Journal of North Khorasan University of Medical Sciences
No 51, Volume 13, Issue 3

Research Article

Evaluation Drug Susceptibility of Clinical Isolates of *Mycobacterium Simiea* Using REMA Plate Method in Mashhad

Noshin Hojatpanah [1], Fatemeh Askarizadeh [2], Saeid Amel Jamehdar [3,*], Hadi Farsiani [4], Kiarash Ghazvini [5]

[1] Master of science Department of Microbiology and Virology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[2] Master of science Department of Microbiology and Virology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[3] Assistant Professor Department of Microbiology and Virology, Emam Reza Hospital, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[4] Assistant Professor Department of Microbiology and Virology, Emam Reza Hospital, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[5] Associate professor Department of Microbiology and Virology, Ghaem Hospital, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
*** Corresponding author:** Saeid Amel Jamehdar, Professor, Assistant Professor Department of Microbiology and Virology, Emam Reza Hospital, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran. E-mail: AmelJS@mums.ac.ir

DOI: 10.52547/nkums.13.3.51

How to Cite this Article:
Hojatpanah N, Askarizadeh F, Amel Jamehdar S, Farsiani H, Ghazvini K. Evaluation Drug Susceptibility of Clinical Isolates of Mycobacterium Simiea Using REMA Plate Method in Mashhad. *J North Khorasan Univ Med Sci.* 2021;**13**(3):51-56. DOI: 10.29252/nkjms-13036

Received: 09 Jan 2021
Accepted: 11 May 2021
Keywords:
Non-Tuberculous Mycobacteria, Mycobacterium Simiae, REMA Plate

Abstract

Introduction: Non-tuberculous species of Mycobacterium are a large group of Mycobacterium and are widely distributed throughout the world. Increased isolation of non-tuberculous mycobacteria from patients with mycobacteria infections in Iranian laboratories was associated with erroneous and unnecessary drug treatment, so that in some cases isolated strains considered as drug resistant strains. According to studies conducted in Iran, Mycobacterium simiae was one of the most abundant non-tuberculous mycobacteria. The treatment regimen used includes Moxifloxacin, Clarithromycin along with third drugs Trimethoprim-Sulfamethoxazole and Streptomycin antibiotics. Due to the limited studies performed on Mycobacterium simiae, in this study, the resistance of Mycobacterium simiae to common antibiotics used in the treatment regimen was evaluated by using the REMA Plate method.

Methods: In the present study, the drug susceptibility of 10 clinical isolates of Mycobacterium simiae to Clarithromycin, Moxifloxacin, Co-trimoxazole and Streptomycin antibiotics was evaluated using the REMA Plate method.

Results: Out of 10 samples, all samples were sensitive to streptomycin and clarithromycin antibiotics (100%) and resistance to Moxifloxacin and Co-trimoxazole were %10 and %60, respectively.

Conclusions: The results indicated that the most effective drugs for the treatment were Clarithromycin, Streptomycin and Moxifloxacin, which can be used as a proper regimen in the treatment of Mycobacterium simiae infection.

Copyright © *2021 The Author(s); Published by Journal of North Khorasan Medical Sciences. This is an open access article, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses /by-nc/4.0/) which permits others to copy and redistribute material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.*

مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
دوره ۱۳، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰

مقاله پژوهشی

بررسی حساسیت دارویی ایزوله های بالینی مایکوباکتریوم سیمیه با استفاده از روش REMA Plate در مشهد

نوشین حجت پناه [۱،۲]، فاطمه عسکری زاده [۳]، سعید عامل جامه دار [۱،۴*]، هادی فارسیانی [۱،۴]، کیارش قزوینی [۱،۵]

[۱] مرکز تحقیقات مقاومت ضد میکروبی، پژوهشکده بوعلی، مشهد، ایران
[۲] کارشناس ارشد میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
[۳] کارشناس ارشد میکروب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
[۴] استادیار، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، بیمارستان امام رضا، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
[۵] دانشیار، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، بیمارستان قائم، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
[*] **نویسنده مسئول:** سعید عامل جامه دار، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، بیمارستان امام رضا، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. ایمیل: AmelJS@mums.ac.ir

DOI: 10.52547/nkums.13.3.51

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۲۱
واژگان کلیدی:
مایکوباکتریوم‌های غیر سلی، مایکوباکتریوم سیمیه، REMA Plate

