

مقایسه آزمایش تعیین حساسیت باکتری‌های عامل زخم عفونی قرنیه نسبت به چند نوع آنتی‌بیوتیک

دکتر حمید رضا جهادی^۱، دکتر زهرا قاسمی^۲، دکتر عباس عطارزاده^۳، دکتر اسداله کتاب^۱، دکتر حمید خوش‌نیت^۱، دکتر حسین موحدان^۱، دکتر محمود نجابت^۱، دکتر رامین صلوتی^۱، دکتر قربانعلی حسینی^۴ و دکتر برات عبودی^۵

پیشینه و هدف: تشخیص و درمان به هنگام زخم قرنیه یکی از فوریت‌های مهم در چشم‌پزشکی است. این مطالعه به منظور مقایسه میزان مقاومت باکتری‌های جدا شده از چشم‌های مبتلا به زخم عفونی قرنیه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مطرح در درمان این بیماری، در محیط آزمایشگاهی انجام شد.

مواد و روش‌ها: تحقیق حاضر بر روی ۱۰۰ چشم مبتلا به زخم عفونی قرنیه انجام شد. پس از تشخیص احتمالی زخم عفونی قرنیه و گرفتن نمونه از ناحیه فعال زخم، ضمن تهیه اسمیر مستقیم، نمونه‌ها به محیط‌های کشت منتقل و در دمای مناسب انکوبه شدند. در موارد کشت مثبت باکتری، نوع آن تعیین و آزمایش آنتی‌بیوگرام نسبت به پنج داروی سیپروفلوکساسین، افلوکساسین، آمیکاسین، جنتامایسین و سفازولین انجام شد. نمونه‌ها در موارد کشت منفی از نظر باکتری، در محیط‌های کشت از نظر رشد قارچ انکوبه شدند. ویوگی‌های فردی بیماران، فراوانی استفاده از آنتی‌بیوتیک موضعی و مدت بین شروع علائم تا مراجعه، در کل بیماران بررسی شدند. عوامل زمینه‌ای ابتلا به زخم قرنیه و ویوگی‌های بالینی زخم در موارد باکتریایی ثابت‌شده نیز بررسی شدند. نتایج به دست آمده با آزمون فیشر و آزمون مربع کای ارزیابی شدند.

یافته‌ها: بیماران شامل ۵۷ درصد مرد و ۴۳ درصد زن بودند. در ۵۶ درصد موارد، کشت مثبت شد که شامل ۴۰ درصد باکتری و ۱۶ درصد قارچ بود. میانگین فاصله شروع علائم تا مراجعه، ۱۰/۴ روز (۳۰-۱ روز) بود و ۸۳ درصد بیماران قبل از مراجعه، از قطره‌های مختلف آنتی‌بیوتیک استفاده کرده بودند. باکتری‌های جدا شده در ۹۵ درصد به افلوکساسین، ۹۲/۵ درصد به سیپروفلوکساسین، ۹۲/۵ درصد به آمیکاسین، ۶۵ درصد به جنتامایسین، ۶۲/۵ درصد به سفازولین و ۸۵ درصد به حداقل یکی از دو داروی جنتامایسین و سفازولین حساس بودند. از باکتری‌های جدا شده، ۴۵ درصد استافیلوکوک کواگولازمنفی و ۲۵ درصد پseudomonas بودند که ۴۰ درصد از pseudomonas‌ها نسبت به هر دو داروی جنتامایسین و سفازولین مقاوم و ۱۰۰ درصد آن‌ها نسبت به هر یک از سه داروی دیگر حساس بودند. در استفاده توأم از جنتامایسین و سفازولین، با فرض این که حساسیت باکتری به حداقل یکی از آن‌ها کافی باشد؛ مقایسه حساسیت کل باکتری‌ها به این ترکیب با هر یک از سه داروی سیپروفلوکساسین، افلوکساسین و آمیکاسین به تنهایی، اختلاف آماری معنی‌داری نداشت در حالی که این مقایسه در مورد pseudomonas‌ها، اختلاف آماری معنی‌داری داشت.

نتیجه‌گیری: داروهای سیپروفلوکساسین، افلوکساسین و آمیکاسین در محیط آزمایشگاهی، با درصد بالا بر روی انواع باکتری‌های عامل زخم قرنیه موثرند. دو داروی جنتامایسین و سفازولین به دلیل فراوانی بالای مقاومت میکروبی، هیچ‌کدام به

تنهایی به عنوان درمان تجربی (**empirical**) زخم باکتریایی قرنیه مناسب نمی‌باشند اما تجویز توام آن‌ها به جز در مورد پسودوموناس، هم‌چنان بر طیف وسیعی از باکتری‌های عامل زخم قرنیه موثر است.

PCR: polymerase chain reaction
NCCLS: National Committee for Clinical
Laboratory Standards

۱- استادیار- چشم‌پزشک- دانشگاه علوم پزشکی

شیراز

۲- فلوشیپ سگمان قدامی- دانشگاه علوم پزشکی

شیراز

تاریخ دریافت مقاله: ۱۹ فروردین ۱۳۸۱

۳- دانشیار- چشم‌پزشک- دانشگاه علوم پزشکی

شیراز

تاریخ تایید مقاله: ۶ تیر ۱۳۸۱

۴- دستیار- چشم‌پزشک- دانشگاه علوم پزشکی

شیراز

۵- استادیار- متخصص میکروبیولوژی- دانشگاه

علوم پزشکی شیراز

☒ شیراز- بیمارستان خلیلی

مقدمه

و شروع درمان اختصاصی، نیاز به تشخیص آزمایشگاهی می‌باشد. چون روش‌های تشخیصی سریع مانند **PCR** و میکروسکوپ **confocal** گران‌قیمتند و در اکثر مراکز در دسترس نمی‌باشند، در حال حاضر متداول‌ترین روش تشخیصی بر اساس اسمیر و کشت است. از آن‌جا که در مورد باکتری‌ها، تشخیص نوع و تعیین حساسیت باکتری به آنتی‌بیوتیک‌ها نیاز به زمانی حدود ۴۸ ساعت دارد؛ پس از تهیه نمونه از زخم قرنیه، به طور معمول درمان تجربی با آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیف آغاز می‌گردد^۱.

