

# بررسی میزان مقاومت به نالیدیکسیک اسید در سالمونلاهای تیفوئیدی و غیرتیفوئیدی

## جدا شده از بیماران بستری در یک دوره یکساله ۱۳۸۴-۸۵

### چکیده

زمینه و هدف: نالیدیکسیک اسید از آنتیبیوتیک‌های گروه کینولون‌ها می‌باشد که در شرایط *in vitro* و *in vivo*، فعالیت‌های خوبی بر علیه سالمونلا دارد و از این رو در درمان عفونت‌های سالمونلایی بخصوص انواع مقاوم به آنتیبیوتیک‌ها، مورد استفاده قرار می‌گیرد. از آنجا که نالیدیکسیک اسید می‌تواند نشانگری برای کاهش حساسیت به سپروفلوکسازین نیز باشد، لذا هدف از این بررسی ابتدا تعیین میزان شیوع عفونت سالمونلایی و سپس تعیین حساسیت و  $\text{MIC}_{\text{Minimum inhibitory concentration}}$  (concentration) سالمونلا به نالیدیکسیک اسید بوده است.

روش بررسی: جهت اجرای تحقیق، در دوره زمانی یک ساله از ابتدای سال ۱۳۸۴ لغایت خرداد ۱۳۸۵، نمونه مدفعه بیماران مبتلا به اسهال مورد بررسی قرار گرفت. به منظور جداسازی سالمونلا، نمونه‌ها در محیط‌های اختصاصی و افتراقی کشت داده شدند. سپس با استفاده از جداول تشخیصی انتروپاکتریاسه،  $45$  مورد ( $2/4$ ٪) سالمونلا بدست آمد. در ادامه با استفاده از آنتیسرم‌های اختصاصی، تعیین سروتاپیک شدند و حساسیت آنتیبیوتیکی آنها بر اساس روش استاندارد دیسک دیفیوژن آگار تعیین گردید. در نهایت،  $\text{MIC}$  دارو برای نمونه‌های سالمونلایی مقاوم به نالیدیکسیک اسید، به وسیله آزمون *E.test* مشخص گردید. این تحقیق، یک مطالعه توصیفی است. نتایج توسط نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند که براساس آزمون فرض تفاضل نسبتها، اختلاف آماری معنی‌داری بین دو روش وجود نداشت.

یافته‌ها: از بین  $1323$  نمونه مدفعه، تعداد  $45$  نمونه ( $2/4$ ٪) سالمونلا جدا گردید که متعاقب سروتاپینگ سالمونلاهای جدا شده، مشخص گردید که  $9$  مورد ( $20/20$ ٪) *S. enteridis*,  $6$  مورد ( $17/2$ ٪) *S. typhimurium*,  $4$  مورد ( $8/4$ ٪) *S. typhi*,  $4$  مورد ( $8/4$ ٪) *S. paratyphi C*,  $2$  مورد ( $4/4$ ٪) *S. paratyphi B*,  $2$  مورد ( $2/2$ ٪) *S. montevideo*,  $1$  مورد ( $2/2$ ٪) *S. muenchen*,  $1$  مورد ( $2/2$ ٪) *S. untypable*,  $1$  مورد ( $2/2$ ٪) *S. schwarzengrund*,  $1$  مورد ( $2/2$ ٪) *S. arizona*,  $1$  مورد ( $2/2$ ٪) *S. derby* بودند. این سویه‌ها علاوه بر خصوصیات بیوشیمیابی فقط با آنتیسرم O واکنش نشان دادند و با آنتیسرم‌های H موجود، قابل شناسایی نبودند. از این  $13$  مورد ( $28/9$ ٪)،  $10$  مورد ( $22/2$ ٪) به سالمونلا سروتاپیک C و  $3$  مورد ( $6/7$ ٪) به سالمونلا سروتاپیک B تعلق داشتند. نتایج تست حساسیت آنتیبیوتیکی نشان داد که  $11$  مورد ( $24/4$ ٪) در روش دیسک دیفیوژن آگار به نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند. در حالی که در روش *E.test*، تعداد  $9$  مورد ( $20/2$ ٪) به آنتیبیوتیک مربوطه دارای  $\text{MIC}$  مقاوم بودند.

نتیجه‌گیری: بیشترین مقاومت به نالیدیکسیک اسید در سالمونلاهای غیرتیفوئیدی مشاهده گردید که این نوع از سالمونلاها گسترش وسیعی در طبیعت داشته و جزء بیشترین عوامل سالمونلوز محسوب می‌گردد.  $11$  مورد در روش دیسک دیفیوژن و  $9$  مورد از این  $11$  مورد، در روش *E.test* به نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند و  $\text{MIC}$  موارد مقاوم به دارو در محدوده مساوی یا بیشتر از  $22$  میکروگرم در میلی‌لیتر قرار داشت. روش *E.test* علاوه بر تعیین  $\text{MIC}$ ، از دقت بیشتری نسبت به روش دیسک دیفیوژن آگار در تعیین موارد مقاوم برخوردار است، ولی مشکل عدمه استفاده از روش *E.test*، گران قیمت‌بودن این روش است.

کلیدواژه‌ها: ۱ - سالمونلا ۲ - مقاومت آنتیبیوتیکی ۳ - نالیدیکسیک اسید

تاریخ دریافت: ۸۵/۸/۷، تاریخ پذیرش: ۸۵/۹/۲۶

(I) دانشیار گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، تقطیع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.  
(II) مریبی و کارشناس ارشد میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، تقطیع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.  
(III) دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، خیابان معلم، خیابان شهید اکبر منصوری، زنجان، ایران (مؤلف مسئول).