چکیده

مقدمه: گونه‌های غیرسلی مایکوباکتریوم، گروه وسیعی از مایکوباکتریوم‌ها بوده و در سرتاسر دنیا پراکندگی وسیعی دارند. افزایش جداسازی مایکوباکتریوم‌های غیرسلی از بیماران مبتلا به عفونت‌های مایکوباکتریومی در آزمایشگاه‌های ایران، در ارتباط با درمان دارویی اشتباه و غیرضروری بوده بطوریکه در مواردی سویه های جدا شده به عنوان سویه‌های مولد سل مقاوم به دارو تلقی می‌شوند. طبق مطالعات انجام شده در ایران، مایکوباکتریوم سیمیه یکی از فراوان‌ترین مایکوباکتریوم‌های غیرسلی است. رژیم درمانی بکار رفته شامل آنتی‌بیوتیک‌های موکسی‌فلوکساسین، کلاریترومایسین به همراه داروی سوم نظیر تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول و استرپتومایسین می‌باشد. با توجه به مطالعات محدود صورت گرفته بر روی مایکوباکتریوم سیمیه، در این مطالعه میزان مقاومت این باکتری نسبت به آنتی بیوتیک های رایج مورد استفاده قرار گرفته در رژیم درمانی با استفاده از روش REMA Plate مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: درمطالعه حاضر حساسیت دارویی ۱۰ ایزوله بالینی مایکوباکتریوم سیمیه نسبت به آنتی‌بیوتیک های کلاریترومایسین، موکسی‌فلوکساسین، کوتریموکسازول و استرپتومایسین با استفاده از روش REMA Plate مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: از میان ۱۰ نمونه بررسی شده تمامی نمونه ها به آنتی بیوتیک های استرپتومایسین و کلاریترومایسین حساسیت داشتند (۱۰۰٪) و میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های موکسی‌فلوکساسین و کوتری‌موکسازول به ترتیب ۱۰٪ و ۶۰٪ بود.

نتیجه گیری: یافته‌های به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که موثرترین داروها با توجه به پایین بودن میزان مقاومت، جهت درمان مایکوباکتریوم سیمیه کلاریترومایسین، استرپتومایسین و موکسی فلوکساسین بودند بطوریکه می توانند به عنوان رژیم درمانی مناسب در درمان عفونت با این باکتری مورد استفاده قرار گیرند.

مقدمه

جنس مایکوباکتریوم، دربرگیرنده باسیل های اسید فست می باشد و به چهار گروه پاتوژن انسانی دربرگیرنده کمپلکس مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (Mycobacterium tuberculosis complex)، مایکوباکتریوم لپره (Mycobacterium leprea)، مایکوباکتریوم‌های غیر سلی کند رشد (SGM) و مایکوباکتریوم‌های غیر سلی تند رشد (RGM) تقسیم شده و در برگیرنده بیش از ۱۹۰ گونه مایکوباکتریوم غیرسلی می‌باشد (۱). مایکوباکتریوم‌های غیرسلی یا مایکوباکتریوم‌های محیطی، اولین بار در سال ۱۸۸۵ از نمونه‌های بالینی جداسازی شدند (۲). مایکوباکتریوم‌های غیرسلی، گونه‌هایی از مایکوباکتریوم‌ها با زندگی آزاد بوده و پراکندگی وسیع در محیط دارند. آن‌ها توانایی ایجاد طیف وسیعی از عفونت‌های مایکوباکتریایی را داشته بطوریکه عفونت‌های ریوی شایع ترین آن‌ها می‌باشند (۳، ۴).

علی رغم مطالعات گسترده بر روی بیماری سل و شناخت کامل اپیدمیولوژی این بیماری در ایران، مطالعات بر روی مایکوباکتریوم های غیر سلی به صورت محدود انجام شده است (۵). با این حال مطالعات صورت گرفته در ایران نشان داده‌اند که مایکوباکتریوم سیمیه، یکی از فراوان ترین مایکوباکتریوم های غیرسلی کند رشد می‌باشد که از بیماران جدا شده است (۶-۸). این باکتری اولین بار در سال ۱۹۶۵ از

Copyright © 2021 The Author(s); Published by Journal of North Khorasan Medical Sciences. This is an open access article, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses /by-nc/4.0/) which permits others to copy and redistribute material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

یک میمون (Macacus rhesus) جداسازی و از آن زمان، به عنوان یک گونه جدید در نظر گرفته شد (۹). مایکوباکتریوم سیمیه بیشتر در میزبان‌های مستعد بهمراه سیستم ایمنی سرکوب شده، همانند افراد مبتلا به HIV ، افراد سالخورده، کودکان و افراد با سابقه بیماری سل، موجب بیماری می‌شود (۲, ۱۰, ۱۱).