در حال حاضر، در اکثر مراکز درمانی کشورمان، انتخاب معمول برای درمان تجربی، ترکیبی از قطره‌های تقویت‌شده جنتامایسین و سفازولین است. در سال‌های اخیر با ظهور سپروفلوکساسین، نظر به وسیع‌الطیف بودن و نیز عبور خوب آن از سد خونی-چشمی، استفاده از آن در کراتیت باکتریایی به صورت موضعی و سیستمیک و

زخم قرنیه یکی از فوریت‌های مهم در چشم‌پزشکی است که در صورت عدم تشخیص و درمان به موقع و صحیح می‌تواند موجب کاهش یا فقدان دائم بینایی یا حتی از دست رفتن چشم گردد^۱.

زخم‌های عفونی قرنیه می‌توانند در اثر عوامل مختلفی شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها و انگل‌ها ایجاد شوند. توزیع انواع عامل عفونی و نیز حساسیت آن‌ها نسبت به داروها در هر منطقه می‌تواند با مناطق دیگر متفاوت باشد. بنابراین شناخت انواع میکروارگانیسم و پاسخ آن‌ها به داروها در هر منطقه در خور اهمیت و در امر درمان موثر است. شایع‌ترین نوع کراتیت عفونی، نوع باکتریایی است و نظر به این که تشخیص قطعی عامل عفونی زخم قرنیه تنها براساس ویژگی‌های بالینی زخم از قبیل شکل، عمق، رنگ، نحوه گسترش و... ممکن نیست بلکه برای تشخیص قطعی

جایگزینی آن به جای درمان ترکیبی استاندارد، مورد توجه قرار گرفته است. ارجحیت درمان با فلوروکینولون به صورت تک‌دارویی به جای روش ترکیبی شامل هزینه کم‌تر، راحتی مصرف، در دسترس بودن به صورت آماده و عدم لزوم ترکیب آن به صورت قطره تقویت‌شده و استاندارد بودن از نظر **PH** و غلظت می‌باشد.^۲ مطالعات متعددی تاثیر مساوی و سمیت کم‌تر درمان تک‌دارویی با فلوروکینولون را در مقایسه با درمان ترکیبی نشان داده‌اند.^۸ در بعضی مطالعات بالینی تاثیر بهتر سیپروفلوکساسین را در مقایسه با درمان استاندارد گزارش کرده‌اند.^۹ استفاده بی‌رویه و گسترده از هر نوع آنتی‌بیوتیک می‌تواند موجب ایجاد مقاومت میکروبی گردد. با شایع‌تر شدن استفاده از سیپروفلوکساسین به صورت تک‌دارویی، گزارش‌های متعددی از افزایش مقاومت میکروبی نسبت به این دارو ارائه شده است.^{۱۰-۱۱} در کشورمان نیز به دنبال مطالعاتی که تاثیر سیپروفلوکساسین را با درمان ترکیبی استاندارد مقایسه کرده‌اند^{۸و۹} و با فراگیرتر شدن استفاده از داروی سیپروفلوکساسین، تحقیقی در زمینه میزان مقاومت باکتری‌های عامل زخم قرنیه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مطرح در درمان این بیماری، ضروری به نظر می‌رسید، چنان‌که این موضوع در بحث مجله بینا نیز مطرح گردید.^{۱۶} این پژوهش، به منظور مقایسه میزان مقاومت باکتری‌های جداشده از چشم‌های مبتلا به زخم عفونی قرنیه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد مصرف در درمان این بیماری در محیط آزمایشگاهی بر روی مراجعه‌کنندگان به اورژانس چشم بیمارستان خلیلی شیراز در فاصله زمانی تیرماه تا اسفندماه ۱۳۸۰ انجام شد.

مواد و روش‌ها

تحقیق به صورت آینده‌نگر بر روی ۱۰۰ چشم از ۹۹ بیمار مبتلا به زخم عفونی قرنیه انجام شد. پس از تشخیص احتمالی زخم عفونی قرنیه، گرفتن شرح حال کامل و اخذ رضایت‌نامه از بیماران؛ معاینات کامل چشم‌پزشکی در حد امکان انجام شد. ویژگی‌های بالینی زخم قرنیه شامل محل و اندازه ارتشاح به میلی‌متر مربع، عمق زخم، وجود دسماتوسل یا سوراخ‌شدن قرنیه و وجود هیپوپيون مشخص شد. این اطلاعات در پرسش‌نامه‌های از قبل طراحی‌شده، درج و نمای زخم قرنیه در پرسش‌نامه رسم گردید. قبل از شروع دارو، نمونه‌برداری از زخم قرنیه در کلیه بیماران توسط فلوشیپ سگمان قدامی یا دستیار آموزش‌دیده، تحت شرایط استریل با استفاده از یک یا دو قطره تتراکاین (ساخت سینادارو) و بدون استفاده از مواد ضدعفونی‌کننده پلک‌ها، انجام شد. در صورت استفاده از آنتی‌بیوتیک قبل از مراجعه، کلیه داروها برای ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌برداری قطع می‌شد. نمونه‌برداری از عمق و لبه ناحیه فعال زخم با تیغه جراحی شماره ۱۵ استریل انجام شد و هر نمونه مستقیماً بر روی محیط‌های کشت آگار خونی، آگار شکلاتی و دو عدد آگار سابورا، تهیه‌شده با فرمول **Crown-steel** منتقل شد. سپس بر روی لام تمیز، اسمیر جهت رنگ‌آمیزی گرم، گیمسا و **KOH Mount** تهیه گردید. محیط‌های کشت بلافاصله به مرکز تحقیقات میکروبیولوژی نمازی منتقل و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و یکی از پلیت‌های آگار سابورا در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. فاصله زمانی نمونه‌برداری تا انکوباسیون، حداکثر ۵ دقیقه بود. هر پلیت کشت به سه قسمت **C** (قرنیه)، **L_۱** (کولدوساک چشم مبتلا) و **L_۲** (کولدوساک چشم دیگر) تقسیم شده بود. نمونه مربوط به کولدوساک با سواب تهیه و در محل مخصوص آن قرار

داده می‌شد. اولین ارزیابی پس از ۲۴ ساعت صورت می‌گرفت و در صورت عدم رشد باکتری، محیط‌های کشت در دمای ۳۷^o سانتی‌گراد با گازکربنیک ۵ درصد برای ۴۸ ساعت دیگر انکوبه می‌شد. محیط‌های سابورا نیز در شرایط کشت قارچ نگه‌داری شدند و در صورت رشد قارچ به مرکز تحقیقات قارچ‌شناسی بیمارستان فقیهی منتقل و نوع قارچ شناسایی گردید.