## مقدمه

دوره کمون گاستروآنتریت سالمونلایی، ۶ تا ۲۷ ساعت می باشد و حدود ۲ هفته پس از عفونت، اکثر بیماران کشت مدفع مثبت خواهند داشت. سپتیسمی همراه با ظاهر توکسیک و تب بالا در سه ماه اول زندگی بسیار شایع تر است. باکتریمی سالمونلایی می تواند در شیرخواران و نوجوانان خودبخود ببیند یابد، ولی از طرف دیگر می تواند لوکالیزه و سیستمیک شده و پنومونی، آمپیم، آبسه، استئومیلت، آرتربیت چرکی، پیلونفریت و منثیت ایجاد کند. عامل بیماری تیفوئید، سالمونلا تیفی است و این باسیل فقط انسان را مبتلا می کند، لذا ناقلین مزمن هستند که سبب بوجود آمدن موارد جدید بیماری می شوند. باسیل پس از تهاجم به قسمت فوقانی روده، توسط منوسيت ها به غدد لنفاوی مزانتر و دیگر اعضا رتیکولواندوتیال منتقل می شود. التهاب غدد لنفاوی، کبد و طحال و سپس سپتیسمی بوجود می آید و دیگر اعضاء را نیز درگیر می کند. علایم بیماری در کودکان بالای ۲ سال شبیه بالغین است ولی معمولاً شدت کمتری دارد. علایم در شیرخواران از یک گاستروآنتریت ساده تا یک سپتیسمی شدید بدون اسهال متغیر است. این علایم شامل تب، هپاتومگالی، یرقان، بی اشتهايی، لتارژی و کاهش وزن می باشند. در کودکان بزرگتر، بیمار تب خفیف و شبیه یک سرماخوردگی دارد. در هفته اول، تب تدریجاً بالا می رود و به ۴۱-۴۰ درجه سلسیوس می رسد، در پایان هفته اول، بزرگی طحال و Rose spot ظاهر می شود. بدون درمان، در هفته دوم تمامی علایم بدتر می شوند، علایم شکمی واضح شده و خطر خونریزی یا خطر پروفوراسیون روده ای وجود دارد. اغلب در پایان هفته سوم بیمار ببیند می یابد اما در موارد شدید ممکن است حال بیمار بد بوده و یا حتی مرگ روی دهد.

مهمترین اقدام درمانی در گاستروآنتریت سالمونلایی، اصلاح دهیدراتاسیون و اختلالات الکترولیتی است. معمولاً بدون نیاز به آنتی بیوتیک، ببیندی حاصل می شود. از آنتی بیوتیک فقط در بیماران پرخطر استفاده می شود، از جمله در بیماران زیر ۳ ماه و بیمارانی که ضعف ایمنی، سوء تغذیه

سالمونلا یکی از شایع ترین باکتری های منتقل شده از حیوانات به انسان ها (zoonosis) است که به دلیل تنوع مخازن حیوانی، یکی از مهم ترین عوامل بیماری های منتقله از غذا و یکی از مشکلات بهداشتی محسوب می گردد.

عفونت سالمونلایی ممکن است در انسان به صورت انتروکولیت حاد، تب روده ای (تیفوئید، پاراتیفوئید) و یا باکتریمی بروز کند. انتروکولیت سالمونلایی را باید از تمام موارد اسهال حاد که شامل باکتری های مهاجمی چون کمپیلو باکتریژونی، گونه های شیگلا، اشرشیاکلی مهاجم، یرسینیا و غیره می باشد، افتراق داد.<sup>(۱-۴)</sup>

ساختمان آنتی زن، نقش مهمی در اپیدمیولوژی و طبقه بندی بعضی از گونه های انترو باکتریا سه دارد و بویژه در مورد بیماری زاهای روده ای مثل سالمونلا و شیگلا صادق است. آنتی زن های سوماتیک (O)، آنتی زن های فلاژله ای (H) و آنتی زن های کپسولی (K)، اجزای آنتی زنی بزرگی هستند که در تعیین تیپ سرو لوژیک این خانواده شرکت می کنند.<sup>(۵)</sup> بر اساس آنتی زن های O و H این باکتری، ۲۵۰۰ سرو تایپ سالمونلا شناسایی شده است که ۹۶/۵٪ سرو تایپ ها به زیر گونه انتریکا سرو گروه ۰:۶ متعلق می باشند. سرو گروه های ۱-۴، ۳ و ۱۹ غالباً ترین آنها هستند، بقیه سرو تایپ ها به زیر گونه هایی غیر از انتریکا تعلق داشته و در سرو گروه های ۱۱:۰:۶۷ تا ۰:۶۷:۰ قرار می گیرند.<sup>(۶)</sup> اکثر سرو تایپ های سالمونلا، پاتوژن های بالقوه ای برای انسان و بسیاری از حیوانات می باشند. این باکتری ها در دستگاه گوارش مهره داران اعم از پستانداران، پرندگان و ماهیان استقرار یافته و بسته به سرو تایپ، شرایط و عوامل متعدد میزبان، بیماری هایی با نشانه ها و عوارض متفاوت ایجاد می کنند. باکتری سالمونلا معمولاً از طریق مدفع انسان و یا دام دفع شده و باعث آلودگی آب، غذا و محیط می گردد.

عفونت های سالمونلایی بر دو نوع دارد: ۱- سالمونلوز - تب تیفوئیدی. سالمونلوزیس حداقل شیوع را در تابستان دارد، بیماری در شیرخواران و کودکان، شایع تر از بالغین است و وقوع آن بخصوص در سالهای اول زندگی بالاست.