افزایش جداسازی مایکوباکتریوم‌های غیرسلی از بیماران مبتلا به عفونت‌های مایکوباکتریومی در آزمایشگاه‌های ایران، در ارتباط با درمان دارویی اشتباه و غیرضروری بوده بطوریکه در مواردی سویه های جدا شده به عنوان سویه‌های مولد سل مقاوم به دارو تلقی می‌شوند (۶, ۸). گزارش های متعدد از افزایش مقاومت مایکوباکتریوم های غیر سلی نسبت به رژیم های درمانی موجود وجود دارد (۱۲). رژیم درمانی مناسب بکار رفته در درمان بیماران مبتلا به عفونت های ناشی از مایکوباکتریوم سیمیه شامل آنتی بیوتیک های موکسی‌فلوکساسین، کلاریترومایسین و یکی از داروهای تری متوپریم-سولفامتوکسازول، کلوفازیمین، استرپتومایسین و یا آمیکاسین می باشد. انتخاب از بین این آنتی بیوتیک ها در صورت حساس بودن ایزوله مایکوباکتریوم سیمیه صورت میگیرد (۱۳, ۱۴).

روش‌های متعدد جهت بررسی حساسیت ضد میکروبی در مایکوباکتریوم‌ها از قبیل روش غلظت مطلق (Absolute Concentration M ethod)، E-test، سنجش نسبی مقاومت (Resistance Ratio Method) ، انتشار دیسک و روش رادیومتریک (Radiometric method) وجود دارد (۱۵-۱۹). از این میان روش REMA plate (Resazurin Micro-titer Assay) در مقایسه با سایر روش ها حساسیت بالایی را نشان داده است و به عنوان روشی سریع، ارزان و قابل اعتماد جایگزین سایر روش‌ها شده است. بر همین اساس در مطالعه حاضر روش مذکور مورد استفاده قرار گرفت. این روش ترکیبی از روش براث میکرودایلوشن (Broth micro-dilution) به همراه یک معرف رنگ سنجی تحت عنوان رزازورین می‌باشد (۲۰). معرف رنگی مذکور تحت شرایط اکسیداسیون-احیا عملکرد خود را نشان می‌دهد، بطوریکه رنگ آن تحت شرایط اکسید آبی بوده و پس از احیا توسط باکتری‌ها و سایر سلول‌های زنده به رنگ صورتی تغییر پیدا می‌کند و با چشم غیر مسلح قابل بررسی می باشد (۲۱-۲۳). با توجه به اهمیت انتخاب آنتی بیوتیک مناسب جهت درمان و به منظور جلوگیری از بروز مقاومت دارویی در مطالعه حاضر الگوی حساسیت دارویی جدایه‌های بالینی مایکوباکتریوم سیمیه نسبت به چهار آنتی بیوتیک کلاریترومایسین، موکسی‌فلوکساسین، استرپتومایسین و کوتری‌موکسازول، با استفاده از روش REMA Plate، با توجه به حساسیت بالا این روش، در بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه رفرانس سل بیمارستان شریعتی مشهد تعیین گردید.

روش کار

ایزوله های بالینی

جمع آوری و آماده سازی نمونه‌ها

مطالعه حاضر مصوب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مشهد به شماره IR.MUMS.fm.REC.1396.737 بوده است. جمع آوری نمونه در مطالعه حاضر به صورت مقطعی بوده که در آن ۱۶۶ نمونه ارجاع داده شده به آزمایشگاه رفرانس سل شمال شرق واقع در بیمارستان شریعتی مشهد طی سال های ۹۷-۹۶ جمع آوری گردید و از نظر وجود مایکوباکتریوم سیمیه مورد بررسی قرارگرفتند. نمونه های خلط جمع آوری شده به منظور آلودگی زدایی با استفاده از روش پتروف (Petroff"s method) آماده سازی شدند. از تمامی نمونه ها جهت تایید وجود باسیل های اسید فست اسمیر تهیه گردید و رنگ آمیزی زیل نلسون صورت گرفت.

کشت و جداسازی مایکوباکتریوم های غیر سلی

در جداسازی اولیه به منظور تایید مثبت بودن نمونه از نظر وجود مایکوباکتریوم، تمامی نمونه‌ها بر روی محیط لوین اشتاین جانسون کشت داده شدند. سپس با استفاده از تست‌های تشخیصی و افتراقی بیوشیمیایی نیترات، نیاسین، پیرازین آمیداز، اوره آز و هم چنین بررسی پیگمان نمونه‌های رشد کرده از نظر وجود مایکوباکتریوم‌های غیرسلی تایید و در سطح گونه مورد شناسایی قرار گرفتند. با توجه به مقاوم بودن تمامی مایکوباکتریوم های غیر سلی به آنتی بیوتیک های خط اول درمان سل، مقاومت دارویی نسبت به آنتی بیوتیک های ریفامپین، ایزونیازید و اتامبوتول با استفاده از روش نسبی(Proportional method) نیز بررسی شد. همچنین تمامی ایزوله‌های مورد مطالعه بر اساس معیارهای بالینی انجمن ریه آمریکا، به عنوان ایزوله های بیماری زا تلقی شدند.