کشت‌ها در صورتی مثبت تلقی شدند که یک نوع میکروارگانیزم بر روی دو پلیت یا بیش‌تر رشد کند و رشد به صورت **confluent** در محل C اتفاق افتاده باشد. در صورت مثبت شدن کشت باکتری، آزمایش تعیین حساسیت میکروبی با روش **Kirby-Baur disc diffusion**، با استاندارد **NCCLS** و با استفاده از دیسک‌های مارک **Oxoid** برای پنج نوع آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین، افلوکساسین، آمیکاسین، جنتامیسین و سفازولین انجام شد. میزان حساسیت باکتری‌ها به سه درجه حساس (S)، مقاوم (R) و نیمه مقاوم (IR) تقسیم‌بندی گردید. در ترکیب دو دارو، مواردی که باکتری نسبت به یکی از آن‌ها مقاوم و نسبت به دیگری مقاوم یا نیمه‌مقاوم بود، مقاوم تلقی شدند و مواردی که حداقل نسبت به یک دارو حساس بودند، حساس محسوب شدند. نتایج به دست آمده از آزمایش تعیین حساسیت باکتری‌ها و سایر مشخصات مورد بررسی با نرم‌افزار **Epinfo**، نگارش ششم، تحلیل و مقایسه داده‌ها با آزمون مجذور کای یا آزمون دقیق فیشر انجام شد.

یافته‌ها

سن بیماران بین ۱ تا ۸۵ سال (میانگین ۴۸/۹ سال) و محدوده سنی بیماران با کشت مثبت باکتری، ۱۷ تا ۷۸ سال (میانگین ۵۶ سال) بود. نسبت مرد به زن در کل بیماران،

۵۷ به ۴۳ و در گروه دارای کشت باکتری مثبت، ۶۲/۵ به ۳۷/۵ بود. مدت زمان بیماری قبل از مراجعه به بیمارستان در کل بیماران، ۱-۳۰ روز (میانگین ۱۰/۴ روز) و در گروه دارای کشت مثبت باکتریایی، ۱-۳۰ روز (میانگین ۱۰/۲ روز) بود.

از بین ۱۰۰ چشم مورد مطالعه، ۴۰ نمونه کشت مثبت باکتری و ۱۶ نمونه (۱۶ درصد) کشت مثبت قارچ داشتند. از بیماران دارای کشت مثبت باکتری، ۴۷/۵ درصد مبتلا به بلفاریت و ۴۵ درصد دچار خشکی چشم بودند. در بیماران دارای کشت مثبت، در ۲۰ درصد موارد، سابقه ضربه نافذ به چشم وجود داشت که در ۷/۵ درصد آنان، جسم خارجی در قرنیه وجود داشته است. ده درصد از این بیماران دچار مشکلات آناتومی در پلک (تریکیاز، آنتروپیون یا اکتروپیون) و ۵ درصد دچار بیماری سیستمیک بودند (دیابت و نارسایی کلیوی). پنج درصد بیماران از لنز تماسی استفاده می‌کردند. در ۸۳ درصد از کل بیماران و ۷۵ درصد از بیماران دارای کشت باکتریال مثبت، پیش از این، درمان با قطره‌های مختلف آنتی‌بیوتیک چشمی صورت گرفته بود. چون اغلب بیماران اطلاعات دقیقی از نوع داروهای مصرف‌شده قبلی نمی‌دادند آمار قطعی در این مورد به دست نیامد. اندازه ارتشاح به میلی‌متر مربع، در ۵۱ درصد کم‌تر از ۴، ۳۴ درصد بین ۷-۴ و ۱۵ درصد ۷ یا بیش‌تر بود. در گروه با کشت مثبت باکتریایی، در ۲۵ درصد موارد هیپوپيون، ۷/۵ درصد سوراخ قرنیه و ۱۲/۵ درصد دسماتوسل وجود داشت. نوع فراوانی ارگانیزم‌های جداشده از نمونه‌های قرنیه در جداول ۱ و ۲ آورده شده‌اند. شایع‌ترین باکتری‌ها، استافیلوکوک کواگولاز منفی (۴۵ درصد) و پseudomonas (۲۵ درصد) بودند.

نوع قارچ	تعداد
آسپرئیلوس	۷
فوزاریوم	۳
هیف‌های استریل	۲
کاندیدا	۱
رودوترولا	۱
Drechslera	۱

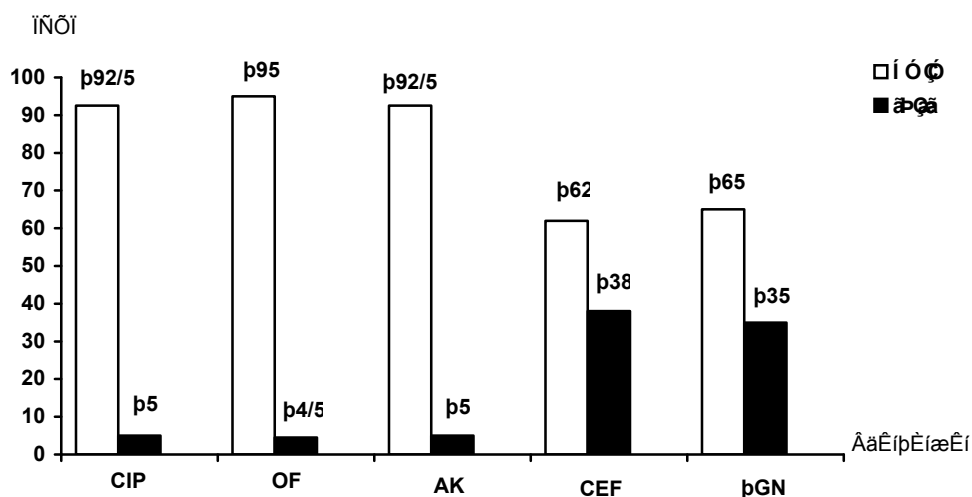
نتایج به دست آمده از آزمایش تعیین حساسیت باکتریایی نسبت به ۵ نوع آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین، افلوکساسین، آمیکاسین، جنتامایسین و سفازولین هر یک به تنهایی و همچنین مقایسه سیپروفلوکساسین با ترکیب سفازولین و جنتامایسین به ترتیب در نمودار ۱ و ۲ آمده‌اند. البته از آنجا که دیسک ترکیبی این دو دارو ساخته نشده است، نتایج ذکر شده با عنوان سفازولین + جنتامایسین از نتایج آزمایش هر یک از دو دارو به تنهایی استخراج شده است.