واکنش‌های بیوشیمیایی جهت جداسازی و تایید سالمونلا، آزمون سروتاپینگ جهت مشخص نمودن آنتیژن O با آنتی‌سرم مربوطه انجام گردید. پس از تهیه سوسپانسیون باکتری و مجاور کردن آن با آنتی‌سرم، در صورت مثبت بودن به مدت ۱ تا ۲ دقیقه آگلوتیناسیون مشاهده گردید. آنتیژن‌های H و Vi نیز با همین روش تعیین گردیدند. مجموعه آنتی‌سرم‌های مورد استفاده، ساخت شرکت کوشافراور گیتی بودند و آزمون مربوطه مطابق دستورالعمل انجام گرفت.

همچنین روی نمونه‌های سالمونلاهای جدا شده، تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن آگار انجام می‌گرفت. دیسکهای آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده در این تحقیق، ساخت شرکت پادتن طب بوده و شامل آنتی‌بیوتیک‌های کرامفینیکل، سیپروفلوکسازین، سفالوتین، سفتی‌بیکسون، سفتی‌زوکسیم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفوكسیم، جنتامایسین، آمپی‌سیلین، نالیدیکسیک اسید و تری‌متوبریم سولفومتوکسازول بودند. آزمون آنتی‌بیوگرام با استفاده از سوسپانسیون باکتری در سرم فیزیولوژی و مقایسه کدورت آن با استاندارد نیم‌مکفارلند انجام گردید. سوسپانسیون تهیه شده به وسیله سوآپ استریل پنبه‌ای بر روی محیط مولرهیتون آگار دارای قطر یکنواخت ۴ میلیمتر، در تمام سطح محیط کشت پخش شد و در شرایط استریل دیسکهای آنتی‌بیوتیک در سطح محیط قرار گرفتند. پلیتها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند و سپس با توجه به قطر منطقه ممانعت از رشد و اندازه‌گیری آن به وسیله خطکش و با استفاده از جدول استاندارد National committee for clinical laboratory (NCCLS)، مقاومت و یا حساسیت باکتری به آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر مشخص گردید.

برای انجام آزمایش تعیین MIC، طبق دستورالعمل شرکت‌های سازنده نوارهای E-test، باکتری مورد مطالعه (سالمونلا) در سرم فیزیولوژی به حالت سوسپانسیون درآمده و کدورت آن با استاندارد نیم‌مکفارلند، تنظیم و روی سطح پلیت مولرهیتون آگار با سوآپ پنبه‌ای گسترش داده

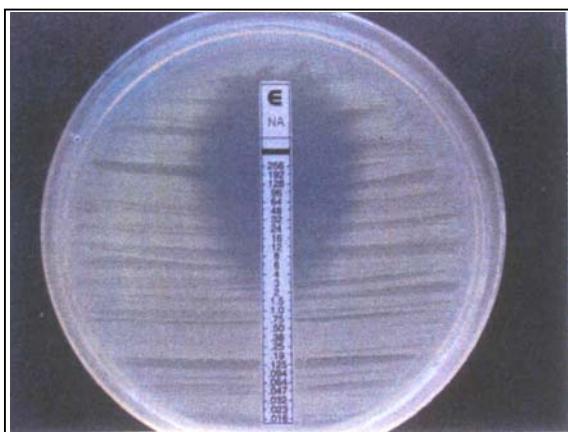
و بدخیمی دارند. در سپتی‌سمی، تب تیفوئید و عفونتهای متاستاتیک، از سفتریاکسون یا سفوتاکسیم استفاده می‌شود. آنتی‌بیوتیک‌های موثر علیه سالمونلاهای حساس نیز عبارتند از: کوتريموکسازول، کرامفینیکل و کینولون‌ها. البته در بیماری تیفوئید، مقاومت دارویی شایع است اما براساس آنتی‌بیوگرام می‌توان از آنتی‌بیوتیک مناسب استفاده کرد.<sup>(۷)</sup> مقاومت دارویی چندگانه سالمونلاها از دیربار مورد توجه بوده است و اخیراً مقاومت به فلوروکینولون‌ها، درمان این باکتری را مشکل ساخته است. به منظور جلوگیری از شکست درمان با این آنتی‌بیوتیک، کاهش حساسیت به نالیدیکسیک اسید باید بررسی شود. بنابراین هدف از این مطالعه، بررسی میزان مقاومت به نالیدیکسیک اسید در سالمونلاهای جدا شده در طی دوره یکساله بوده است.

### روش بررسی

این تحقیق، یک مطالعه توصیفی است. نمونه مدفعه بیماران مبتلا به اسهال بلافاصله و یا حداکثر در یک ساعت بعد از نمونه‌گیری، به محیط‌های کشت غنی کننده مثل سلنتیت F و محیط‌های اختصاصی و افتراقی مانند XLD agar (Xylose lysine deoxycholate agar) و Mac Conky agar (Salmonella and shigella agar) گردید. محیط‌های کشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند. نمونه‌های مدفعه کشت داده شده در محیط کشت سلنتیت F، بعد از ۸-۱۲ ساعت، در میان SS agar و XLD agar کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند. روز دوم، کلندی‌های مشکوک به سالمونلا جداسازی گردیدند، بطوری که از هر تک کلندی خالص، در شرایط استریل، انتقال به روی محیط‌های ۳ قندی آهن‌دار (TSI)، میکلیک (Methyl red) و لیزین آیرون آگار، سیترات و (MRVP) صورت پذیرفت و محیط‌های کشت به مدت ۲۰-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند.