تعیین حساسیت دارویی با استفاده از روش REMA Plate

جهت انجام براث میکرودایلوشن پلیت‌های ۹۶ خانه ای مخصوص کشت بافت با ته U شکل استریل، مورد نیاز بوده و هر پلیت برای یک نمونه در نظر گرفته شد. ابتدا مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محیط 7H9 غنی شده با ۰/۵ درصد توئین ۸۰ و OADC در هر چاهک ریخته شد و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی‌بیوتیک رقیق شده به اولین و دومین چاهک هر ردیف افزوده گردید و با سمپلر چندین بار عمل پر و خالی کردن جهت همگن شدن محیط و آنتی‌بیوتیک انجام شد، سپس به صورت رقت‌های دو برابری از چاهک دوم تا یازدهم رقت سریال تهیه گردید. غلظت ها به ترتیب ۵۱۲، ۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۱۶، ۸، ۴، ۲، ۱ و ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند. چاهک اول هر ردیف کنترل منفی و تنها حاوی محیط کشت و آنتی بیوتیک بود و چاهک آخر به عنوان کنترل مثبت و حاوی محیط کشت و شیرابه باکتری بود. در پایان، به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از نیم مک فارلند رقیق شده هر کدام از نمونه ها در همه چاهک‌های مربوطه به جز کنترل منفی ریخته شد تا غلظت نهایی 10^5 تا 5×10^5 CFU/ml از باکتری در هر چاهک فراهم شود. لازم به ذکر است جهت جلوگیری از خشک شدن پلیت در ردیف‌های خالی پلیت آب مقطر ریخته شد. درب پلیت‌ها بسته و اطراف آن درزگیری شد. سپس پلیت‌ها به مدت یک هفته در انکوباتور ۳۷ درجه قرار گرفتند. پس از انکوباسیون، ۳۰ میکرولیتر از محلول کاری رزازورین

۰٫۰۱٪ به هر چاهک اضافه شد و پلیت‌ها برای ۴۸-۲۴ ساعت دیگر در ۳۷ درجه انکوبه گردیدند.

یافته ها

از میان ۱۱۷۸ نمونه بالینی بدست آمده از نمونه های تنفسی بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه رفرانس سل شمال شرق کشور، ۱۶۶ نمونه بر روی محیط لوین اشتاین جانسون رشد کردند. از این بین، تنها ۲۵ نمونه از نظر گونه های مایکوباکتریوم غیر سلی مورد تایید قرار گرفتند و به تمامی آنتی بیوتیک های خط اول بررسی شده با استفاده از روش نسبی مقاوم بودند. از این میان ۱۰ سویه از نظر وجود مایکوباکتریوم سیمیه با توجه به فتوکروموژن بودن کلنی ها و هم چنین احیای نیترات منفی، نیاسین و اوره آز مثبت و پیرازین آمیداز منفی در سطح گونه شناسایی و تایید شدند. نتایج MIC برای ایزوله های مایکوباکتریوم سیمیه به روش REMA P late بدین صورت بود که کوتری موکسازول با بالاترین درصد (۶۰٪) بیشترین میزان مقاومت دارویی را داشت. هیچ یک از نمونه ها به آنتی بیوتیک‌های کلاریترومایسین و استرپتومایسین مقاومت نداشتند و تنها ۱۰٪ نمونه ها نسبت به آنتی بیوتیک موکسی فلوکساسین مقاومت نشان دادند (جدول ۱ و ۲).

جدول ۱. نتایج MIC در نمونه‌های بالینی مایکوباکتریوم سیمیه.

نمونهMIC	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱
استرپتومایسین	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۴	۰/۵	۰/۵	۰/۵
کوتری‌موکسازول	۱۲۸	۶۴	۳۲	۱۲۸	۳۲	۱۲۸	۱۲۸	۲۵۶	۳۲	۴
کلاریترومایسین	۱	۰/۵	۰/۵	۴	۱	۸	۸	۴	۱۶	۰/۵
موکسی‌فلوکساسین	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۴	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵

جدول ۲. نتایج آنتی‌بیوگرام نمونه‌های بالینی مایکوباکتریوم سیمیه.

