

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
سال سی و پنجم (۱۳۸۰)، شماره ۵۱، صفحه ۵

مطالعه باکتریهای هوازی جدا شده از عفونتهای گوش خارجی و تعیین حساسیت آنها

دکتر محمدتقی اخی^۱ دکتر عطاء... احمدیان^۲ دکتر محمدنژاد کاظم^۳
رشید رمضانزاده^۴

خلاصه

زمینه و اهداف: اوتیت خارجی که به نامهای مختلف در تمام دنیا شناخته شده است بیماری دردناکی است که گاهی با تهدید زندگی شخص مبتلا همراه می‌باشد. علاوه بر انسان سایر پستانداران نیز به این نوع عفونت مبتلا می‌شوند. به دست آوردن اطلاعات نسبتاً کافی از عاملین هوازی اوتیت خارجی و تعیین حساسیت آنها نسبت به آنتی‌بیوتیکها می‌تواند در درمان این بیماران مؤثر باشد.

روش بررسی: نمونه حاصل از ۷۵ بیمار مبتلا به اوتیت خارجی با روشهای میکروسکوپی و کشتهای هوازی تحت مطالعه قرار گرفتند.

یافته‌ها: از کل ۷۹ ارگانیزم جدا شده ۶۵ مورد را باکتریها و ۱۴ مورد دیگر را قارچهای مخمری و میسلیوم‌دار تشکیل دادند. در میان باکتریهای جدا شده سودوموناسها با ۲۵ مورد (۳۱/۶۵٪) و سویه‌های مختلف انتروباکتریاسه با ۱۹ مورد (۲۴/۰۸٪) و استافیلوکوکهای اورئوس با ۱۳ مورد (۱۶/۴۵٪) به ترتیب رتبه‌های اول تا سوم را به خود اختصاص دادند.

سفالوسپورینهای نسل سوم بجز در موارد استثنائی صد درصد بر روی انتروباکتریاسه‌ها مؤثر می‌باشند. سفنازیدیم یکی از سفالوسپورینهای نسل سوم و سیپروفلوکساسین و نورفلوکساسین از کینولونهای جدید بر روی کلیه سودوموناسهای جدا شده مؤثر بودند. کاربنی سیلین بر روی سودوموناسها و پنی سیلین G بر روی استافیلوکوکهای اورئوس بی‌اثر بودند. هفت سویه (۵۳/۸٪) از استافیلوکوکهای اورئوس و هشت سویه (۳۲٪) از سودوموناسهای جدا شده تولید پنی‌سیلیناز کردند.

نتیجه‌گیری: باکتریهای هوازی و هوازی اختیاری و در میان آنها سودوموناسها و انتروباکتریاسه‌ها جزو اصلی تری عاملین اوتیت خارجی بوده و به ترتیب نسبت به کینولونهای جدید و سفالوسپورینهای نسل سوم حساس می‌باشند. کاربنی سیلین اثر خود را بر روی سودوموناسها از دست داده است.

کلید واژه‌ها: اوتیت خارجی، باکتریهای هوازی، سفالوسپورینها، کینولونها

مقدمه

نمی‌شود مادر بیماران ضعیف شده می‌تواند تهدید کننده زندگی باشد (۱). اوتیت خارجی در میان پستانداران دیگر نیز با علتی مشابه میکروبهای گوش خارجی انسان شایع می‌باشد (۲). فلور طبیعی گوش خارجی اغلب شامل باکتریهای گرم مثبت مانند استافیلوکوکهای گواگولاز منفی و دیفتروئیدهاست. استافیلوکوکس

اوتیت خارجی التهاب کانال گوش خارجی است (۱) که به نامهای ریشه جنگل، گوش سنگاپور، گوش دویی و گوش شناگران نیز خوانده می‌شود (۲). اگر چه در اکثر موارد جدی گرفته

۱- استادیار میکروبیشناسی گروه پاتوبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز- نویسنده رابط

۲- استاد میکروبیشناسی گروه پاتوبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۳- استادیار گروه گوش و حلق و بینی پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۴- کارشناس ارشد میکروبیشناسی

میلی‌لیتر از سوبسترای فوق را در یک چاهک میکروپلیت یا در یک لوله کوچک ریخته یک سوسپانسیون غلیظ باکتریهای کشت ۲۴ ساعته تهیه کرده و با سوبسترا مخلوط می‌کنیم به طوری که کدورت آن از لوله چهار مک فارلند بیشتر باشد، در صورت تولید بتالاکتاماز محلول در عرض ۱۵ دقیقه رنگ زرد پیدا می‌کند. در اکثر موارد در عرض چند دقیقه تغییر رنگ حاصل می‌شود (۹،۸،۷).