پس از انجام آزمون‌های بیوشیمیایی افتراقی و بررسی

دارویی در مورد نالیدیکسیک اسید حاکی از آن بود که در ۱۱ مورد(۴/۲۴٪) در روش دیسک دیفیوژن، قطر هاله ممانعت از رشد کوچکتر و یا مساوی ۱۳ میلیمتر بود که مقاوم به نالیدیکسیک اسید گزارش گردیدند، در حالی که، از ۱۱ مورد مقاوم به نالیدیکسیک اسید در روش دیسک دیفیوژن آگار، در روش E.test فقط ۹ مورد(۲۰٪) به نالیدیکسیک اسید مقاومت نشان دادند که MIC آنها بزرگتر یا مساوی ۳۲ میکروگرم در میلی لیتر بود و ۲ مورد(۴٪) دیگر که MIC کوچکتر یا مساوی ۱۶ میکروگرم در میلی لیتر داشتند، حساس گزارش شدند. ۶ مورد(۱۲/۳٪) سالمونلای گروه C، ۳ مورد(۶/۷٪) سالمونلای گروه B، یک مورد(۲٪) سالمونلای گروه D و یک مورد(۲٪) سالمونلا آریزونه با روش دیسک دیفیوژن به نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند، در حالی که در روش E.test، این تعداد سویه‌های مقاوم، به ۹ مورد(۲۰٪) کاهش یافت. این کاهش مقاومت در سروتاپیک گروه B و سالمونلا آریزونه دیده شد. در جداول شماره ۱ و ۲ نتایج فوق دیده می‌شود. شکل شماره ۱ نیز نشان دهنده سالمونلاهای حساس به نالیدیکسیک اسید با روش E.test می‌باشد.



شکل شماره ۱- نمونه‌های حساس به نالیدیکسیک اسید در روش E.test

شد و سپس با پنس استریل، نوار E.test روی محیط کشت گذاشته شد و پس از ۲۴ ساعت، نتیجه با توجه به اندازه قطر هاله رشد گزارش شد. علاوه بر مشاهده منطقه ممانعت از رشد، غلظتی از دارو که از رشد باکتری ممانعت بعمل آورده نیز قرائت گردید.<sup>(۷)</sup> نوارهای E.test ساخت شرکت AB BIODISK بوده و از اشرشیاکلی ۲۵۹۲۲ به عنوان ارگانیسم کنترل استفاده شده است. در این بررسی از آزمون فرض تفاصل نسبتها جهت مقایسه نتایج تعیین مقاومت نالیدیکسیک اسید با دو روش دیسک دیفیوژن آگار و روش E.test استفاده شده است، که اختلاف معنی‌داری در مطالعه حاضر بین دو روش ذکر شده بدبست نیامد.

#### یافته‌ها

از ۱۳۳۳ نمونه مدفوع مبتلایان به اسهال، ۴۵ مورد(۴٪) سالمونلا و ۳۵ مورد(۷٪) شیگلا جداسازی گردید. سروتاپینگ سالمونلاهای جدا شده نشان داد که ۹ مورد (۰٪)، S.typhimurium ۶ مورد(۱۲/۳٪)، S.enteritidis ۴ مورد(۰٪)، S.montevideo ۴ مورد(۸/۹٪)، S.typhi ۳ مورد (۰٪)، S.paratyphi B ۲ مورد(۴٪)، S.paratyphi C ۲ مورد(۶٪)، یک مورد(۰٪)، S.muenchen ۱ مورد(۲٪)، یک مورد(۰٪)، S.schwarzengrund ۱ مورد(۰٪)، یک مورد(۰٪)، S.arizonea ۱۳ مورد(۲۸٪) untypeable علاوه بر دارا بودن خصوصیات بیوشیمیابی سالمونلا، فقط با آنتی‌سرم O واکنش نشان دادند و با آنتی‌سرم‌های H موجود قابل شناسایی نبودند، از این ۱۳ مورد(۰٪)، ۱۰ مورد(۲۲٪) به سالمونلا سروتاپ C و ۳ مورد(۰٪) به سالمونلا سروتاپ B تعلق داشتند.

نتایج تست حساسیت دارویی نشان داد که سفتی‌زوکسیم، سفتریاکسون، سفوتابکسیم و سفالوتین، آنتی‌بیوتیک‌های حساس در درمان سالمونلا می‌باشند. نتایج تست حساسیت

جدول شماره ۱- مقادیر مورد استفاده برای تعیین حساسیت سالمونلا به نالیدیکسیک اسید

مقادیر نالیدیکسیک اسید در روش دیسک دیفیوژن			مقادیر نالیدیکسیک اسید در روش E.test		
حساس	نیمه مقاوم	مقاوم	حساس	نیمه مقاوم	مقاوم
$\leq 16\mu\text{g}/\text{ml}$	-	$\geq 32\mu\text{g}/\text{ml}$	$\leq 16\mu\text{g}/\text{ml}$	$\leq 13\text{mm}$	$14-18\text{mm}$

همچنین از موارد حیوانی گزارش شده است که باعث ایجاد مشکلاتی در پروسه درمان عفونت‌های ناشی از سالمونلا شده است. فلؤئوروکینولون‌ها فعالیت خوبی در شرایط *in vitro* و *in vivo* در برابر سروتاپی‌های مختلف سالمونلا دارند و اغلب در درمان انتخابی سالمونلوز بخصوص انواع مقاوم به چند دارو بکار می‌روند.<sup>(۱۰)</sup> در سالهای اخیر به دلیل کاهش حساسیت به سیپروفلوکسازین، شکست‌های درمانی زیادی با فلؤئوروکینولون‌ها گزارش شده است که می‌توان به موارد زیر اشاره کرد.