محدوده MIC، MIC مقاوم، حساس، مقاوم/ آنتی بیوتیک‌ها	درصد نمونه‌های مقاوم	درصد نمونه‌های حساس	MIC مقاوم	محدوده MIC
استرپتومایسین	۰درصد	۱۰۰درصد	>۱۶	۰/۵-۵۱۲
کلاریترومایسین	۰درصد	۱۰۰درصد	>۱۶	۰/۵-۵۱۲
موکسی فلوکساسین	۱۰درصد	۹۰درصد	>۲	۰/۵-۵۱۲
کوتری موکسازول	۴۰درصد	۶۰درصد	>۳۲	۰/۵-۵۱۲

بحث

علیرغم کاهش میزان شیوع سل در کشورهای توسعه یافته، گزارشات متعدد حاکی از افزایش عفونت های مایکوباکتریوم‌های غیر سلی در سراسر دنیا می‌باشند (۲۴). گونه های NTM در تمامی محیط ها پراکندگی گسترده داشته و میزان جداسازی آن‌ها بسته به روش‌های جداسازی گوناگون موجود، متفاوت است (۲۵). مطالعات انجام شده در سراسر دنیا، نشان داده است که نوع گونه‌های NTM از کشوری به کشور دیگر و حتی در مناطق جغرافیایی متفاوت یک کشور، با یکدیگر تفاوت دارد (۲۶, ۲۷). به عنوان مثال گونه غالب در اکثرکشورهای اروپایی، مایکوباکتریوم آویوم بوده است در حالیکه در مطالعه ای در چین بیشترین گونه جدا شده، مایکوباکتریوم چلونه‌ای بوده است. در اروپا با توجه به وجود کشورهای مختلف نوع گونه NTM نیز متفاوت بوده است بطوریکه در آلمان، مایکوباکتریوم گوردونه بیشترین میزان جداسازی را داشته و در ایتالیا مایکوباکتریوم زنوپی گونه شایع بوده است (۲۸). بر همین اساس با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه بیشترین میزان شیوع NTM متعلق به مایکوباکتریوم سیمیه بوده است. نتایج بدست آمده طی بررسی هشت ساله در ایران نیز تاییدی بر این مطالعه می باشد، بطوریکه ۴۴٫۳٪ از ۱۲۴ نمونه مثبت از نظر NTM به صورت مایکوباکتریوم سیمیه شناسایی شدند (۲۹). بررسی مطالعات انجام شده در ایران نیز تاکیدی بر شیوع بیشتر مایکوباکتریوم سیمیه با اختصاص ۴۴٫۲٪ از موارد دارد (۳۰). علاوه بر این، میزان مقاومت دارویی در یک گونه در مناطق مختلف، نیز یکسان نمی باشد (۳۱-۳۳). بر اساس نتایج مطالعه حاضر، شایع ترین گونه NTM در ایران، مایکوباکتریوم سیمیه می باشد در حالیکه شیوع آن در سایر مطالعات متغیر است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که آنتی‌بیوتیک‌های کلاریترومایسین، استرپتومایسین و همچنین موکسی فلوکساسین (۱۰٪ مقاومت)، سه داروی موثر بر روی مایکوباکتریوم سیمیه می‌باشند. در مطالعه حاضر میزان مقاومت نسبت به کوتری موکسازول، بالا (۶۰٪) بود و با نتایج حاصل از مطالعه Heidarieh و همکاران در خصوص مقاومت دارویی ایزوله های بالینی مایکوباکتریوم‌های غیرسلی تا حدود زیادی مطابقت داشت بدین صورت که از میان ۴۰ گونه مایکوباکتریوم سیمیه، ۸۱٪ به استرپتومایسین، ۱۰۰٪ به کوتری موکسازول، و ۰٪ به موکسی‌فلوکساسین مقاومت داشتند (۳۱).

S. Cowman و همکاران طی مطالعه‌ای تست های حساسیت دارویی را به روش‌های فنوتیپی بر روی ۲۶۳۷ ایزوله NTM انجام دادند. بیشترین میزان مقاومت در مایکوباکتریوم سیمیه مشاهده گردید. بدین صورت که ۳۴٪ گونه ها نسبت به استرپتومایسین و ۱۹٪ به کلاریترومایسین حساسیت داشتند که این میزان مقاومت در مقایسه با نتایج بدست آمده در مطالعه انجام شده مغایرت داشت (۳۳). علاوه بر این بر اساس نتایج حاصل از مطالعه مقتدری و همکاران در سال ۲۰۱۱، که به بررسی حساسیت دارویی ۱۵ سویه NTM پرداخته بودند، بیشترین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک استرپتومایسین (۹۶٪) مشاهده شده با این حال همانند مطالعه حاضر، فلوروکوئینولون‌ها به عنوان موثرترین داروها در نظر گرفته شدند (۳۴). نتایج به دست آمده از مطالعه Shen Y و همکاران در ارزیابی حساسیت دارویی ایزوله های

جدا شده NTM نشان داد که مایکوباکتریوم آبسسوس و مایکوباکتریوم فورچوئیتوم به ترتیب نسبت به آنتی بیوتیک های کلاریترومایسین و آمینوگلیکوزیدها حساسیت دارند که تاییدی بر نتایج بدست آمده در مطالعه انجام شده می‌باشد (۳۵).