نتایج

در این بررسی تعداد ۷۵ بیمار مبتلا به اوتیت خارجی شامل ۲۳ نفر مذکر (۴۴٪) و ۴۲ نفر مؤنث (۵۶٪) از نظر میکروارگانیزمهای هوازی و بی‌هوازی اختیاری تحت مطالعه قرار گرفتند. از ۷۹ سویه ایزوله شده ۱۴ مورد را قارچ مخمری شکل و میسلیم‌دار تشکیل دادند، مابقی از باکتریهای هوازی و بی‌هوازی اختیاری بودند که باتوجه به شش مورد فلور طبیعی جمعاً ۱۵ مورد باکتری پاتوژن ایزوله گردید (جدول ۱).

نتایج آنتی‌بیوگرام نشان داد که سفالوسپورینهای نسل سوم، جنتامایسین تریمتوپرین سولفامتوکسازول بر روی سویه‌های اترئوباکتریاسه جدا شده به غیر از پروتئوس میرابیلیس و سراسیا مارسنس صد درصد مؤثر بودند در حالی که سفالوتین (غیر از پروویدانسیا آکالیفاسینس و کلبسیلا اوزونه) و کار بنیسلین و آمپی سیلین روی سویه‌های جدا شده تأثیر نداشتند.

تمام ۲۵ مورد سودوموناس جدا شده در مقابل کولیستین، آمیکاسین، سیپرو فلوکساسین، نورفلوکساسین و سفنازیدیم حساسیت داشتند و همه آنها در مقابل سفازولین و کاربنیسلین مقاوم و تنها ۲۴٪ از آنها به جنتامایسین حساس بودند.

نتایج آنتی‌بیوگرام بر روی ۱۳ گونه استافیلوکوکس اورئوس جدا شده با استفاده از دیسکهای مختلف در جدول ۲ آورده شده است که نشان دهنده تأثیر صد درصد ریفامپین و وانکومایسین بر روی آنهاست. ۵۳٪ از استافیلوکوکهای اورئوس و ۳۲٪ از سودوموناسهای جدا شده آنزیم پنی‌سیلیناز تولید کردند.

اورئوس و سودوموناس اثر و جینوزا شناخته شده ترین عاملان عفونتهای گوش هستند اما سایر گرم منفی ها نیز در ایجاد این چنین عفونتها نقش بسزائی ایفا می‌کنند(۳). در یک مطالعه که توسط Benett و همکارانش در سال ۱۹۸۰ انجام شده استافیلوکوکس اورئوس به میزان ۳۴٪ و سودوموناس اثر و جینوزا ۲۲٪ و استرپتوکوکس پیورنز ۹٪ ایزوله گردیدند(۴).

برعکس در مطالعات دیگران استرپتوکوکس پیورنز عامل غیرمعمول اوتیت خارجی معرفی شده است(۳). با گذشت زمان میکروبهای پاتوژن جدا شده از نواحی مختلف بدن انسان به طرق مختلف با منشاء ژنتیکی و غیر ژنتیکی نسبت به آنتی‌بیوتیکهای رایج مقاوم شده اند. از این جهت این مطالعه سعی دارد پس از جداسازی و تعیین هویت میکروبهای پاتوژن اوتیت خارجی نسبت به تعیین حساسیت آنها در مقابل آنتی‌بیوتیکهای مختلف معمول و نیز برخی از سفالوسپورینهای نسل سوم و کینولونهای جدید اقدام نماید.

مواد و روش تحقیق

در تهیه نمونه برای کشتهای هوازی و جهت اجتناب از انتقال میکروفلورای طبیعی گوش به محیطهای کشت، ابتدا قسمت خارجی گوش توسط الکل ۷۰ درجه توسط پزشک معالج پاک شده و سپس نمونه‌های تهیه شده با سواب پنبه‌دار در بالین مریض به محیطهای مک‌کانگی و آگار خوندار و آگار شکولاته تلقیح گردیدند. پلیت حاوی مک‌کانگی در 37°C و دوپلیت دیگر در اتمسفر حاوی ۱۰-۵٪ CO_2 و در دمای 37°C انکوبه شدند. از نمونه‌های به دست آمده یک لام نیز تهیه و جهت بررسی میکروسکوپی به روش گرم رنگ آمیزی گردید. پس از ۴۸-۲۴ ساعت کلنیهای بدست آمده از طریق تستهای مختلف بیوشیمیایی تعیین هویت گردیدند(۵،۶،۷). نهایتاً تست تعیین حساسیت بر روی سویه‌های به دست آمده به روش استاندارد Kirby-Bauer و با استفاده از دیسکهای آنتی‌بیوتیکی رایج و نیز برخی از سفالوسپورینهای نسل سوم و کینولونهای جدید به عمل آمد (۶).