در یک تحقیق در سال ۲۰۰۵، مقاومت به نالیدیکسیک اسید در ۷۳ گونه سالمونلا با روش دیسک دیفیوژن تعیین شد. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که کاهش حساسیت نمونه‌های سالمونلای جدا شده در برابر نالیدیکسیک اسید در حال افزایش است.<sup>(۱۰)</sup> مطالعه‌ای دیگر به منظور مشخص نمودن رابطه قطعی سروتاپی‌ها و مقایسه حساسیت به ۶ فلؤئوروکینولون و نالیدیکسیک اسید انجام گردید، که تغییر تدریجی مقاومت به نالیدیکسیک اسید در ۷۷۱ گونه سالمونلای غیرتیفوئیدی از انسان در یک بیمارستان در اسپانیا از سال ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۲ بررسی گردید. این مقاله افزایش مقاومت به نالیدیکسیک اسید در گونه‌های سالمونلای غیرتیفوئیدی از ۱/۶٪ در سال ۱۹۹۳ به ۳۱٪ در سال ۱۹۹۸ را نشان داده است. از این رو نتایج نشان می‌دهد که مقاومت سالمونلاها در برابر نالیدیکسیک اسید می‌تواند نشانگر کاهش مقاومت به فلؤئوروکینولون باشد. مقاومت به نالیدیکسیک اسید مرتبأ در باکتری‌هایی مثل *Salmonella hadar* و *Salmonella newport* ظاهر می‌شود. مقاومت به نالیدیکسیک اسید از ۳۸٪ در سال ۱۹۹۹ به ۴۳٪ در سال ۲۰۰۲ افزایش یافته است که این مقاومت در میان سروتاپی‌های مختلف، یکسان نبوده است. بالاترین درصد سالمونلاهای جدا شده مقاوم به نالیدیکسیک اسید، متعلق به سالمونلاهای *Salmonella hadar* (<sup>(۱۱)</sup>٪) می‌باشد و بعد از آن در *Salmonella enteritidis* (۴۲٪) مشاهده شده است. افزایش مقاومت در سالمونلا انتیریتیدیس بسیار نگران کننده است.<sup>(۱۱)</sup>

جدول شماره ۲- مقایسه تعداد و درصد سالمونلاهای مقاوم به

## نالیدیکسیک اسید

	E.test		روش دیسک دیفیوژن		نوع
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
سالمونلا سروتاپی C	۱۲/۲	۶	۱۲/۳	۶	
سالمونلا سروتاپی B	۴/۴	۲	۶/۷	۳	
سالمونلا سروتاپی D	۲/۲	۱	۲/۲	۱	
سالمونلا سروتاپی آریزوونه	۰	۰	۲/۲	۱	
جمع	۲۰	۹	۲۴/۴	۱۱	

## بحث

از ۴۵ مورد سالمونلای مورد مطالعه، بیشترین سروتاپی (۹ مورد: ۲۰٪) به *S.enteritidis* تعلق داشت که این نتیجه با تحقیقی که در طی سالهای ۲۰۰۰-۲۰۰۴ در یونان و طی ژولای ۲۰۰۰ تا ژوئن ۲۰۰۲ در ترکیه انجام گرفته، همخوانی دارد.<sup>(۹)</sup>

نتایج تست حساسیت دارویی نشان داد که سفتی زوکسیم، سفتریاکسون، سفوتاکسیم و سفالوتین، آنتیبیوتیک‌های حساس در درمان سالمونلا می‌باشند. مقایسه نتایج مقاومت دارویی سالمونلاها در برابر نالیدیکسیک اسید با دیسک MIC دیفیوژن آگار و استفاده از روش E.test جهت بررسی دارو نشان داد که ۲۴٪ سالمونلاها با روش دیسک دیفیوژن و ۲۰٪ با روش E.test به نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند. براساس محاسبات آماری به روش آزمون فرض تفاضل نسبتها با احتمال  $\alpha=0.05$ ٪ بین میزان مقاومت سالمونلاها به نالیدیکسیک اسید در روش دیسک دیفیوژن آگار با روش E.test اختلاف معنی‌داری بدست نیامد.

اصولاً در درمان انتریتی‌های سالمونلای در مواردی که خطر عفونت تهاجمی وجود دارد مانند بیماران با سیستم ایمنی تضعیف شده، بیمارانی که عفونت خارج روده‌ای دارند و کودکان و شیرخواران، استفاده از آنتیبیوتیک‌ها الزامی است. در چنین مواردی آنتیبیوتیک‌های گروه فلؤئوروکینولون‌ها، مناسب‌ترین و رایج‌ترین دارو در درمان این بیماری می‌باشند. در سالهای اخیر موارد زیادی از سالمونلاهای مقاوم به نالیدیکسیک اسید از موارد انسانی و

انجام شد، ۵۰٪ از سویه‌های سالمونلا انتریتیدیس به نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند.<sup>(۱۴)</sup> در طی یک مطالعه ۵ ساله که در سالهای ۲۰۰۴ تا ۲۰۰۶ در یونان انجام گرفت از میان ۴۰۱ نمونه سالمونلا، بیشترین درصد سروتاپ، به سالمونلا انتریتیدیس (۶۶٪) تعلق داشت که میزان مقاومت به نالیدیکسیک اسید در این تحقیق، ۷٪ گزارش شد.<sup>(۹)</sup> در بررسی انجام شده در اسرائیل طی سالهای ۱۹۹۷ تا ۲۰۰۲، ۵۳٪ سالمونلا غیرتیفوئیدی بدست آمد که بیشترین میزان مقاومت به آنتیبیوتیک‌ها در نالیدیکسیک اسید (۸۹٪) دیده شد.<sup>(۱۵)</sup>

