشت اضافه شد به طوری که محیط‌های کشت حاوی آنتی‌بیوتیک به میزان ۰/۰۰۲۵ تا ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر گردیدند.

تعیین MIC بروسلا نسبت به ریفامپین:

در این تحقیق از پودر ریفامپین (Merck Germany) استفاده شد. مطابق استاندارد NCCLS، آنتی‌بیوتیک را وزن کرده و با توجه به این که حلال این آنتی‌بیوتیک متانول و رقیق کننده آب است، استوک ۱۰۲٤ تهیه و در فریزر 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از ساختن محیط کشت و اضافه کردن تکمیل کننده ها، از غلظت‌های آنتی‌بیوتیک که در محیط مولر هینتون براث ساپلمنته تهیه شده بود. به محیط های کشت اضافه شدند تا محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های آنتی‌بیوتیکی از ۰/۰۰۲۵ تا ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر شوند. مطابق آنچه قبلاً گفته شد سوسپانسیون باکتری‌ها اضافه و کمترین غلظتی که موجب مهار رشد باکتری شده بود به عنوان MIC در نظر گرفته شد.

تعیین MIC بروسلا نسبت به تتراسیکلین، نورفلوکساسین و سیپروفلوکساسین:

در این مطالعه از محصول تتراسیکلین، نورفلوکساسین و سیپروفلوکساسین کارخانه Mast انگلستان استفاده شد. براساس دستورالعمل کارخانه سازنده با حل کردن یک قرص در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر غلظتی برابر با ml/ µg ۱۶ برای آنتی بیوتیک های تتراسیکلین و نورفلوکساسین و غلظت µg/ml ۸ برای آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین به دست می‌آید. از محلول آنتی‌بیوتیک های حاصله به محیط‌های کشت که دستور ساخت آن در بخش‌های قبل آمده است اضافه گردیدتا محیط‌هایی با غلظت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک (µg/ml 32-0.0025) به دست آید.

سویه‌های کنترل که در این تحقیق به همراه سویه‌های بروسلا مورد استفاده قرار گرفت عبارت بودند از: E.Coli ATCC 25922، ATCC 29212 Entro.faecalis، Pneumococcus ATCC 49619، Staph. aureus ATCC 9213

در مورد انجام آنتی بیوگرام و تعیین MIC برای باکتری بروسلا باید بخاطر داشت که دوز عفونت زای این باکتری بسیار کم و همچنین ذرات آئروسل این باکتری می تواند از راه دستگاه تنفس و مخاط چشم باعث آلودگی و بیماری انسان شود. لذا تمام مراحل انجام کار در زیر هود بیولوژیک و در هنگام کار از دستکش و ماسک استفاده شد.

نتایج

٤۷ سویه بروسلا که در این تحقیق بررسی شدند از بیماران مبتلا به بروسلوز جدا شده و همه بروسلا ملی‌تنسیس بودند. میزان MIC عوامل ضدمیکروبی مطالعه شده با روش رقت در آگار در جدول یک آمده است.

جدول ۱. مقادیر MIC 50 و MIC 90 سویه های بروسلای مورد مطالعه

آنتی بیوتیک	دامنهMIC (mg/l)	MIC 50 (mg/l)	MIC 90 (mg/l)
تتراسیکلین	۰/۵- ۰/۰۱	۰/۱۳	۰/۲۵
استرپتومایسین	۲ - ۰/۰۰۲۵	۰/۰۰۳	۰/۲۵
جنتامایسین	٤ - ۰/۰۰۵	۱	۲
ریفامپین	۲-۱	۱	۲
سیپروفلوکساسین	٤ - ۰/۵	۰/۷۵	۲
نورفلوکساسین	۸-۲	۲	۸

www.SID.ir

Archive of SID

تتراسیکلین کمترین میزان MIC را در in vitro بر علیه بروسلا ملی‌تنسیس داشته است و دامنه آن بین ۰/۱ تا ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. MIC بیش از نیمی از این باکتری ها ۰/۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بود، ۲۹/۸٪ دارای MIC ۰/۱ و تنها ۱۲/۸٪ MIC برابر ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر داشتند. فراوانی MICسویه‌های بروسلا نسبت به تتراسیکلین در نمودار دو آمده است.