Shun-Cheng Y ang و همکاران در سال ۲۰۰۳ حساسیت دارویی ۲۰۰ ایزوله بالینی را با استفاده از روش براث میکرودایلوشن مورد بررسی قرار دادند. نتایج بدست آمده حاکی از فعالیت موثر کلاریترومایسین بر روی مایکوباکتریوم آبسسوس و گروه مایکوباکتریوم فورچوئیتوم بود، همچنین مروپنم و فلوئوروکوئینولون‌های جدید همانند مطالعه حاضر فعالیت موثری را علیه گروه مایکوباکتریوم فورچوئیتوم نشان دادند (۳۲).

Wang S Q و همکاران حساسیت ۱۵۰ ایزوله بالینی M.intracellulare را نسبت به آنتی‌بیوتیک های کلاریترومایسین و موکسی‌فلوکساسین مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از مطالعه مذکور نشان داد که به ترتیب ۹۷ در صد و ۹۴ درصد از ایزله ها به آنتی بیوتیک های کلاریترومایسین و موکسی‌فلوکساسین حساس بودند که مشابه با نتیجه بدست آمده حاصل از مطالعه حاضر بوده و نشان دهنده میزان پایین مقاوت نسبت به آنتی بیوتیک های مذکور در درمان عفونت های غیر سلی می باشد (۳۶). همچنین نتایج به دست آمده از مطالعه Guilian Li و همکاران حاکی از آن بود که بیشتر NTM ها به آمینوگلیکوزیدها، کوئینولون‌ها و سه ماکرولید (آزیترومایسین، کلاریترومایسین و روکسی ترومایسین) حساس بودند (۳۷).

نتیجه گیری

- با توجه به یافته های به دست آمده در مطالعه حاضر، شایع ترین مایکوباکتریوم غیر سلی جداسازی شده در شهر مشهد، مایکوباکتریوم سیمیه می‌باشد.

- علاوه بر این، با توجه به نتایج حاصل از ارزیابی حساسیت ضد میکروبی، سه آنتی بیوتیک کلاریترومایسین، استرپتومایسین و موکسی فلوکساسین با حداقل میزان مقاومت موثرترین داروها در درمان عفونت ناشی از مایکوباکتریوم سیمیه بودند.

- پشنهاد می شود که سه آنتی بیوتیک کلاریترومایسین، استرپتومایسین و موکسی فلوکساسین در رژیم درمانی عفونت های ناشی از مایکوباکتریوم های غیر سلی خصوصا مایکوباکتریوم سیمیه مورد استفاده قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر حاصل از طرح پژوهشی مصوب در دانشگاه علوم پزشکی مشهد به شماره ۹۶۱۳۲۴ می باشد و با حمایت تیم پژوهشی حاضر در پژوهشکده بوعلی مشهد و هم چنین حمایت مالی معاون پژوهشی دانشگاه صورت پذیرفت، لذا صمیمانه از تمامی افراد در انجام این پژوهش تشکر می نماییم. (کد اخلاق IR.MUMS.FM.REC.1396.737)