در مطالعه دیگری که از سال ۱۹۹۶ تا ۲۰۰۳ بر روی ۱۲۲۵۲ نمونه سالمونلا غیرتیفوئیدی در آمریکا انجام گرفت، ۲۰۳ نمونه جدا شده (۱٪) به نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند و مقاومت به نالیدیکسیک اسید افزایش معنی‌داری از ۰/۴٪ در سال ۱۹۹۶ به ۰/۲٪ در سال ۲۰۰۳ داشت.<sup>(۱۶)</sup> در مطالعه‌ای که طی سالهای ۲۰۰۱ تا ۲۰۰۲ در زمان شیوع سالمونلوز در بربزیل جنوبی بر روی مقاومت آنتیبیوتیکی ۷۹ نمونه سالمونلا انتریتیدیس انجام شد، بیشترین مقدار مقاومت (۲۱٪)، نسبت به نالیدیکسیک اسید گزارش شد.<sup>(۱۷)</sup> در بررسی که برای تعیین حساسیت آنتیبیوتیکی ۸۹٪ سالمونلا جدا شده انسانی در ایرلند شمالی در مدت زمانی ۲۰۰۱ تا ۲۰۰۳ انجام گرفت، مقاومت سالمونلاها نسبت به نالیدیکسیک اسید، ۱۶٪ تعیین گردید.<sup>(۱۸)</sup> در بررسی دیگری که بر روی ۲۶۱ نمونه کلینیکی در کره انجام شد، افزایش شیوع مقاومت به نالیدیکسیک اسید از ۱/۸٪ در ۱۹۹۵-۹۶ به ۲۱٪ در ۲۰۰۲ را گزارش کردند و بیشترین میزان مقاومت در سروتاپ سالمونلا انتریتیدیس (۲۱٪) و بعد از آن در سالمونلا تیفی موریوم (۱۲٪) تعیین گردید.<sup>(۱۹)</sup>

نالیدیکسیک اسید نخستین کینولون ضد باکتری است که در سال ۱۳۶۳ ساخته شد، این آنتیبیوتیک فلئوردار نیست و به علت دفع بسیار سریع آن، اثر آنتیباکتریال سیستمیک ندارد و باکتری را به وسیله مهار توپوایزومراز II و IV،

بررسی مقاومت دارویی سالمونلای غیرتیفوئیدی در ترکیه طی ۲۰۰۰ July با تأکید بر روی توزیع در سروتاپ و مقاومت آنتیبیوتیکی سالمونلا انتریکا گروه C نشان داد که کاهش حساسیت به سیپروفلوکسازین مخصوصاً در گونه‌های سالمونلا گروه C وجود دارد و یک مشکل مهم در کشور ترکیه است. مقاومت آنتیبیوتیکی، مقاومت چندگانه و کاهش حساسیت به سیپروفلوکسازین میان گونه‌های سالمونلا انتریکا گروه C دست آورده این تحقیق بود. در بیشتر عفونت‌های سالمونلا مخصوصاً انتریت، درمان آنتیبیوتیکی ضروری نیست. به هر حال تعدادی از سروتاپ‌های گروه C مخصوصاً S.cholerasuis ممکن است به عفونت‌های شدید با شرایط تهاجمی منجر شوند، که درمان آنتیبیوتیکی پیگیر مورد نیاز می‌باشد.<sup>(۱۲)</sup> در بررسی انجام شده در ترکیه، بیشترین میزان مقاومت در سروتاپ C مشاهده گردید که با مطالعات انجام شده در این تحقیق مطابقت دارد. در طی سالهای ۱۹۸۱-۲۰۰۳ در اسپانیا تحقیقی بر روی سویه‌های غیرتیفوئیدی سالمونلا انجام شده است که مقاومت به نالیدیکسیک اسید در سالهای ۱۹۸۱-۹۱، ۰/۳٪ و بین سالهای ۱۹۹۲ تا ۱۹۹۳، ۰/۲۴٪ گزارش شد. این تحقیق بیانگر افزایش مقاومت به نالیدیکسیک اسید در سالهای اخیر است که علت آن می‌تواند مصرف زیاد این آنتیبیوتیک در عفونت‌های انسانی باشد.

اولین مورد سالمونلای مقاوم به نالیدیکسیک اسید در سال ۱۹۸۴، از سالمونلا انتریتیدیس جدا شده از مدفوع یک پسر بچه ۶ ساله که به علت گاستروانتریت حاد در بیمارستان بستری شده بود، گزارش گردید.<sup>(۸)</sup> بررسی انجام گرفته در طی سالهای ۱۹۸۳-۸۶ نیز در تهران بر روی مقاومت آنتیبیوتیکی سالمونلاهای بدست آمده از نمونه‌های کلینیکی نشان داد که ۰/۷٪ سالمونلاهای جدا شده، به نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند که در این بررسی، MIC تعیین نگردیده است.<sup>(۱۳)</sup>

در پژوهشی که از سال ۲۰۰۱ تا ۲۰۰۳ در اسپانیا بر روی ۵۷۷ نمونه سالمونلا برای تعیین حساسیت آنتیبیوتیکی

مسئله مهم یکی از اصلی‌ترین علل گسترش مقاومت دارویی است.

در بررسی حاضر مقاومت سالمونلا تیفی به نالیدیکسیک اسید، ۲/۲٪ گزارش گردید و مقاومت به نالیدیکسیک اسید در سالمونلاهای غیرتیفوئیدی از میزان شیوع بالاتری برخوردار بود. سالمونلا تیفی فقط منشاء انسانی داشته و مسافرت‌ها و مصرف غذایی با منشاء حیوانی می‌توانند در گسترش بیماری دخالت داشته باشند و اگر عفونت با انواع مقاوم بوجود آید سبب شیوع مقاومت نیز می‌گردد. لذا توجه به عدم آلوگی مواد غذایی با سالمونلا، مراقبت‌های بهداشتی، آموزش همگانی جهت رعایت بهداشت فردی و اعمال قانون نظارت بر رعایت بهداشت مراکز تهیه و توزیع مواد غذایی حائز اهمیت است.