جدول ۱- انواع باکتری‌های جدا شده در ۴۰ بیمار

نوع میکروب	تعداد	درصد
استافیلوکوک کوآگولاز منفی	۱۸	۴۵
پسودوموناس	۱۰	۲۵
استافیلوکوک طلایی	۳	۷٫۵
پنوموکوک	۲	۵
اشریشیا کولی	۲	۵
آسیتو باکتر	۲	۵
استافیلوکوک ویریدنس	۱	۲٫۵
پروتئوس	۱	۲٫۵
دیفتریوید	۱	۲٫۵
جمع	۴۰	۱۰۰

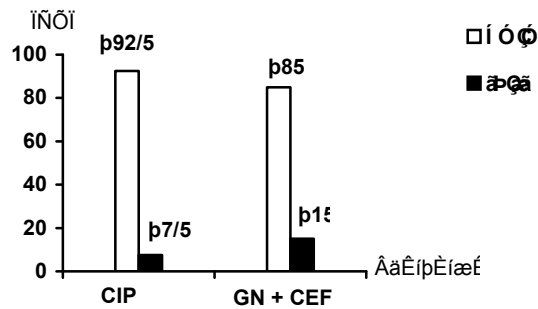
جدول ۲- انواع قارچ‌های جدا شده از ۱۶ بیمار مبتلا

به زخم قرنیه



CIP: سیپروفلوکساسین، OF: افلوکساسین، AK: آمیکاسین، CEF: سفازولین، GN: جنتاماسین

نمودار ۱- نتایج آزمایش حساسیت باکتری‌های جدا شده از چشم‌های مبتلا به زخم قرنیه



CIP: سیپروفلوکساسین، CEF: سفازولین، GN: جنتاماسین
 * مقاوم در مورد GN+CEF؛ به موارد مقاوم به هر دو یا مقاوم به یکی و نیمه‌مقاوم به دیگری، اطلاق شد.
 ** حساس در مورد GN+CEF؛ به موارد حساس به حداقل یکی از داروها اطلاق شد.

نمودار ۲- میزان حساسیت باکتری‌های عامل زخم قرنیه نسبت به سیپروفلوکساسین در مقایسه با سفازولین + جنتاماسین

باکتری‌ها به آن‌ها حساس بودند، تفاوت آماری معنی‌داری دیده نشد. مقایسه بین هر یک از دو داروی سفازولین یا جنتاماسین با سه داروی قبلی حاکی از وجود اختلاف آماری معنی‌دار بود ($P < 0.001$) به طوری که حساسیت باکتری‌ها نسبت به این دو دارو به میزان قابل توجهی از ۳ داروی سیپروفلوکساسین، افلوکساسین یا آمیکاسین کم‌تر بود. در مقایسه جنتاماسین + سفازولین با سه داروی دیگر، اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت ($P = 0.48$).

در مورد سفازولین + جنتاماسین، ۴۲.۵ درصد از باکتری‌ها به هر دو دارو حساس بودند و ۵ درصد نسبت به یکی از این دو دارو حساس و نسبت به دیگری مقاوم یا نیمه‌مقاوم بودند (S+R). با کافی دانستن حساسیت نسبت به یکی از این دو دارو برای رسیدن به پاسخ درمانی و قرار دادن آن‌ها در گروه حساس، در مجموع ۸۵ درصد باکتری‌های نسبت به این ترکیب حساس و ۵ درصد مقاوم بودند. در مقایسه بین سیپروفلوکساسین، افلوکساسین و آمیکاسین که به ترتیب ۹۲.۵، ۹۵ و ۹۲.۵ درصد از

جنتامایسین + سفازولین با هر یک از سه آنتی‌بیوتیک دیگر از نظر آماری معنی‌داری بود ($P < 0,0001$). همچنین فراوانی بالایی از مقاومت کلیه داروهای مورد مطالعه در مورد دو باکتری استرپتوکوک پنومونیه و استرپتوکوک ویریدانس مشاهده گردید (جدول ۳). قابل ذکر است که مجموع این دو باکتری، ۳ عدد بود.

سایر باکتری‌های گرم‌منفی به جز اشریشیا کولی، همگی نسبت به سفازولین مقاوم یا نیمه‌مقاوم بودند و به جز پروتئوس، همگی نسبت به جنتامایسین حساس بودند. همه باکتری‌های گرم‌منفی نسبت به سیپروفلوکساسین، افلوکساسین و آمیکاسین حساس بودند.

نتایج بررسی آزمایش حساسیت باکتریایی، برحسب نوع باکتری در جدول (۳) آمده است و نشان می‌دهد که استافیلوکوک کواگولاز منفی نسبت به فلوروکینولون‌ها کاملاً حساس بود ولی نسبت به ۳ داروی آمیکاسین، جنتامایسین و سفازولین به ترتیب ۵/۵ درصد مقاوم، ۳۳/۳ درصد مقاوم و ۵/۶ درصد نیمه‌مقاوم بود. باکتری پسودوموناس نیز به سه داروی سیپروفلوکساسین، افلوکساسین و آمیکاسین، ۱۰۰ درصد حساس بود در حالی که ۴۰ درصد نسبت به جنتامایسین، ۱۰۰ درصد نسبت به سفازولین و ۴۰ درصد نسبت به هر دو دارو مقاوم بود. تفاوت میزان مقاومت پسودوموناس نسبت به

جدول ۳- نتایج تعیین حساسیت باکتریایی برحسب نوع باکتری در بیماران مبتلا به زخم قریه

آنتی‌بیوتیک	سیپروفلوکسا	افلوکساسین	آمیکاسین	جنتامایسین	سفازولین	جنتامایسین + سفازولین
باکتری: وضعیت (درصد)	سین					
استاف اپیدرمیدیس: حساس	۱۰۰	۱۰۰	-	۷۶,۷	-	۹۴,۵
نیمه‌مقاوم	۰	۰	-	-	۵,۶	-
مقاوم	۰	۰	۵,۶	۲۳,۳	-	۵,۵
پسودوموناس: حساس	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۶۰	۰	-
نیمه‌مقاوم	۰	۰	۰	۲۰	۰	-
مقاوم	۰	۰	۰	۲۰	۱۰۰	۴۰
استاف طلایی: حساس	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
نیمه‌مقاوم	۰	۰	۰	۰	۰	۰
مقاوم	۰	۰	۰	۰	۰	۰