اندازه‌گیری بتالاکتاماز به روش سریع اسیدومتری

دو میلی لیتر از محلول ۰/۵ درصد فنل رد را به ۱۶/۶ml آب مقطر استریل اضافه کرده و مخلوط را به داخل یک آمپول حاوی 2×10^6 واحد پنی‌سیلین G که برای استفاده تزریقی تهیه شده و حاوی یک بافر سیترات است تزریق می‌کنیم مخلوط را به یک لوله منتقل کرده و محلول یک مولار سود را قطره‌قطره به آن اضافه می‌کنیم تا pH به حدود ۸/۵ برسد که این واکنش با توسعه یک رنگ بنفش و یا با اندازه‌گیری PH تأیید می‌شود. ۰/۰۵ تا ۰/۱

جدول ۱، توزیع میکروارگانیسمهای جدا شده از ۷۵ بیمار مبتلا به اوتیت خارجی (بخش میکروب شناسی دانشکده پزشکی ۷۷-۷۶)

میکروارگانیسم	تعداد	درصد
سراتیا لیکوئی فاسینس	۱	۱/۲۷
سراتیا مارسه سنس	۴	۵/۰۶
سیتروباکتر فروندی	۱	۱/۲۷
پروتئوس میرابیلیس	۵	۶/۳۳
پروتئوس پزری	۱	۱/۲۷
ادوارد سیلاهو شینه	۱	۱/۲۷
ادوارد سیلاتاردا	۱	۱/۲۷
پروویدنسیا استوارتی	۳	۳/۸۰
پروویدنسیا آکالیفاسینس	۱	۱/۲۷
کلبسیلا اوزونه	۱	۱/۲۷
استرپتوکوک گروه D	۲	۲/۵۳
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۳	۱۶/۴۵
قارچ (مخمر و میسیلیوم دار)	۱۴	۱۷/۷۰
سودوموناس ائرو جینوزا	۲۲	۲۷/۸۵
سودوموناس تستئوسترونی	۱	۱/۲۷
سودوموناس استوتزری	۲	۲/۵۳
فلور (گونه های دیفترئید استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس)	۶	۷/۵۹
جمع	۷۹	۱۰۰

جدول ۲، نتایج آنتی بیوگرام ۱۳ مورد استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از ۷۵ بیمار مبتلا به اوتیت خارجی (بخش میکروب شناسی دانشکده پزشکی ۷۷-۷۶)

آنتی بیوتیک	حساسیت		مقاومت	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
وانکوماسین	۱۳	۱۰۰	۰	۰
اریترومایسین	۹	۶۹/۲۳	۴	۳۰/۷۶
جنتامایسین	۱۲	۹۲/۳	۱	۷/۶۹
کلوگساسیلین	۲	۱۵/۳۸	۱۱	۸۴/۶۱
ریفامپین	۱۳	۱۰۰	۰	۰
تری متوپریم	۱۰	۷۶/۲ ^۰	۰	۰
سولفامتوکسازول			۱۰	۷۶/۲
تتراسایکلین	۳	۲۳/۸		
پنی سیلین	۰	۰	۱۳	۱۰۰

② بقیه موارد حساسیت متوسط داشتند

بحث

میکروبی مهمترین پروسه ای است که اغلب از تغییر فلورنرمال یعنی تغییر در استافیلوکوکهای کواگولاز منفی و دیفترئیدها ناشی می گردد.

اوتیت خارجی یک بیماری عادی است که دارای تظاهرات بالینی وسیعی از درد و اذیت تا تهدید زندگی می باشد. اتیولوژی اوتیت خارجی از چندین فاکتور پیچیده تشکیل شده است. عفونت

از کل ۷۵ بیمار مبتلا به اوتیت خارجی ۷۹ ارگانیزم جدا شد که ۶۵ مورد آن را باکتریها و ۱۴ مورد دیگر را قارچها تشکیل می دادند. سودوموناسها ۲۵ مورد (۳۱/۶۵٪)، انتروباکتریاسهها ۱۹ مورد (۲۴/۰۸٪) و استافیلوکوکهای اورئوس ۱۳ مورد (۱۶/۴۵٪) از این عفونتها جدا شدند (جدول ۱). در میان سودوموناسها سهم سودوموناس اثروجینوزا بیشتر از سایر گونه‌های سودوموناس می‌باشد. در مطالعه کلارک و همکارانش در سال ۱۹۹۷ سودوموناس اثروجینوزا، ۶۱٪ گزارش گردیده (۱۰) که حتی بیشتر از یافته‌های این مطالعه می‌باشد. در مطالعه دیگر بروک در سال ۱۹۹۲ سودوموناس اثروجینوزا را ۴۱٪ گزارش کرده که آن نیز بیشتر از مطالعه ماست (۳). مطالعه ساندستروم در سال ۱۹۹۶ نشان می‌دهد که سویه سودوموناس اثروجینوزای جدا شده از بیماران با اوتیت خارجی نسبت به سویه‌های جدا شده از عفونتهای دیگر از نظر واکنشهای بیوشیمیایی (مانند اوره آز، تولید پیوسیانین) از شدت کمتری برخوردار بود (۱۱).