References

1. Runyon EH. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. *Med Clinic North America*. 1959;**43**(1):273-290. doi: 10.1016/S0025-7125(16)34193-1
2. Shitrit D, Peled N, Bishara J, Priess R, Pitlik S, Samra Z, et al. Clinical and radiological features of Mycobacterium kansasii infection and Mycobacterium simiae infection. *Respir Med*. 2008;**102**(11):1598-1603. doi: 10.1016/j.rmed.2008.05.004 pmid: 18619826
3. King HC, Khera-Butler T, James P, Oakley BB, Erenso G, Aseffa A, et al. Environmental reservoirs of pathogenic mycobacteria across the Ethiopian biogeographical landscape. *PLoS One*. 2017;**12**(3):e0173811. doi: 10.1371/journal.pone.0173811 pmid: 28333945
4. van Ingen J, Griffith DE, Aksamit T, Wagner D. Pulmonary diseases caused by non-tuberculous mycobacteria. *Europe Respirat Monog*. 2012;**58**:25-37. doi: 10.1183/1025448x.10022511
5. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, Catanzaro A, Daley C, Gordin F, et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;**175**(4):367-416. doi: 10.1164/rccm.200604-571ST pmid: 17277290
6. Hashemi-Shahraki A, Bostanabad SZ, Heidarieh P, Titov LP, Khosravi AD, Sheikhi N, et al. Species spectrum of nontuberculous mycobacteria isolated from suspected tuberculosis patients, identification by multi locus sequence analysis. *Infect Genet Evol*. 2013;**20**:312-324. doi: 10.1016/j.meegid.2013.08.027 pmid: 24070831
7. Shojaei H, Heidarieh P, Hashemi A, Feizabadi MM, Daei Naser A. Species identification of neglected nontuberculous mycobacteria in a developing country. *Japanese J Infect Disease*. 2011;**64**(4):265-271.
8. Hashemi-Shahraki A, Darban-Sarokhalil D, Heidarieh P, Feizabadi MM, Deshmir-Salameh S, Khazaee S, et al. Mycobacterium simiae: a possible emerging pathogen in Iran. *Jpn J Infect Dis*. 2013;**66**(6):475-479. doi: 10.7883/yoken.66.475 pmid: 24270133
9. van Ingen J, Boeree MJ, Dekhuijzen PN, van Soolingen D. Clinical relevance of Mycobacterium simiae in pulmonary samples. *Eur Respir J*. 2008;**31**(1):106-109. doi: 10.1183/09031936.00076107 pmid: 18166593
10. Phillips DR, Krishnan H, Watson J. First UK report of successful treatment of Mycobacterium simiae and immune reconstitution inflammatory syndrome in an HIV-seropositive patient. *Sex Transm Infect*. 2008;**84**(4):271-272. doi: 10.1136/sti.2008.029900 pmid: 18647877
11. Braun-Saro B, Esteban J, Jimenez S, Castrillo JM, Fernandez-Guerrero ML. Mycobacterium simiae Infection in an Immunocompromised Patient without Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Clin Infect Dis*. 2002;**34**(5):E26-27. doi: 10.1086/338874 pmid: 11810603
12. Tabarsi P, Baghaei P, Farnia P, Mansouri N, Chitsaz E, Sheikholeslam F, et al. Nontuberculous mycobacteria among patients who are suspected for multidrug-resistant tuberculosis-need for earlier identification of nontuberculosis mycobacteria. *Am J Med Sci*. 2009;**337**(3):182-184. doi: 10.1097/maj.0b013e318185d32f pmid: 19301453
13. Maoz C, Shitrit D, Samra Z, Peled N, Kaufman L, Kramer MR, et al. Pulmonary Mycobacterium simiae infection: comparison with pulmonary tuberculosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2008;**27**(10):945-950. doi: 10.1007/s10096-008-0522-6 pmid: 18488259
14. Nasser M. All about Mycobacterium simiae in Brief. *J Med Microb Diagn*. 2014;**4**(175):2.
15. Canetti G, Froman S, Grosset J, Hauduroy P, Langerova M, Mahler HT. MYCOBACTERIA: LABORATORY METHODS FOR TESTING DRUG SENSITIVITY AND RESISTANCE. *Bull World Health Organ*. 1963;**29**(5):565-578.
16. van Klingeren B, Dessens-Kroon M, van der Laan T, Kremer K, van Soolingen D. Drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis complex by use of a high-throughput, reproducible,

