Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:56 +0330 on Thursday November 23rd 2017

گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره هجدهم شماره ۶۸ بهمن و اسفند سال ۱۳۸۷ (۷۸-۷۴)

# بررسی میکروبیولوژیک و حساسیت ضد میکروبی در موارد کشت مثبت بیماران مبتلا به تب مالت با سرولوژی مثبت

احمد علیخانی[۱] حمیدرضا هنرمند[۲] نرگس دهگانی[۳] آبتین حیدرزاده[۴]

## چکیده

**سابقه و هدف :** تب مالت بیماری مشترک انسان و دام با انتشار جهانی است که در کشور ما آندمیک می‌باشد. این بیماری در تمام دنیا علت عمده ناتوانی در انسان و حیوانات اهلی است. تظاهرات بالینی بیماری متنوع است و ارگان‌های مختلف بدن را گرفتار می‌نماید. این مطالعه جهت بررسی حساسیت ضد میکروبی مبتلایان به تب مالت تشخیص داده شده به روش سرولوژی پس ازکشت خون مثبت انجام شد.

**مواد و روش ها :** در این مطالعه مقطعی ۳۰ بیمارکه تست رایت بیشتر مساوی ۱/۱۶۰ و تست دو- مرکاپتواتانول بیشتر مساوی ۱/۴۰ همراه با علائم بالینی منطبق با تب مالت داشتند، در شهرستان رامسر در سال‌های ۸۷-۸۶ مورد بررسی قرار گرفتند. کشت خون به روش لیزسانتریفوژ و تست حساسیت ضدمیکروبی علیه ۹ داروی ضد تب مالت به روش دیسک انجام شد.

**یافته ها :** در پایان مطالعه میزان کشت مثبت ۲۳/۳ درصد (۷ مورد) از کل ۳۰ مورد بودکه در تمامی موارد بروسلا ملی تنسیس رشد نمود. حساسیت ضد میکروبی نسبت به افلوکساسین، سیپروفلوکساسین و داکسی سیکلین درحد مطلوب بود ولی نسبت به کوتریموکسازول و استرپتومایسین حساسیت مطلوبی وجود نداشت.

**استنتاج :** نتیجه اینکه تب مالت که بیماری شایعی در کشور ماست، عمدتاً در اثر نوع ملی تنسیس ایجاد می‌شود. بجز کوتریموکسازول و استرپتومایسین، حساسیت نسبت به بقیه داروهای ضد تب مالت به خصوص افلوکساسین، سیپروفلوکساسین و داکسی سیکلین در حد مطلوب بوده است.

**واژهای کلیدی :** تب مالت، کشت، لیز سانتریفوژ، آنتی بیوگرام

## مقدمه

بروسلوزیس بیماری مشترک انسان و دام است. تظاهرات بیماری متنوع است و به راحتی با دیگر بیماری‌ها اشتباه می‌شود. بروسلا یک کوکوباسیل کوچک گرام منفی است. بیماری انسانی در بیشتر موارد در اثر بروسلا ملی تنسیس،

**مولف مسئول: دکتر احمد علیخانی**- قائمشهر، بیمارستان رازی، بخش عفونی E-mail : ahmadalikhani@yahoo.co.in

۱. متخصص بیماری های عفونی و گرمسیری، استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۲. دکترای میکروبیولوژی، استادیار مرکز مطالعات ملکولی و سلولی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گیلان

۳. میکروبیولوژیست آزمایشگاه بیمارستان امام سجاد (ع) رامسر

۴. متخصص پزشکی اجتماعی، استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم‌پزشکی گیلان

تاریخ دریافت : ۸۷/۹/۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۷/۱۰/۱۰ تاریخ تصویب: ۸۷/۱۲/۱۴



www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:56 +0330 on Thursday November 23rd 2017

بروسلا سوئیس و بوویس ایجاد می‌شود. راه‌های انتقال بیماری به انسان شامل تماس مستقیم باحیوان یا ترشحات آنها ازطریق خراش روی پوست، استنشاق ذرات عفونی، کاشته شدن در ساک ملتحمه‌ای و یا از طریق خوردن محصولات لبنی غیرپاستوریزه است.

علائم معمولاً ۴-۲ هفته پس از کاشته شدن عامل، به شکل تب، تعریق، کسالت، بی‌اشتهایی، سردرد و درد پشت شروع می‌شود. علائم ممکن است به صورت حاد یا آهسته شروع شود(۱). در صورت شروع علائم در کمتر از ۳ ماه بیماری حاد، ۱۲-۳ ماه تحت حاد و بیش از ۱۲ ماه مزمن تلقی می‌شود(۱،۲).