#### تقدیر و تشکر

بدینوسیله نویسندهای این مقاله، مراتب تقدیر و تشکر خود را از جناب آقای دکتر علیرضا سالک‌مقدم و سرکار خانمها مژگان عشاقي و مژگان مرادي ابراز می‌دارند.

#### فهرست منابع

1- Bhattacharya SS, Das U. A steady decrease in occurrence of salmonella typhi infection in Rourkela, Orissa. Indian J Pathol Microbiol 2004; 46(3): 227-36.

2- Ciftci E, Guriz H, Derya A, Ince E, Erdem B, Dogru U. Salmonella bacteraemia in Turkish children: 37 cases seen in a university hospital between 1993 and 2002. Ann Trop Paediatr 2004; 24(1): 75-80.

3- Hemmatzadeh FA. Study on antibiotic susceptibility and R-Factor transmissibility among resistance of salmonella from human and animals. 3rd European congress of chemotherapy: Spain, Madrid; 2000. p. 7-12.

4- Glynn MK, Reddy V, Hutwagner L, Rabatsky T. Prior antimicrobial agent use increase the risk of sporadic infections with multidrug-resistant salmonella enterica serotype typhimurium. Clin Infect Dis 2004; 15(3): 227-36.

5- رحیمی محمد کریم، میکروب‌شناسی زیست‌سی، فصل پانزدهم، چاپ اول، تهران، انتشارات آییث، ۱۳۸۲، صفحه: ۲۴۰.

متوقف می‌کند.<sup>(۲۰)</sup> در این بررسی سالمونلاها با روش دیسک دیفیوژن(۴/۲۴٪) و روش E.test (۲۰٪) به نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند که افزایش مقاومت به نالیدیکسیک اسید را نشان می‌دهد.

استفاده خودسرانه و بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها و تجویز دارو توسط پزشکان بدون انجام آنتی‌بیوگرام، از دلایلی است که منجر به افزایش مقاومت به این آنتی‌بیوتیک می‌گردد. از این رو توجه به نتایج بدست آمده از این بررسی می‌تواند راهکاری برای پزشکان در درمان آنتریت‌های سالمونلایی بخصوص در کودکان باشد.

از جمله محدودیت‌های این مطالعه، مشکل بودن جداسازی و تشخیص سالمونلا از دیگر نمونه‌های مدفع، عدم تهیه آسان آنتی‌سرم جهت تعیین سروتایپ، مراجعه کم بیماران به پزشک در دوره ابتلاء به اسهال و درمان خودسرانه بیماران مبتلا به اسهال بود.

#### نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر مقاومت دارویی سالمونلا در برابر نالیدیکسیک اسید علاوه بر روش دیسک دیفیوژن آگار، با استفاده از روش E.test نیز مورد بررسی قرار گرفت تا MIC دارو مشخص شود. نتایج حاصل، حاکی از آن است که سالمونلاهای سالمونلای جدا شده از مدفع) با روش دیسک دیفیوژن(۴/۲۴٪) و با روش E.test (۲۰٪) به نالیدیکسیک اسید مقاومت نشان داده‌اند. براساس محاسبات آماری به روش آزمون فرض تفاضل نسبتها با احتمال ۹۵٪( $\alpha=0.05$ ) نمی‌توان ادعا کرد که دو روش استفاده شده دیسک دیفیوژن و E.test اختلاف آماری معنی‌داری دارند.

تجویز آنتی‌بیوتیک در تیفوئید و پاراتیفوئید می‌تواند دوره دفع باکتری از مدفع را در دوران نقاوت طولانی‌تر کند که این امر بی‌شک موجب انتشار عفونت ناشی از سویه‌های مقاوم در جامعه می‌شود. اگر چه بارها از تجویز بی‌رویه دارو و خود درمانی سخن گفته شده است، ولی این