۱۰۰	۱۰۰	۰	-	-	۰	استرپ پنومونی: حساس
۰	۰	۰	-	-	۱۰۰	
۰	۰	۱۰۰	۵۰	۵۰	۰	نیمه مقاوم
						مقاوم
۰	۰	۰	۰	۰	۰	استرپ ویریدنس: حساس
۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	
۱۰۰	۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	نیمه مقاوم
						مقاوم
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	اشریشیا کولی: حساس
۰	۰	۰	۰	۰	۰	
۰	۰	۰	۰	۰	۰	نیمه مقاوم
						مقاوم
۱۰۰	۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	آسیتوباکتر: حساس
۰	۰	۰	۰	۰	۰	
۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	نیمه مقاوم
						مقاوم
۰	۰	۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	پروتیوس: حساس
۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	
۱۰۰	۰	۱۰۰	۰	۰	۰	نیمه مقاوم
						مقاوم
۱۰۰	۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	دیفتروئید: حساس
۰	۰	۰	۰	۰	۰	
۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	نیمه مقاوم
						مقاوم

استاف: استافیلوکوک، استرپ: استرپتوکوک

بحث

در مطالعه حاضر ۸۳ درصد از بیماران، قبل از مراجعه به ما تحت درمان با انواع قطره‌های آنتی‌بیوتیک و در بعضی موارد، توام با استروئید قرار گرفته بودند. تاریخچه انجام کشت و نمونه‌برداری قبل از مراجعه به مرکز ما فقط در ۵ درصد از بیماران وجود داشت. اکثر بیماران اطلاعات دقیقی در مورد نوع و نحوه استفاده از دارو ارائه نمی‌دادند. نتایج فوق نشان می‌دهد که اکثر همکارانی که به عنوان خط اول درمانی با زخم قرنیه روبرو می‌شوند بدون گرفتن کشت و انجام آزمایش تعیین حساسیت میکروبی اقدام به تجویز دارو می‌نمایند. مقایسه این نتایج با یک مطالعه آینده‌نگر از هند، نتایج مشابهی را نشان می‌دهد.^{۱۷} در مطالعه مذکور، ۷۰ درصد از ۱۰۰ بیمار دارای زخم عفونی قرنیه، قبل از مراجعه به نویسندگان مقاله توسط چشم‌پزشکان دیگر یا مراکز درمانی مستقل تحت درمان دارویی قرار گرفته بودند و نمونه‌برداری و کشت فقط در ۶ درصد از آن‌ها انجام شده بود. در یک تحقیق از آمریکا تنها ۲۳ درصد از چشم‌پزشکان، گرفتن اسمیر و کشت را قبل از شروع درمان زخم قرنیه ضروری دانستند و ۵۷ درصد دیگر آن را تنها برای زخم‌های بزرگ لازم دانستند.^{۱۸}

فراوانی ۷۵ درصد استفاده از آنتی‌بیوتیک در بیماران دارای کشت مثبت در تحقیق حاضر می‌تواند نشانه تاثیر ناکافی آنتی‌بیوتیک‌های تجویز شده در استریل کردن زخم قرنیه باشد. این مساله می‌تواند به علت انتخاب غلط یا اشکال در تجویز یا مصرف آنتی‌بیوتیک اولیه باشد. به طور کلی اشکال در تجویز صحیح آنتی‌بیوتیک قبل از انجام کشت می‌تواند باعث مسایلی از قبیل ازدیاد خطر مقاومت میکروبی، ایجاد تغییرات گول‌زننده در نمای بالینی زخم به

دلیل سمیت دارو و لزوم قطع دارو برای مدت‌زمانی قبل از انجام کشت شود که همه این‌ها باعث ایجاد اشکال و وقفه در مسیر تشخیص و درمان بیماری می‌گردند.

تحقیقات نشان داده است که بعد از شروع داروهای اولیه، چنانچه نتایج محیط آزمایشگاهی نشان‌دهنده مقاومت باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک تجویز شده باشند؛ تعویض دارو فقط باید در شرایطی انجام شود که زخم قرنیه از نظر بالینی به درمان پاسخ نداده باشد.^{۱۹} بنابراین انجام کشت و آزمایش تعیین حساسیت میکروبی، برای تعویض آنتی‌بیوتیک اولیه در موارد عدم پاسخ بالینی به درمان مورد لزوم است.

از نظر روش تعیین حساسیت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، در تحقیق حاضر روش **Kirby-Baur Disc Diffusion** با استاندارد NCCLS و با استفاده از دیسک‌های استاندارد به کار گرفته شد. در تحقیقات دیگری این روش با روش استاندارد تعیین MIC به روش **broth dilution** مقایسه شد که هر دو روش نتایج مشابهی را نشان دادند.^{۲۰} بنابراین دقت این روش در تعیین حساسیت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک، کاملاً شناخته شده و مورد قبول است و این روش در تحقیقات دیگر نیز استفاده شده است.^{۱۸،۲۰،۲۱} نکته قابل توجه این‌که غلظت استاندارد دارو در این دیسک‌ها، براساس سطح دارو در سرم پس از تجویز سیستمیک می‌باشد. غلظت و تاثیر داروی تجویز شده به صورت موضعی در محیط زنده با محیط آزمایشگاهی متفاوت است.^{۲۱-۲۴} سطح بافتی دارو پس از تجویز موضعی در چشم تحت تاثیر عواملی مانند غلظت دارو، فاصله زمانی ریختن قطره، میزان نفوذ دارو به اپی‌تلیوم و استرومای قرنیه و میزان اتصال به پروتئین‌های

استروما می‌باشد؛ به همین دلیل پس از شروع دارو، پاسخ بالینی را ارجح بر نتیجه آزمایش تعیین حساسیت می‌دانند. از نظر عوامل زمینه‌ای ابتلا به زخم قرنیه، این عوامل در بیماران ما به ترتیب فراوانی شامل بلفاریت، خشکی چشم، ضربه، اشکالات آناتومیک پلک، جسم خارجی در قرنیه و استفاده از لنز تماسی بوده است. به جز پایین‌تر بودن فراوانی استفاده از لنز تماسی در بیماران ما، سایر عوامل زمینه‌ای مشابه تحقیقات دیگر بودند^{۱۷، ۱۸، ۲۴}.