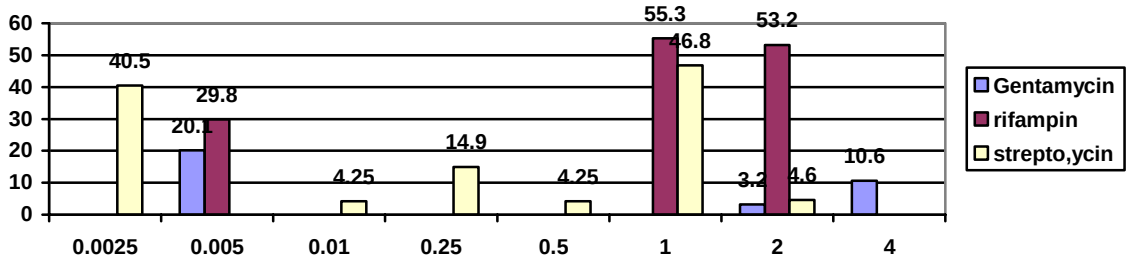
در بین آمینوگلیکوزیدها، طیف MIC استرپتومایسین ۲-۰/۰۰۲۵ µg/ml بود. فراوانی نسبی MIC سویه‌های بروسلا نسبت به استرپتومایسین در نمودار یک آمده است. طیف MIC جنتامایسین µg/ml ٤-۰/۰۰۵ بوده و فراوانی نسبی سویه‌های بروسلا نسبت به جنتامایسین در نمودار۱ آمده است. MIC_{50} و MIC_{90} آن به ترتیب ۱ و ۲ میکروگرم در میلی لیتر بوده است. MIC سویه‌های بروسلا نسبت به ریفامپین فقط در غلظت‌های ۱ و ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده که ٤٦/۸٪ برابر ۱ و ۵۳/۲٪ دارای MIC برابر ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بودند. فراوانی نسبی MIC سویه‌های بروسلا نسبت به ریفامپین در نمودار یک آمده است.

در بین کینولون‌های آزمایش شده، سیپروفلوکساسین دارای طیف MIC µg/ml ٤-۰/۵ بوده که بیش از نیمی (۶۶٪) دارای MIC برابر ۱ بودند. فراوانی نسبی MIC سویه‌های بروسلا نسبت به سیپروفلوکساسین نمودار دو آمده است.

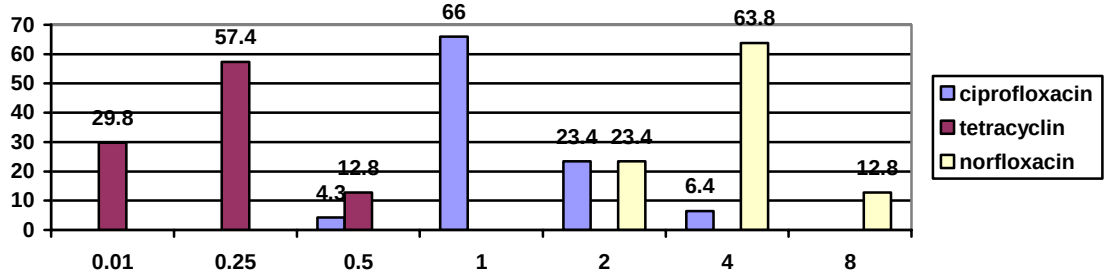
نورفلوکساسین دارای MIC بالاتری بین µg/ml ۸-۲ بود که ۶۳/۸۸٪ دارای MIC برابر µg/ml ٤ بود. فراوانی نسبی MIC سویه‌های بروسلا نسبت به این آنتی‌بیوتیک در نمودار ۲ آمده است.

بحث

افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، عودهای مکرر در بیماری بروسلوز، شکست‌های درمانی با روش‌های متداول و فقدان اطلاعات در مورد حساسیت بروسلاها نسبت به داروهای رایج در درمان، ایجاب می‌کند که به بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بروسلاها پرداخته



نمودار ۱. فراونی نسبی سویه های بروسلا نسبت به آنتی بیوتیک های جنتامایسین، ریفامپین و استرپتومایسین



نمودار ۲. فراونی نسبی سویه های بروسلا نسبت به آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین، تتراسیکلین ونورفلوکساسین

www.SID.ir

Archive of SID

شود. در این مطالعه طیف میزان MIC سویه‌های بروسلا نسبت به تتراسیکلین ۰/۰۱-۰/۵ µg/ml بوده که کمترین MIC را دارد (جدول ۱).