عوارض بیماری شامل ابتلاء دستگاه معدی روده‌ای، سیستم هپاتوبیلیری، اسکلتی، عصبی، گرفتاری قلبی (علت اصلی مرگ در این بیماران)، تنفسی، ادراری، تناسلی، خون، پوستی و چشمی می‌باشد(۱،۳). تشخیص بیماری زمانی قطعی می‌شودکه عامل بروسلا ازخون، مغز استخوان یا دیگر بافت‌ها جدا شود(۲،۱).

میزان جداشدن بروسلا از خون، بسته به روش انجام کشت و مدت اینکوباسیون محیط از ۷۰- ۱۵ درصد متفاوت است. در مورد بروسلوز حداقل نیاز به ۴ هفته اینکوباسیون است. احتمال مثبت شدن کشت مغز استخوان ازبیشتر خون است. استفاده ازمحیط BACTEC احتمال جداشدن بروسلا را بیشتر می کند.

استفاده از روش لیز سانتریفوژ سبب تسریع در جداشدن عامل می‌شود. در صورت فقدان کشت، یک راه تشخیص فرضی، استفاده از تست‌های سرولوژیک است. تیتر بسیار بالا یا تیتر افزایش یابنده تشخیصی می‌باشد. درمان بیماری با داروهای خانواده تتراسیکلین، ریفامپین، کوتریموکسازول، آمینوگلیکوزیدها و کینولون‌ها از مدت‌ها پیش انجام می‌شد(۱).

ازآنجائی‌که مراقبت از درمان تب‌مالت همانند دیگر عفونت‌های باکتریال نیازمندانجام متناوب کشت و آنتی-بیوگرام می‌باشد و نیز با توجه به حساسیت پایین کشت در این بیماری، ازتکنیک لیز سانتریفوژ برای انجام کشت استفاده شده است تا بتوان درکمترین‌زمان میزان حساسیت کشت‌های مثبت بروسلا را بررسی نمود.

## مواد و روش ها

این تحقیق یک مطالعه مقطعی و از نوع آینده‌نگر بود که روی ۳۰ بیمار مبتلا به بروسلوزیس که در بیمارستان امام سجاد(ع) رامسر از فروردین سال ۱۳۸۶ تا پایان اردیبهشت۱۳۸۷ به مدت۱۴ماه مورد تشخیص قرارگرفته بودند، انجام شد. در این مطالعه، از بیمارانی که علائم بالینی منطبق با بروسلوز و تیتر تست رایت بیشتر مساوی ۱۶۰: ۱ و تیتر تست 2ME بیشتر مساوی ۴۰: ۱ داشتند، کشت خون بروش لیزسانتریفوژ جهت جداکردن بروسلا و آنتی‌بیوگرام به روش ذیل انجام شد؛ ۵ میلی‌لیتر خون از بیمارگرفته و داخل ویال‌هایی که حاوی ۸ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه همراه با ۳ میلی لیتر ماده ضد انعقاد تری‌سیترات سدیم بود ریخته شد و به خوبی مخلوط شد، سپس به مدت ۳۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ انجام شد (روش لیز سانتریفوژ). سپس مایع سطحی با سر سمپل استریل خالی نموده و از رسوبات ته ویال برداشته شد. سپس در محیط کشت مغزی مایع بروسلا را براس کرده و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷°C اینکوبه می‌شد و بعد از ۲۴ ساعت به محیط کشت جامد BHI (Brain Heart Infusion) حاوی urea منتقل شد. این انتقال پس از پاساژ و بروش Streak انجام شده است.

پس از۲۴ساعت چنانچه کلونی میکروبی رشد می‌نمود ابتدا رنگ‌آمیزی گرام نموده و اگر کوکسی گرام منفی در زیر میکروسکوپ مشاهده می‌شد توسط تست‌های بیوشیمیایی شناسایی قطعی انجام می‌شد.

بروسلاها اوره آزمثبت بودند، لذا پس از ۲۴ ساعت روی محیط کشت جامد BHI urea رنگ محیط که ابتدا زرد کم رنگ بود به صورتی تبدیل خواهد می‌شد. در نهایت با آنتی‌سرم پلی والان و آنتی‌سرم اختصاصی مونووالان ملی تنسیس و ابورتوس، مورد شناسایی و تعیین گونه قرارگرفتند. چنانچه توسط آنتی‌سرم‌های اختصاصی،

Archive of SID



www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:56 +0330 on Thursday November 23rd 2017

بروسلا جدا می‌شد، تست حساسیت ضد میکروبی با آنتی-بیوتیک‌های افلوکساسین، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، آمیکاسین، داکسی سیکلین، تتراسیکلین، کوتریموکسازول، سفتریاکسون و استرپتومایسین انجام می‌گرفت. اطلاعات پس از جمع‌آوری کدگذاری شد و داده های حاصله با استفاده از آمارتوصیفی و نرم‌افزار آماری spss spata 8.0 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