در تحقیق مشابهی از هند، ۱۳ مورد از ۸۸ مورد زخم قرنیه (۴/۶ درصد) ناشی از کراتیت قارچی بوده‌اند^{۱۷} که مشابه این میزان در تحقیق حاضر (۶ درصد) بوده است. با توجه به اینکه بالاترین میزان کراتیت قارچی در دنیا از کشور هند ارابه شده است^{۲۵}، این مساله لزوم هشاری و توجه بیشتر نسبت به کراتیت قارچی را در منطقه ما مطرح می‌نماید. شایع‌ترین باکتری در بیماران ما استافیلوکوک کوآگولاز منفی (۴۵ درصد) و پس از آن پseudomonas (۲۵ درصد) بوده‌اند. این آمار نیز مشابه برخی تحقیقات قبلی است^{۱۹، ۱۷، ۲۶}. در مطالعه Vajpyee و همکاران، استافیلوکوک کوآگولازمنفی ۳۳/۸ درصد و پseudomonas ۱۵/۴ درصد بوده‌اند^{۱۷}. در مطالعه دکتر فاضل و همکاران، استافیلوکوک کوآگولازمنفی ۴۰/۸ درصد و پseudomonas ۶/۳ درصد گزارش شده است^۸. استافیلوکوک هنوز شایع‌ترین عامل زخم باکتریایی قرنیه است^{۲۶، ۲۱}. اخیراً گونه‌های Multiresistant از استافیلوکوک کوآگولازمنفی گزارش شده‌اند^{۲۷}. پseudomonas نیز که از پاتوژن‌های قوی و خطرناک در زخم قرنیه به شمار می‌رود در مطالعات اخیر از سایر کشورها، میزان قابل توجهی از مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین را نشان داده است^{۱۴، ۱۰، ۹، ۳، ۲، ۱۵}. در مطالعه ما استافیلوکوک‌ها

(کوآگولازمنفی و طلائی)، ۱۰۰ درصد نسبت به فلوروکیولون‌ها حساس بودند و ۳۳/۳ درصد از استافیلوکوک‌های کوآگولازمنفی نسبت به جنتامایسین و ۵/۶ درصدشان نسبت به یکی از این دو داروی ترکیب جنتامایسین + سفازولین مقاوم بودند ولی هیچ‌کدام نسبت به هر دو دارو به طور توأم، مقاوم نبودند. بنابراین تفاوت معنی‌داری بین این ترکیب و سیپروفلوکساسین وجود ندارد. پseudomonas در مطالعه ما، ۱۰۰ درصد نسبت به سیپروفلوکساسین و افلوکساسین حساس بود در حالی که نسبت به جنتامایسین، ۲۰ درصد کاملاً مقاوم و ۲۰ درصد نیمه‌مقاوم و نسبت به سفازولین، ۱۰۰ درصد مقاوم بود. همان‌طور که ذکر شد به دلیل تفاوت در پاسخ باکتری به دارو در محیط آزمایشگاهی و محیط زنده، انجام تحقیقات محیط زنده بر روی مدل حیوانی با ایجاد زخم قرنیه با استفاده از پseudomonas‌های جدا شده از زخم قرنیه بیماران، جهت تعیین مقاومت میکروبی پseudomonas به جنتامایسین پیشنهاد می‌شود. در مطالعه‌ای از هندوستان، ۵/۶ درصد از پseudomonas‌های جدا شده از زخم قرنیه، در محیط آزمایشگاهی نسبت به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند^{۱۱}. لازم به ذکر است که مونوتراپی با سیپروفلوکساسین در بسیاری از مراکز درمانی هند به صورت درمان اولیه زخم عفونی قرنیه انجام می‌شود^۲ و نیز این دارو به طور وسیعی در درمان اسهال به صورت خوراکی تجویز می‌گردد^{۲۲}.

موارد عدم موفقیت فلوروکیولون‌ها در درمان زخم قرنیه از سایر کشورها گزارش شده‌اند^{۲۱، ۱۵، ۱۶}. در مطالعه ما خوشبختانه درصد بالایی از باکتری‌ها نسبت به فلوروکیولون‌ها حساس بودند. سیپروفلوکساسین، افلوکساسین و نوروفلوکساسین سه داروی نسل اول

فلوروکینولون‌ها می‌باشند که نوروفلوکسازین به دلیل سمیت بالا در چشم، مورد استفاده قرار نمی‌گیرد^{۲۱}. مقایسه سیپروفلوکسازین و افلوکسازین در تحقیق ما اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. در دو مطالعه در محیط آزمایشگاهی، افلوکسازین نسبت به سیپروفلوکسازین اندکی موثرتر و سرعت باکتری‌کشی آن بیش‌تر بوده است^{۲۰،۲۷}. در مطالعه دیگری تاثیر سیپروفلوکسازین بر روی باکتری‌های گرم‌منفی در محیط آزمایشگاهی، اندکی بهتر از افلوکسازین بود اما افلوکسازین از نفوذ و غلظت بالاتری در بافت قرنیه برخوردار بوده است^{۲۱}. داروی نسل دوم فلوروکینولون‌ها، لووفلوکسازین (Levofloxacin) است که تاثیر آن بر روی باکتری‌های گرم‌مثبت بهتر از دو داروی قبلی بوده است^{۲۲،۲۸}.

پژوهش‌ها نشان داده‌اند که مقاوم‌ترین باکتری‌ها نسبت به سیپروفلوکسازین و افلوکسازین، استرپتوکوک‌ها و پسودوموناس‌های غیرآیروئینوزا بوده‌اند. استرپتوکوک پنومونیا یک پاتوژن قوی زخم قرنیه به ویژه در کشورهای در حال توسعه به شمار می‌رود^{۲۱}. در مطالعه ما استرپتوکوک پنومونیا و استرپتوکوک ویریدانس نسبت به اغلب داروها مقاوم یا نیمه‌مقاوم بودند.