در مطالعه فارل[1] در سال ۱۹۷۶ میزان MIC همه تتراسیکلین‌ها کمتر از ۱ mg/L گزارش شده است [۱۹]. در مطالعه بوش[2] و همکاران در سال ۱۹۸۶ نیز میزان MIC، ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده که مشابه مطالعه حاضر است [۲۰]. در سال ۱۹۸۹ در عربستان سعودی توسط یوسف خان[3] و همکاران بر روی ٤۹ سویه بروسلا ملی‌تنسیس مطالعه‌ای انجام دادند و میزان MIC را بین ۰/۰۰۱-۰/۶ گزارش کردند [۲۱]. در مطالعه رودریگز[4] در اسپانیا در سال ۱۹۹۳ میزان MIC ۲-۰/۰۱ میکروگرم در میلی‌لیتر ذکر شده است[۱۲].

در سال ۲۰۰۶ مطالعه‌ای توسط ترکمنی[5] در ترکیه انجام شده است که میزان MIC نسبت به تتراسیکلین را ۱/۵-۰/۰۳۲ با MIC_{90} برابر ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش نموده است [۲۲]. طیف میزان MIC سویه‌های بروسلا نسبت به تتراسیکلین در مطالعه حاضر مشابه مطالعه رودریگز از اسپانیا در سال ۱۹۹۳ می‌باشد [۱۲] و نسبت به گزارش سال ۲۰۰۶ ترکمنی از کشور ترکیه پایین‌تر می‌باشد. در حالی که از کشور عربستان سعودی مقاومت ۰/۶٪ توسط ممیش[6] و همکاران در سال ۲۰۰۰ گزارش شده است [۲۳]. تمام سویه‌های مطالعه حاضر نسبت به تتراسیکلین حساس بودند.

استرپتومایسین نیز در رژیم‌های درمانی یکی از ترکیبات مورد استفاده است. طیف میزان MIC در مطالعه حاضر ۲-۰/۰۰۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده است که نسبت به اکثر مطالعات انجام شده کمتر می‌باشد. میزان MIC_{90} در مقایسه با کشورهای همسایه مانند عربستان سعودی (۱۹۸۹) و ترکیه ۲۰۰۶ نیز پایین‌تر بوده است [۲۲،۲۱]. در حالی که ممیش از عربستان سعودی در سال ۲۰۰۰ میزان مقاومت نسبت به استرپتومایسین را ۰/۶٪ اعلام کرده است [۲۳]. سویه‌های مطالعه حاضر نسبت به این آنتی‌بیوتیک حساس بودند.

میزان MIC نسبت به جنتامایسین در مطالعه حاضر بین ۰/۰۰۵ تا ٤ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده است. میزان MIC_{50} برابر ۱ و MIC_{90} برابر ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده است که در مقایسه با نتیجه مطالعه سال ۲۰۰۶ ترکمنی یعنی ۰/۰۳۲ الی ۱/۵ و MIC_{90} برابر ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر همخوانی دارد. ولی در مقایسه با نتیجه ۰/۵ µg/ml مطالعه داهوک[7] ۸ برابر بالاتر بوده است [۲٤]. این اختلاف احتمالاً به دلیل استفاده بیشتر از جنتامایسین در کشور ما بوده و یا ناشی از اختلاف در تعداد سویه‌های مورد مطالعه است. ریفامپین، یکی از داروهایی است که در رژیم درمانی بروسلوز توسط WHO توصیه می شود. میزان MIC سویه‌های بروسلا در مطالعه حاضر بین ۲-۱ میکروگرم در میلی‌لیتر بود.