## یافته ها و بحث

این مطالعه در بیمارستان امام سجاد (ع) رامسر از فروردین سال ۱۳۸۶ تا پایان اردیبهشت ۱۳۸۷ به مدت ۱۴ماه انجام شد. از مجموع ۳۰ بیمار مبتلا به بروسلوز که به روش سرولوژیک (تست رایت و ۲- مرکاپتواتانول) بیماری تشخیص داده شده بود، نمونه خون جهت انجام کشت ارسال شد. هفت مورد(۲۳/۳ درصد)کشت مثبت گزارش شد و همه موارد، بروسلا ملی تنسیس بود. تمامی هفت مورد نسبت به داکسی‌سیکلین، سیپروفلوکساسین و افلوکساسین حساس، وحساسیت درحد متوسط نسبت به تتراسیکلین درسه مورد، سفتریاکسون دو مورد، جنتامایسین و آمیکاسین یک مورد و استرپتومایسین در تمامی موارد وجود داشت. حساسیت نسبت به کوتریموکسازول بدین شرح بود: در چهار مورد کاملا حساس، در دو مورد در حد متوسط و در یک مورد مقاوم گزارش شد.

هدف ما از این مطالعه، بررسی کشت خون مبتلایان به تب مالت که به روش سرولوژیکی تشخیص داده شده‌اند وتعیین پترن حساسیت ضدمیکروبی آنها می‌باشد. ازآنجائی که جدا کردن بروسلا از خون به روش‌های سنتی دشوار است و حساسیت پائینی دارند لذا جهت حصول کشت مثبت و انجام تست حساسیت ضد میکروبی بهتر است از تکنیک‌هایی به منظور افزایش حساسیت کشت، مانند لیز سانتریفوژ بهره جست(۱۱،۱۲،۱۳،۱۴).

در مطالعه Baykam در سال۲۰۰۴ از ۴۲ مورد کشت خون مثبت ۳۷ مورد بروسلا ملی تنسیس و ۵ مورد ابورتوس بودند و در بررسی آنتی بیوگرام یک مورد مقاومت به کوتریموکسازول گزارش شد(۴). در مطالعه Dimitrov در سال ۲۰۰۴ نشان داده شد که آزیتروماییسین، ریفامپین و کوتریموکسازول فعالیت کمی علیه بروسلاها دارند(۵). درمطالعه حاضر مشابه آنچه‌که دربررسی بودور و همکاران درسال۲۰۰۴ به دست آمد موثرترین دارو داکسی سیکلین، افلوکساسین، سیپروفلوکساسین بودند و حساسیت نسبت به استرپتومایسین و کوتریموکسازول کمتر بوده است(۶).

براساس مطالعه‌ای که در ترکیه در سال ۲۰۰۵ انجام گرفت، با توجه به MIC بالا نسبت به استرپتومایسین، استفاده از این دارو را در صورت کنترل دقیق بیماران، را توصیه نمودند(۷).

در یک مطالعه از بیماران مشکوک به بروسلا کشت خون تهیه شد که ۱۱ مورد کشت مثبت بدست آمد و تمام موارد بروسلا ملی تنسیس بود. تست حساسیت ضد میکروبی نیز انجام گرفت که تمام موارد به داکسی سیکلین، ریفامپین، سیپروفلوکساسین و سفتریاکسون حساس بودند و فقط یک مورد نسبت به کوتریموکسازول حساسیت نسبی (متوسط) داشت و بقیه مقاوم بودند(۸).

در مطالعه‌ای روی ۵۵ کودک(۶ ماه تا ۱۲ سال)

**جدول شماره ۱ :** حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیک های بررسی شده

| آنتی بیوتیک / حساسیت | OFX | CP | D | Te | CRO | S | GM | AN | SXT |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| حساس | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۵۷ | ۷۱ | ۰ | ۸۵ | ۸۵ | ۵۷ |
| حساسیت متوسط | ۰ | ۰ | ۰ | ۴۲ | ۲۸ | ۱۰۰ | ۱۴ | ۱۴ | ۲۸ |
| مقاوم | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۱۴ |

OFX: ofloxacin, CP: ciprofloxacin, D: doxycycline, Te: tetracycline,
CRO: ceftriaxone, S: streptomycin, GM: gentamicin, AN: amikacin, SXT: cotrimoxazole



www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:56 +0330 on Thursday November 23rd 2017

مبتلا به بروسلوز حاد که بیشتر با آرتریت حاد مراجعه نموده بودند و همگی تیتر آگلوتیناسیون (۱:۳۲۰) داشتند در۳۵ مورد کشت خون از نظر بروسلا ملی تنسیس مثبت شد. درمان دراین بیماران با تتراسیکلین، کوتریموکسازول با یا بدون استرپتومایسین در تمام موارد موفق بوده است(۹).