پژوهشی تاثیر بهتر لووفلوکسازین را بر روی استرپتوکوک پنومونیا، نسبت به سایر فلوروکینولون‌ها نشان داده است^{۲۱}. با توجه به وجود مقاومت میکروبی بالا در گونه‌های استرپتوکوک، انجام تحقیقات بر روی مدل حیوانی و کارآزمایی‌های بالینی در مورد این نوع باکتری‌ها پیشنهاد می‌شود.

مطالعه دیگری افزایش درصد استافیلوکوک‌های طلایی مقاوم به سیپروفلوکسازین را نشان داده است که ثابت

می‌کند مقدار ناکافی دارو یا کم‌کردن بی‌موقع دارو، تاثیر بدتری نسبت به قطع دارو دارد^{۲۹}.

در مطالعه ما خوشبختانه میزان مقاومت باکتریایی نسبت به سیپروفلوکسازین پایین بود و این دارو همچنان داروی بسیار موثری در درمان کراتیت باکتریایی بود. افلوکسازین با این‌که وارد بازار دارویی ایران نشده اما مقاومت میکروبی نسبت به آن از نظر آماری مشابه سیپروفلوکسازین بوده است.

تعداد نمونه مورد بررسی، در مقایسه با مطالعات مشابه، منطقی و قابل قبول به نظر می‌رسد^{۲۸،۳۰}. از نظر سن، بیماران ما در طیف وسیعی (بین ۱ تا ۸۵ سال) قرار داشتند اما میانگین سنی آن‌ها مشابه بعضی تحقیقات دیگر بوده است^۲. از نظر توزیع جنس بیماران، ۵۷ درصد مرد و بقیه زن بودند و این میزان قابل قیاس با برخی تحقیقات مشابه می‌باشد^{۱۸،۳۱}. از نظر روش نمونه‌برداری از زخم، در پژوهش‌های مشابه نیز از تیغه جراحی استریل شماره ۱۵ استفاده شد^{۱۰،۳۰}.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه، یادآوری نکات زیر ضروری به نظر می‌رسد:

۱. نمونه‌برداری جهت اسمیر و کشت قبل از شروع درمان آنتی‌بیوتیکی زخم قرنیه بسیار ضروری است. نمونه‌برداری باید توسط چشم‌پزشک و از ناحیه فعال در لبه و عمق زخم تهیه و مستقیماً به محیط کشت منتقل شود.

۲. در صورت عدم پاسخ بالینی به درمان شروع شده، داروی مناسب‌تر براساس {آزمایش تعیین حساسیت باکتریایی شروع شود.

۳. با توجه به میزان بالای کراتیت قارچی، احتمال این بیماری را در نظر داشته باشیم. نگهداری پلیت‌های کشت در محیط مناسب قارچ به مدت طولانی‌تر و انجام رنگ‌آمیزی گیمسا و KOH و نمونه‌برداری از قرنیه در موارد مشکوک در شرایط فعلی در دسترسند و راهگشا خواهند بود.

۴. در این مطالعه در محیط آزمایشگاهی، تفاوت معنی‌داری از نظر مقاومت به اکثر باکتری‌ها بین سیپروفلوکساسین ۰٫۳ درصد با ترکیب جنتامایسین + سفازولین مشاهده نشد. گرچه داروهای جنتامایسین و سفازولین هر یک به تنهایی برای شروع درمان زخم قرنیه مناسب نیستند؛ این دو دارو به صورت توأم، به جز در مواردی که ذکر خواهد شد، برای شروع درمان قابل قبول می‌باشند.

۵. درصد بالای مقاومت پseudomonasها در محیط آزمایشگاهی نسبت به جنتامایسین + سفازولین، قابل اهمیت است. تا انجام و روشن شدن نتایج تحقیقات محیط زنده، پیشنهاد می‌شود که در صورت مشاهده باسیل گرم‌منفی در اسمیر اولیه و شک بالینی به pseudomonas، داروی سیپروفلوکساسین با ترکیب سفازولین + آمیکاسین برای شروع درمان در نظر گرفته شود.

۶. با توجه به مشاهده گونه‌های **multiresistant** استرپتوکوک پنومونیا و استرپتوکوک ویریدانس، انجام

تحقیقات محیط زنده برای روشن شدن بهتر میزان مقاومت این باکتری‌ها پیشنهاد می‌شود. در صورت تایید این موضوع در تحقیقات محیط زنده، داروی لووفلوکساسین برای درمان این باکتری‌ها پیشنهاد می‌شود.

۷. با توجه به پایین بودن میزان مقاومت میکروبی نسبت به سیپروفلوکساسین در منطقه ما، این دارو هنوز داروی موثری برای درمان زخم قرنیه می‌باشد. دقت در تجویز صحیح و خودداری از تجویز بی‌رویه و نابجای این دارو برای جلوگیری از ایجاد گونه‌های مقاوم باکتریایی درخور توجه و اهمیت است.

سپاسگزاری

از محبت‌های بی‌دریغ استاد ارجمند جناب آقای دکتر عبدالوهاب البرزی، رییس محترم مرکز تحقیقات بیمارستان نمازی، آقایان کلانی و نصیری و سرکار خانم بدیعی، کارشناسان ارشد میکروبی‌شناسی و قارچ‌شناسی که در انجام این تحقیق ما را یاری کردند و نیز از جناب آقای دکتر علی‌اکبر سرافراز، متخصص آمار زیستی، برای رهنمودها و یاری‌هایشان و سرکار خانم یزدانفر کارشناس مرکز تحقیقات چشم‌پزشکی پوستچی، کمال تشکر را داریم.