در مطالعه بوش میزان MIC ریفامپین، ٤ µg/ml بوده است [۲۰]. در سال ۱۹۸۹ در مطالعه ای که از عربستان سعودی یوسف خان منتشر کرد، طیف میزان MIC، ۲/۵-۰/۰۲ µg/ml بوده است و میزان MIC_{90} آن ۰/۲۵ و MIC50 برابر ۰/۱۵ بوده است که این ها از مقادیر به دست آمده از مطالعه حاضر کمتر می باشد [۲۱]. ولی در مطالعه رابینشتاین[8] که از اسرائیل در سال ۱۹۹۱ گزارش شده است MIC_{50} ۲/۵ و MIC_{90} برابر ٤ میکروگرم در میلی‌لیتربود که از مقادیر مطالعه حاضر بالاتر بوده است [۲۵].

در سال ۲۰۰٤ مطالعه‌ای در مکزیک توسط لوپز[9] انجام شده که حداکثر میزان MIC، ٤ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده [۱۷] که ۲ برابر حداکثر میزان MIC مطالعه حاضر بوده است ولی میزان MIC_{90} آن برابر ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر که با مطالعه حاضر همخوانی داشته است. در مطالعه ترکمنی از ترکیه در سال ۲۰۰۶

[1] Farrel
[2] Bosch
[3] Yousef Khan
[4] Rodriguez
[5] Turkmani
[6] Memish
[7] Dahouk
[8] Rubinstein
[9] Lopez

www.SID.ir

Archive of SID

طیف میزان MIC، ۱/۵-۰/۰۹٤ و میزان MIC_{90} برابر ۱/۰ بوده که از نتایج مطالعه حاضر پایین‌تر بوده است. حداقل میزان کشندگی (MBC)[1] ریفامپین برای سویه‌های بروسلا بین mg/l ۱-۰/۰۶ می‌باشد [۲۶] و میزان MIC ۲۵ سویه از ٤۷ سویه بررسی شده در این مطالعه برابر mg/l ۲ (نمودار۱) بوده است. این سویه‌ها به عنوان غیرحساس در نظر گرفته شدند.

از طرف دیگر براساس NCCLS، باکتری های کند رشد با میزان MIC ۲ میلی‌گرم در لیتر حساس نسبی در نظر گرفته می‌شوند [۲۶].

یافته‌های مطالعه حاضر هشداری برای وقوع مقاومت نسبت به ریفامپین در سویه‌های بروسلا در کشور به شمار می‌رود. در نتیجه استفاده از ریفامپین در عفونت‌های غیرتوبرکولوزیس در مناطقی که انسیدانس بالایی از توبرکولوز وجود دارد باید با احتیاط بیشتری انجام شود و با وجود این محدودیت و رژیم‌های درمانی متداول بروسلوز می‌بایستی به دنبال عوامل آنتی‌میکروبیال جدید بود.

لزوم درمان ترکیبی، طول مدت درمان و نسبت شکست‌های درمانی با برخی رژیم‌های دارویی، بررسی و تحقیق در مورد داروهای جدید برای درمان بروسلوز را می‌طلبد. فلوروکینولون‌ها طیف فعالیت آنتی‌باکتریال گسترده‌ای دارند این داروها به صورت خوراکی بوده و به خوبی در سلول‌های فاگوسیتی نفوذ کرده و غلظت بافتی بالایی را ایجاد می نمایند و فعالیت خوبی بر علیه سویه‌های بروسلا در in vitro دارند [۲۶].

لذا توجه به استفاده از این داروها در درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط باکتری های داخل سلولی جلب می شود. در این مطالعه بنابر نظر مشاور عفونی از بین فلوروکینولون‌ها از سیپروفلوکساسین و نورفلوکساسین که فعالیت متوسطی دارند ولی در ایران موجود می باشند، استفاده شده است. طیف میزان MIC سویه‌های بروسلا نسبت به سیپروفلوکساسین در مطالعه حاضر ٤-۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده است.