absolute concentration method. *J Clin Microbiol*. 2007;**45**(8):2662-2668. doi: 10.1128/JCM.00244-07 pmid: 17537932
17. Fabry W, Schmid EN, Ansorg R. Comparison of the E test and a proportion dilution method for susceptibility testing of Mycobacterium kansasii. *Chemotherapy*. 1995;**41**(4):247-252. doi: 10.1159/000239352 pmid: 7555204
18. Roberts GD, Goodman NL, Heifets L, Larsh HW, Lindner TH, McClatchy JK, et al. Evaluation of the BACTEC radiometric method for recovery of mycobacteria and drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis from acid-fast smear-positive specimens. *J Clin Microbiol*. 1983;**18**(3):689-696. doi: 10.1128/jcm.18.3.689-696.1983 pmid: 6195181
19. Stone MS, Wallace RJ, Jr., Swenson JM, Thornsberry C, Christensen LA. Agar disk elution method for susceptibility testing of Mycobacterium marinum and Mycobacterium fortuitum complex to sulfonamides and antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother*. 1983;**24**(4):486-493. doi: 10.1128/AAC.24.4.486 pmid: 6651277
20. Palomino JC, Martin A, Camacho M, Guerra H, Swings J, Portaels F. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;**46**(8):2720-2722. doi: 10.1128/AAC.46.8.2720-2722.2002 pmid: 12121966
21. Carter RA, Ericsson SA, Corn CD, Weyerts PR, Dart MG, Escue SG, et al. Assessing the fertility potential of equine semen samples using the reducible dyes methylene green and resazurin. *Arch Androl*. 1998;**40**(1):59-66. doi: 10.3109/01485019808987928 pmid: 9466003
22. Mann CM, Markham JL. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *J Appl Microbiol*. 1998;**84**(4):538-544. doi: 10.1046/j.1365-2672.1998.00379.x pmid: 9633651
23. Smith CF, Townsend DE. A new medium for determining the total plate count in food. *J Food Prot*. 1999;**62**(12):1404-1410. doi: 10.4315/0362-028x-62.12.1404 pmid: 10606144
24. Redbord KP, Shearer DA, Gloster H, Younger B, Connelly BL, Kindel SE, et al. Atypical Mycobacterium furunculosis occurring after pedicures. *J Am Acad Dermatol*. 2006;**54**(3):520-524. doi: 10.1016/j.jaad.2005.10.018 pmid: 16488309
25. Alvarez-Uria G. Lung disease caused by nontuberculous mycobacteria. *Curr Opin Pulm Med*. 2010;**16**(3):251-256. doi: 10.1097/MCP.0b013e3283378fa3 pmid: 20154623
26. Field SK, Cowie RL. Lung disease due to the more common nontuberculous mycobacteria. *Chest*. 2006;**129**(6):1653-1672. doi: 10.1378/chest.129.6.1653 pmid: 16778288
27. Simons S, van Ingen J, Hsueh PR, Van Hung N, Dekhuijzen PN, Boeree MJ, et al. Nontuberculous mycobacteria in respiratory tract infections, eastern Asia. *Emerg Infect Dis*. 2011;**17**(3):343-349. doi: 10.3201/eid1703.100604 pmid: 21392422
28. Martín-Casabona N, Bahrmand AR, Bennedsen J, Thomsen VO, Curcio M, Fauville-Dufaux M. Non-tuberculous mycobacteria: patterns of isolation. A multi-country retrospective survey. *Int J Tuberculosis Lung Disease Official J Int Union Tuberculosis Lung Disease*. 2004;**8**(10):1186-1193.
29. Derakhshani Nezhad Z, Farnia P, Sheikholslami FM, Afraei Karahrudie M, Mozafari M, Seif S. Prevalence of non-tuberculosis mycobacteria in patients referring to Mycobacteriology Research Center of Iran. *Sci J Kurdistan Univ Med Sci*. 2014;**19**(2):31-39.
30. Khaledi A, Bahador A, Esmaeili D, Ghazvini K. Prevalence of Nontuberculous Mycobacteria (NTM) in Iranian clinical specimens: systematic review and meta-analysis. *J Med Bacteriol*. 2016:29-40.
31. Heidarieh P, Mirsaeidi M, Hashemzadeh M, Feizabadi MM, Bostanabad SZ, Nobar MG, et al. In Vitro Antimicrobial Susceptibility of Nontuberculous Mycobacteria in Iran. *Microb Drug Resist*. 2016;**22**(2):172-178. doi: 10.1089/mdr.2015.0134 pmid: 26468990
32. Yang SC, Hsueh PR, Lai HC, Teng LJ, Huang LM, Chen JM, et al. High prevalence of antimicrobial resistance in rapidly growing mycobacteria in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;**47**(6):1958-1962. doi: 10.1128/AAC.47.6.1958-1962.2003 pmid: 12760874
33. Cowman S, Burns K, Benson S, Wilson R, Loebinger MR. The antimicrobial susceptibility of non-tuberculous mycobacteria. *J Infect*. 2016;**72**(3):324-331. doi: 10.1016/j.jinf.2015.12.007 pmid: 26723913
34. Moghtaderi P, Moadab R, Rafie N. Drug resistance in non-tuberculois mycobacteria in pulmonary infection [Persian]. *Iran J Infect Dis*. 2011;**17**:59-63.
35. Shen Y, Wang X, Jin J, Wu J, Zhang X, Chen J, et al. In Vitro Susceptibility of Mycobacterium abscessus and Mycobacterium fortuitum Isolates to 30 Antibiotics. *Biomed Res Int*. 2018;**2018**:4902941. doi: 10.1155/2018/4902941 pmid: 30687747
36. Wang SQ, Jiang GL, Wei GM, Huo FM, Dong LL, Zhao LP. [Antimicrobial susceptibility and genotyping of Mycobacterium intracellulare]. Zhonghua jie he he hu xi za zhi = Zhonghua jiehe he huxi zazhi = Chinese journal of tuberculosis and respiratory diseases. *41*. 2018;**7**:539-543.
37. Guillemin I, Jarlier V, Cambau E. Correlation between quinolone susceptibility patterns and sequences in the A and B subunits of DNA gyrase in mycobacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998;**42**(8):2084-2088. doi: 10.1128/AAC.42.8.2084 pmid: 9687411