منابع

1- American academy of Ophthalmology.
Clinical aspects of infections diseases of

the eyelids, conjunctiva, cornea and
sclera. In: Basic and clinical science

- course: External disease and cornea. USA 1998-99:134-180.
- 2- Kunimoto DY, Sharma S, Rao GN. In vitro susceptibility of bacterial keratitis pathogens to ciprofloxacin. *Ophthalmology* 1999;106:80-85.
 - 3- Leibowitz HM. Clinical evaluation of ciprofloxacin 0.3% ophthalmic solution for treatment of bacterial keratitis. *Am J Ophthalmol* 1991;112:34-74.
 - 4- Wilhelmus KR, Hydnik RA, Caldwell DR, Abshire RL, Folkens AT, Godio LB. 0.3% ciprofloxacin ophthalmic ointment in the treatment of bacterial keratitis. *Arch Ophthalmol* 1993;111:1210-1218.
 - 5- O'brein T, Manique MG, Maureen G, Fink N, Alfaro E, McDonnel P. Efficacy of ofloxacin vs cefazolin and tobramycin in therapy of bacterial keratitis. *Arch Ophthalmol* 1995;113:1257-1265.
 - 6- Hynduik RA, Eiferman RA, Caldwell DR, Rosenwasser GD, Santos CI, Kortz HR. Comparison of ciprofloxacin ophthalmic solution 0.3% to fortified tobramycin-cefazolin in treating bacterial corneal ulcers. *Ophthalmology* 1996;103:1854-1863.
- ۷- کریمیان فرید، جوادی محمدعلی، بابایی محمود، عین‌الهی بهرام، زارع محمد، دباغ عالی نسب نصرت و همکاران. مقایسه تاثیر قطره سیپروفلوکساسین ۰/۳ درصد با درمان استاندارد (قطره سفازولین و جنتامایسین) در درمان زخم قرنیه باکتریایی. مجله بینا ۱۳۷۸؛ سال ۴، شماره ۳: ۲۴۱-۲۳۵.
- ۸- فاضل فرهاد، رمضانزاده محسن. مقایسه اثر درمانی قطره سیپروفلوکساسین با استفاده توام از قطره‌های تقویت‌شده سفازولین-جنتامایسین در درمان زخم قرنیه باکتریایی. مجله بینا ۱۳۷۸؛ سال ۴، شماره ۳: ۲۳۰-۲۳۴.
- 9- Tsai AC, Tseng MC, Chang SE. Clinical evaluation of ciprofloxacin ophthalmic solution in treatment of refractory bacterial keratitis. *J Formers Med. Assoc* 1995;84:760-764.
 - 10- Grag P, Sharma S, Rao GN. Ciprofloxacin-resistant pseudomonas keratitis. *Ophthalmology* 1999;106:1319-1323.
 - 11- Goldstein MH, Rowalski RP, Gordon YL. Emerging flouroquinolon resistance in bacterial keratitis. *Ophthalmology* 1999;106:1313-1318.
 - 12- Knauf HP, Silvany R, Southern PM, Risser RC, Wilson SE. Susceptibility of corneal conjunctival pathogens to ciprofloxacin. *Cornea* 1996;15:66-71.
 - 13- Bower KS, Koalski RP, Gordon YJ. Flouroquinolones in the treatment of bacterial keratitis. *Am J Ophthalmol* 1996;121:712-715.
 - 14- Snyder MB, Katz HR. Ciprofloxacin-resistant bacterial keratitis [letter]. *Am J Ophthalmol* 1992;114:336-338.
 - 15- Maffett O'Day DM. Ciprofloxacin-resistant bacterial keratitis [letter]. *Am J Ophthalmol* 1993;115:545-546.
- ۱۶- جوادی محمد علی. بحث. مجله بینا ۱۳۷۸؛ سال ۴، شماره ۳: ۲۴۲.
- 17- Vajpyee RB, Dada Tanuj, et al. Study of the first contact management profile of cases of infectious keratitis: A Hospital Based study. *Cornea* 2000;19:52-56.
 - 18- Schuefer F, Bruttin O, Zografos L, Guex-Crosier Y. Bacterial keratitis: A prospective clinical and microbiological study. *Br J Ophthalmol* 2001;85:842-847.

- 19-Kowal V, Levery S, Laibson P, Rapuano Ch, Cohen E. Use of routine antibiotic sensitivity testing for the management of corneal ulcers. *Arch Ophthalmol* 1997;115:162-165.
- 20-Graves A, Henry M, O'Brain T, Hwang D, Vanbushrik A, Trousdale M, et al. In vitro susceptibility of bacterial corneal isolates to flouroquinolones. *Cornea* 2001;20:301-305.
- 21-Baum J, Braza M. The evaluation of antibiotic therapy for conjunctivitis and keratitis. *Cornea* 2000;19:659-672.
- 22-Kowalski RP, Karenchak LM, Gordon YJ. Comparison of ciprofloxacin and ofloxacin using human corneal susceptibility level. *Cornea* 1998;17:282-287.
- 23-Ormerode LD, Heseltine PN, Alfonso SE. Gentamicin-resistant pseudomonas infectoins: Rationale for a redefinition of ophthalmic antimicrobial sensitivities. *Cornea* 1989;8:195-199.
- 24-Baum JL. Antibiotic use in ophthalmology. In: Duane T, eds. *Clinical opphthalmology*. Philadelphia: Lipincott 1979:1-20.
- 25-Grag P, Gophinathan U, Choudharg K. Keratomycosis: Clinical and microbiologic experience with dematiaceous fungi. *Ophthalmology* 2000;107:574-580.
- 26-MacDonnel PJ, Nobe J, Gaurdman WJ, Lee P, Aiello A, Trousdale M. Community care of corneal ulcers. *Am J Ophthalmol* 1992;114:531-538.
- 27-Prajna N, Vankatesh M, George, Celin DM, Selvaraj LU, Kennett L. Bacteriologic and clinical efficacy of ofloxacin 0.3% versus ciprofloxacin 0.3% ophthalmic solutions in treatment of patients with culture positive bacterial keratitis. *Cornea* 2001;20:175-178.
- ۲۸-جوادی محمدعلی، همتی رضا، مهشید محمدی ملیحه، فارسی عاطفه، کریمیان فرید، عین‌الهی بهرام و همکاران. نتایج بررسی ۲۳ مورد کراتیت قارچی در مرکز پزشکی شهید لبافی‌نژاد. مجله بینا ۱۳۷۵؛ سال ۱، شماره ۳: ۵۴-۳۸.
- 29-Pinna A, Zanetti S, Sotgiu M, Sechi LA, Fadda G, Corta F. Identification and antibiotic susceptibility of coagulase negative staphylococci isolated in corneal/external infection. *Br J Ophthalmol* 1999;83:771-773.
- 30-Bennet HGB, Hay J, Kirkness CM, Devsonshire P. Antimicrobial management of presumed microbial keratitis: Guidelines for treatment of central and peripheral ulcers. *Br J Ophthalmol* 1998;82:137-145.
- 31-Craz OA, Sabir SM, Capo H. Microbial keratitis in childhood. *Ophthalmology* 1993;115:471-477.