طیف میزان MIC سویه‌های بروسلا در مطالعه حاضر نسبت به سیپروفلوکساسین نسبت به همه مطالعات بالاتر بوده و تنها در مطالعه یامازهام[2] از ترکیه در سال ۲۰۰۵ حداکثر میزان MIC ٤ برابر حداکثر میزان MIC در مطالعه حاضر بوده است. در حالی که MIC_{90} گزارش از کشور ترکیه از MIC_{90} مطالعه حاضر کمتر بوده است [۲۲،۱۹]. این اختلاف در میزان MIC نسبت به کشورهای دیگر احتمالاً به علت استفاده بی‌رویه این آنتی‌بیوتیک در کشور ایران است. در مورد نورفلوکساسین مطالعات کمی صورت گرفته است. میزان MIC سویه‌های بروسلا مطالعه حاضر نسبت به نورفلوکساسین ۸-۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده است. در مطالعه داهوک در سال ۲۰۰٤ میزان MIC، ۳ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده است. در سال ۲۰۰۶ از کشور ترکیه گزارشی از ترکمنی و همکاران منتشر شده است و میزان MIC را بین ۰/۲۵ تا ٤ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش کرده‌اند. حداکثر میزان MIC در این مطالعه دو برابر حداکثر میزان MIC در دو مطالعه فوق الذکر است [۲٤،۲۲].

نتیجه‌گیری

افزایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی می‌تواند یکی از دلایل شکست‌های درمانی در ایران باشد.

پیشنهادات

با وجود اینکه مقاومت آنتی‌بیوتیکی قابل توجه‌ای در سویه‌های بروسلا ملی‌تنسیس در مطالعه حاضر مشاهده نشد موارد زیر توصیه می‌شود:

۱- انجام آزمایش تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی (آنتی‌بیوگرام) برای تمام سویه‌های بروسلا جدا شده از بیماران توصیه نمی‌شود. ولی در زمان مشاهده عود بیماری انجام تعیین MIC توصیه می‌گردد.

[1] Minimum Bactericidal Concentration

[2] Yamazham

www.SID.ir

Archive of SID

۲- با وجود انسیدانس بالای توبرکولوز در کشور ایران لازم است که ریفامپین را برای درمان توبرکولوز حفظ نمود و در درمان بیماری های دیگر از قبیل بروسلوز به دنبال داروهای جایگزین بود.

۳- ارزیابی دوره‌ای جهت تعیین حساسیت سویه‌ها نسبت به داروهای متداول به خصوص ریفامپین توصیه می‌گردد.

٤- با توجه به نتایج مطالعه حاضربه دلیل MIC پایین تتراسیکلین، استفاده از این دارو در درمان بروسلوز در اولویت قرار می گیرد. همچنین بعلت MIC پائین سیپروفلوکساسین در موارد لزوم به عنوان داروی جایگزین استفاده از این آنتی بیوتیک توصیه می شود.

منابع

۱- دست‌گلی کامران، منیری رضوان. ترجمه بروسلوز مادکورهم منیر، چاپ اول تهران، چاپ و نشر بنیاد ۱۳۷۱، صفحات ۱٤-۶.

2- Rafai M. Incidence and control of brucellosis in the Near East region. Vet Microbiol .2002; 90: 81-110.

3- Pappas G, Papadimitriov P, Akritidis N, Christou L and Tsianos E. The new global map of human brucellosis. Lancet Infect Dis.2006; 6: 91-9.

4- World Health Organization. Fact sheet N 173, July 1997. World Health Organization, Geneva Switzerland

5- Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical microbiology, 4th ed. Philadelphia: Mosby, 2002, 78-81.

6- Doganay M, Aygen B. Human brucellosis an overview. Int Infect Dis. 2003; 7: 173-82.

7- Solera J, Espinoza A, Martinez- Alfao E. Treatment of Human Brucellosis with Doxycyclosis and Gentamycin. Antimicrob Agents Chemother. 1997; 41: 80-4.

8- Cisneros J, Viciana M P, Colmenero J, Pachon J, Martinez C and Alarcon A. Multicenter prospective study of treatment of Brucella melitensis brucellosis with doxycycline plus streptomycin for 2 weeks. Antimicrob Agents Chemother. 1990; 34: 881-3.

9- Colmenero J, Hernandez DS, Reguera J M, Cabrera F, Rius F and Alonso A. Comparative trial of doxycycline plus streptomycin versus doxycycline plus rifampin for the therapy of human brucellosis. Chemotherapy .1989; 35: 146-52.

10- Kosmidis J, Karagounis A, Tselentis J and Daikos G K. The combination rifampin-doxycycline in brucellosis is better than the WHO regimen. Chemioterapia 1982;1(Suppl. 4):107.