- 6- Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ. Food microbiology: Fundamentals and Frontiers. 2nd ed. Washington DC: American Society for Microbiology(ASM) Press ; 2001. p. 139-178.
- ۷- پارچه باف بیگلی محمد، اصول تشخیص و درمان بیماری‌های شایع، انتشارات پورسینا، چاپ دوم، تهران، الجود، ۱۳۸۰، صفحه: ۱۰۷
- 8- Marimon JM, Gomariz M, Zigorraga C, Cilla G, Perez-Trallero E. Increasing prevalence of quinolone resistance in human nontyphoid salmonella enterica isolates obtained in Spain from 1981 to 2003. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(10): 3789-93.
- 9- Maraki S, Samonis G, Mantadakis E, Nioti E, Tselentis Y. Serotype distribution and antimicrobial resistance of salmonella enterica from patients with gastroenteritis in Crete, Greece. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006; 25(2): 116-9.
- 10- Ercis S, Erdem B, Hascelik G, Gur D. Nalidixic acid resistance in salmonella strains with decreased susceptibility to ciprofloxacin isolated from humans in Turkey. *Jpn J Infect Dis* 2005; 59: 117-19.
- 11- Rodriguez I, Carmen Rodriguez C, Lopez O, Juan J, Picazo JJ. Trends in nalidixic acid resistance in nontyphoidal salmonella isolated from 1999 to 2002: decreased susceptibility to 6 fluoroquinolones. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2005; 52: 261-4.
- 12- Erdem B, Ercis S, Hascelik G, Gur D, Aysev AD. Antimicrobial resistance of salmonella enterica group C strains isolated from humans in Turkey 2000-2002. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2005; 26: 33-7.
- 13- Farhoudi-Moghaddam AA, Katouli M, Jafari A, Bahavar MA, Parsi M, Malekzadeh F. Antimicrobial drug resistance and resistance factor transfer among clinical isolates of salmonella in Iran. *Scand J Infect Dis* 1990; 22(2): 197-203.
- 14- Soler P, Gonzalez-Sanz R, Bleda MJ, Hernandez G, Echeita A, Usera MA. Antimicrobial resistance in non-typhoidal salmonella from human sources spain, 2001-2003. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58(2): 310-4.
- 15- Weinberger M, Solnik-Isaac H, Shachar D, Reisfeld A, Valinsky L, Andorn N, et al. Salmonella enterica serotype virchow epidemiology resistance patterns and molecular characterization of an invasive salmonella serotype in Israel. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12(10): 999-1005.
- 16- Stevenson JE, Gay K, Barrett TJ, Medalla F, Chiller TM, Angulo FJ. Increase in nalidixic acid resistance among non-typhi salmonella in United states, 1996-2003. *Antimicrob Agents Chemother* 2007, 51(1), 195-197.
- 17- De oliveira FA, Brandelli A, Tondo EC. Antimicrobial resistance in salmonella enteritidis from foods involved in human salmonellosis outbreaks in southern Brazil. *New Microbiol* 2006; 29(1): 49-54.
- 18- Ong G, Wilson I, Smyth B, Rooney P. Antimicrobial resistance in non-typhoidal salmonellas from humans in Northen Ireland, 2001-2003; standardization needed for better epidemiological monitoring. *Epidemiol Infect* 2006; 12: 1-6.
- 19- Cho SH, Woo JH, Lee JE, Park SJ, Choo EJ, Kwak YG, et al. Increasing incidence of quinolone resistance in human non-typhoid salmonella enterica isolates in korea and mechanisms involved in quinolone resistance. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56(6): 1111-4.
- ۲۰- منجی علیرضا، فارماکولوژی پایه و بالینی کاتزونگ، چاپ اول، تهران، انتشارات تیمورزاده - نشر شب، بهار ۱۳۸۱، صفحه: ۶۱۷-۱۸

# *Nalidixic Acid Resistance Rate in Typhoidal and Non-Typhoidal Salmonella Isolated from Hospitalized Patients During One Year Period (2005-2006)*

/                    //                    ///  
**N. Amir Mozafari, PhD**      **H. Forouhesh Tehrani, MSPH**      \***M. Niakani, BSc**

## *Abstract*

**Background & Aim:** Nalidixic acid is a quinolone antibiotic with excellent in vitro and in vivo activity against salmonella. It is often the first choice for treating drug resistance salmonella infections. Nalidixic acid resistance can often lead to resistance to fluoroquinolones such as ciprofloxacin. In this survey the extent of salmonella infections, the salmonella strains involved, antibiotic susceptibility patterns, and the MIC values towards nalidixic acid were investigated.

**Patients and Methods:** During one year period(2005-2006), a total of 1333 diarrheal stool samples were collected from hospitalized patients. Stool cultures were performed on differential and selective media for salmonella isolation. A total of 45 salmonella spp.(species) were isolated(3.4%). Species identification were achieved by agglutination with species-specific antisera. Antibiotic susceptibilities were determined by disk-diffusion method(Kirby-Baure). The minimal inhibitory concentration(MIC) of drug-resistance salmonella isolates was performed by E.test. The study was a descriptive work. Data was analyzed by SPSS software. Based on difference ratio hypothesis there were no significant differences between the two methods.

**Results:** A total of 45 salmonella spp.(3.4%) were isolated from 1333 stool samples. Agglutination tests with specific antisera indicated that 9 of them belonged to S. enteritidis(20.0%), 6 S. typhimurium(13.3%), 4 S. montevideo(8.9%), 3 S. paratyphi C(6.7%), 2 S. paratyphi B(4.4%), 1 S. muenchen(2.2%), 1 S. derby(2.2%), 1 S. schwarzengrund(2.2%), 1 S. arizonea(2.2%) and 13(28.9%) untypable strains. All of the isolates were agglutinated with only anti O-antisera and non showed any reactions with anti-H antisera. Of the 13 untypable strains, 10(22.2%) belonged to the salmonella serogroup C and the remaining 3(6.7%) were serogroup B. Antibiogram tests indicated that 11(24.4%) of the salmonella isolates were resistant to Nalidixic acid in the disk diffusion agar method. However, determination of MIC values with E.test indicated that only 9(20.0%) of these strains showed MIC values within resistant range.

**Conclusion:** The highest rate of nalidixic acid resistance was seen within the non-typoidal salmonella strains. These strains are widely distributed within our environment and are the major etiological agents of human salmonellosis. Eleven strains were nalidixic acid resistant in the disk-diffusion method; whereas, only 9 showed resistant trait with E.test. The MIC of the resistant isolates to nalidixic acid was  $\geq 32\mu\text{g}/\text{ml}$ . Despite its high cost, it is therefore concluded that E.test gives a better and more accurate identification of drug-resistance trait as compared to disk diffusion agar method.

**Key Words:** 1) **Salmonella**    2) **Antibiotic Resistance**    3) **Nalidixic Acid**

I Associate Professor of Microbiology, Faculty of Paramedical sciences, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.

II MSPH in Microbiology, Instructor, Faculty of ParaMedical sciences, Faculty Member of Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.

III MSc student of Microbiology, Sh. Akbar Mansouri st., Moalem st, Azad Islamic University(Zanjan unit), Zanjan, Iran. (\*Corresponding Author)