از آنجائیکه جدا کردن بروسلا از خون بروش های سنتی دشوار است و حساسیت پائینی دارند لذا جهت حصول کشت مثبت و انجام تست حساسیت ضدمیکربی بهتر است از تکنیک هایی به منظور افزایش حساسیت کشت مثل لیز سانتریفوژ بهره جست(۱۳-۱۰).

درمطالعه دیگری روی۴۶ بیمار کشت خون به روش سنتی انجام و حساسیت ضد میکروبی بررسی شد. تمامی موارد بروسلا ملی‌تنسیس بوده و به جز ۲ مورد حساسیت متوسط به ریفامپین بقیه موارد کاملا به ریفامپین، تتراسیکلین، استرپتومایسین، سیپروفلوکساسین و آزیترومایسین حساس بودند(۱۴).

نتیجه اینکه در مطالعه حاضر که در شهرستان رامسر انجام شد، مشابه بقیه مطالعات، اکثر موارد ابتلا به بروسلوز در اثر ملی تنسیس می‌باشد و پترن حساسیت ضد میکروبی، نشانگر آن است که هنوز حساسیت مناسبی نسبت به ترکیبات تتراسایکلین از جمله داکسی سیکلین وجود دارد ولی حساسیت نسبت به استرپتومایسین و کوتریموکسازول در حال کاهش است. پاسخ این بیماران به ترکیبات کینولون بسیار عالی و بدون مقاومت می‌باشد با وجود آنکه این ترکیبات آنتی بیوتیکی در موارد سل مقاوم به درمان نیز کاربرد دارد، استفاده از آنها در درمان بروسلوز بایستی با دقت نظر بیشتری انجام گیرد. البته مصرف این داروها در مقایسه با ترکیبات تتراسیکلینی هم بهتر تحمل می‌شود. در انتها بایستی به محدودیت‌های مطالعه از جمله حجم کم نمونه، استفاده از روش‌های کشت جدیدتر و عدم دسترسی به دیسک ریفامپین اشاره نمود.

## سپاسگزاری

ازپرسنل محترم آزمایشگاه بیمارستان امام سجاد(ع) رامسر که در انجام این مطالعه ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌شود

## References

1. Edward J. Young, Brucella Species. Mandel, Douglas and Bennett's Principles Pract Infec Dis 2005; 223: 2664-2674.
2. Corbel M J, Breeching N J, Brucellosis. In: Kasper, Braunwald, Fauci, Hauser, Longo, Jameson. Harrison's principles of internal medicine. 16th edition. Newyork: McGraw Hill; 2005. p 914-917.
3. Robert A. Slata, Brucellosis. Cecil Text Med 2008; 339: 1887-1890.
4. Baykam N, Esener H, Ergonul O. In vitro antimicrobial susceptibility of brucella species. Int J Antimicrob Agents 2004; 23(4): 405-407.
5. Ts. Dimitrov, D. Panigrahi, M. Emara. Seroepidemiological and microbiological study of brucellosis in Kuwait. Med Princ Pract 2004; 13: 215-219.
6. H. bodur, N balaban, S. Aksaray. Biotypes and antimicrobial susceptibility of brucella isolates. Scandinavian J Infect Dis 2004; 35(5): 337-338.
7. Tanyel E, Coban A Y, Koruk S T. Actual antibiotic resistance pattern of brucella melitensis in central Anatolia. An uptake from an endemic region Turkey 2005.

Archive of SID



www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:56 +0330 on Thursday November 23rd 2017

8. Ukran Kose, Selcuk Kilic, Yusuf Ozbel. Identification of brucella species from proven brucellosis patients in Izmir. J Basic Microbiol 2005; 45(4): 323-327.
9. Palanduz. A brucellar arthritis of child. J Pediat Child Health 1986; 41: 1-2.
10. Abbasi M E, Khosravi A, Alavi M. comparison of conventional culture method and PCR for isolation of brucella in brucellosis. Abstract book of Tehran brucellosis congress 2005; 118-119.
11. Hajia M, Rahbar M, Hosseindoust SR. Isolation of brucella in admitted brucellosis patients. Abstract book of Tehran brucellosis congress. 2005; p 165-166.
12. Aghouli M, Keshmiri Esphandabad R, Najafipour S, Alavi MJ. Isolation of brucella: comparison of conventional Castaneda method and blood culture with lysis centrifugation technique. Abstract book of Tehran brucellosis congress. 2005; p 181-182.
13. Mansouri F, Afshariyan M, Hatami H. Epidemiologic, clinical and diagnostic study in geriatric brucellosis patients in Kerman shah Hospital. Behbood 2000; 4: 44-51.
14. Ergin A, Selcuk K, Kemalettin A, et al. Antimicrobial susceptibility of Brucella melitensis isolates from blood samples. Turk J Med Sci 2008; 38(3): 257-262.

Archive of SID



www.SID.ir