11- Navarro A,Pachon J, Cuello J A, Viciana P, Lopez L and Carneado J. Brucelosis: estudio prospectivo del tratamiento con tetraciclinas, estreptomicina y sulfadiacina en dos ciclos de tres semanas. Enf. Infec. Microbiol. Clin. 1984; 2:274-275.

12- Rodriguez M, Gamo A, Moreno J. Evaluacion de dos regimenes en el tratamiento de la brucelloses: rifampicin- doxiciclina vs estreptomicina-doxiciclina. Resultados preliminares. N Arch Fac Med. 1985; 43:171-175.

13- Garcia-Rodriguez A J, Munoz Bellido L J, Fresnadillo M J and Trujillano I. In Vitro Activities of New Macrolides and Rifapentine against Brucella spp. Antimicrobial agents and chemotherapy. 1993; Apr, 911-913

14- Llorens-Terol J, Busquets RM. Brucellosis treated with rifampin. Arch Dis Child. 1980; 55: 486-8.

15- Rodriguez, M., L. Buz6n, M. Meseguer, J. Martinez, and E. Bouza. 1980. Rifampin as a single agent in the treatment of acute brucellosis in humans, p. 1064-66. In J. D. Nelson and C. Grassi (ed.), Current chemotherapy and infectious diseases, vol.2. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

16- Dimitrove TS.,Panigrahi D, Emara M, Awni F, Passadilla R. Seroepidemiological and microbiological study of brucellosis in kuwait. Med Prince Pract.2004; Jul-Aug: 13(4): 215-9.

17- Lopez-Merino A., Contreras-Rodriguez A, Migranas-Ortiz R, Orrantia-Gradín R, Hernández-Oliva G M, Gutiérrez-Rubio YT et al. Susceptibility of México in brucella isolates to moxifloxacin,

www.SID.ir

Archive of SID

ciprofloxacin and other antimicrobials used in the treatment of human brucellosis. Scand J infect Dis. 2004; 36(9):636-8.
18- Marianelli C, Ciuchini F, Tarantino M, Pasquali P, Adone R. Genetic bases of the rifampin resistace phenotype in Brucella Spp. J Clin microbiol.2004; 42: 5439-43.
19- Farrel ID, Hinchlife PM. Robertson L. Sensitivity of brucella spp. to tetracycline and its analogues. J clin Pathol 1976; 29: 1097-100.
20- Bosch J.,J Linaros, MJ Lopez de Goicoechea, J Ariza, Cisnal and R. Martin. In vitro activity of ciprofloxacin, ceftriaxone and five other antimicrobial agents against 95 strains of brucella melitansis.J Antimicrobial chemotherapy 1986; 17: 459-461.
21- Yousef Khan M, Dizon M and Kiel WF. comparative in vitro activities of Ofloxacin, Difloxacin, Ciprofloxacin and other selected antoimicrobial agents against Brucella melitansis. Antimicrobial agents and chemotherapy. 1989; Aug, p 1409-10.
22- TurkmaniA, Ioannidis A, Christidou A, Psaroulaki A, Loukaides F and Tselentis Y. In vitro susceptibilities of Brucella melitensis isolates to eleven antibiotics. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2006; 5: 24.
23- Memish Z, Mah WM, Al Mahmoud S, Al Shaalan M and Yousuf Khan M. Brucella Bacteraemia: Clinical and Laboratory Observations in 160 Patients .J infect 2000: 40; 59-63
24- Al Dahouk S, Hagen RM, Nockler K, Tomaso H, Witting M, Scholz HC, et al. Failure of a short-term antibiotic therapy for human brucellosis using ciprofloxacin . Chemotherapy 2005; 51(6): 352-6.
25- Rubinstein E , Lang R, Shasha B, Hagar B, Diamanstein L, Joseph G, et al. In vitro susceptibility of Brucella melitensis to antibiotics. Antimicrob Agents Chemother. 1991; 35: 1925-7.
26- Garcia-Rodrigues TA, Garcia Sanchez JE and Trujillano I. Lack of effective bactericidal activity of new quinolones against Brucella Sp. Antimicrobial agents and chemotherapy .1991; Apr, P: 756-9.

www.SID.ir