در این مطالعه هیچ کشت مخلوط سودوموناس اثروجینوزا با استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده نگردید (جدول ۱) که بیانگر این می‌باشد که هر کدام از این ارگانیزمها موادی تولید می‌کنند که رشد دیگری را مانع می‌شود. در سال ۱۹۹۰ دیب نیز گزارش کرد که کشت مخلوطی از استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس اثروجینوزا به دست نیامد (۱) لذا با یافته‌های ما مطابقت دارد.

در رتبه دوم انتروباکتریاسه‌ها بعد از سودوموناسها با ۱۹ مورد (۲۴/۰۸٪) قرار دارند (جدول ۱). نتایج دیب در سال ۱۹۹۱ نشان می‌دهد که از ۲۲۶ ارگانیزم جدا شده ۲۱ مورد (۹/۲۹٪) را انتروباکتریاسه‌ها تشکیل می‌داد (۱) که در مقایسه با نتایج این مطالعه (۱۹ مورد، ۲۴/۰۸٪) خیلی کمتر است. این می‌تواند بیانگر پایین بودن بهداشت در جامعه ما باشد.

استافیلوکوکهای اورئوس جدا شده در این مطالعه ۱۳ مورد (۱۶/۴۵٪) می‌باشد (جدول ۱) اما در مطالعاتی که در سال ۱۹۹۲ در نروژ انجام شده استافیلوکوکهای اورئوس جدا شده را ۳۴٪ گزارش کرده‌اند (۷) که خیلی بیشتر از یافته‌های ما می‌باشد. در مطالعه دیگری در سال ۱۹۹۱ میزان استافیلوکوکوس اورئوس ۱۸٪ گزارش شده است (۱) که با نتایج به دست آمده در مطالعه ما همخوانی دارد. تعداد قارچهای به دست آمده از این بررسی ۱۴ مورد (۱۷/۷۰٪) می‌باشد که نسبت به مطالعه انجام شده توسط دیب در سال ۱۹۹۱ که ۱۰/۳٪ می‌باشد (۱) درصد بیشتری را نشان می‌دهد. عفونتهای قارچی در بیمارانی که قبلاً تحت درمان آنتی‌بیوتیکی قرار گرفته‌اند، بیشتر دیده می‌شود زیرا درمان باعث عوض شدن فلور نرمال گشته و موجبات رشد قارچها را فراهم می‌آورد. در مطالعه ما نیز قارچهای ایزوله شده معمولاً در بیمارانی بود که قبلاً تحت درمان آنتی‌بیوتیکی قرار گرفته بودند.

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهند که استافیلوکوکهای اورئوس نسبت به وانکومایسین، جنتامیسین،

ریفامپین و تری‌متوپریم سولفامتوکسازول حساس و نسبت به پنی‌سیلین مقاوم هستند. طبق نتایج کامپوس در سال ۱۹۹۵ استافیلوکوکهای اورئوس شدیداً به آموکسی‌سیلین به علاوه کللولونات، تری‌متوپریم سولفامتوکسازول و ریفامپین حساس بوده و صددرصد به پنی‌سیلین مقاوم بودند (۱۲) که این نتایج با یافته‌های ما مطابقت دارد سودوموناسها نسبت به سفالوسپورینهای نسل سوم حساس و نسبت به جنتامیسین ۲۴٪ حساس بودند.

در مطالعه انجام یافته در سال ۱۹۹۵ درصد حساسیت نسبت به جنتامیسین ۹۷٪ گزارش شده است (۱۳) که خیلی بیشتر از یافته‌های ماست. شاید استفاده بی‌رویه از جنتامیسین در طول سالهای گذشته در شهر ما باعث توسعه چنین مقاومتی شده است. نتایج تعیین حساسیت بر روی گونه‌های مختلف انتروباکتریاسه ایزوله شده با استفاده از دیسکهای آنتی‌بیوتیک رایج و برخی از سفالوسپورینهای نسل اول مثل سفالوتین و نسل سوم مثل سفوپرازون، سفتازیدیم، سفتریاکسون و سفتری‌زوکسیم نشان دهنده تأثیر بسیار خوب جنتامیسین، تری‌متوپریم سولفامتوکسازول، بی‌تأثیر بودن سفالوسپورین نسل اول و تأثیر صددرصد سفالوسپورینهای نسل سوم (بجز چند مورد استثناً) بر روی آنهاست.

کلیه سودوموناسهای جدا شده نسبت به نورفلوکساسین و سیپروفلوکساسین حساس بودند. فلوروکینولونهای جدید وسیع‌الطیف بوده و بر روی باکتریهای گرم منفی و گرم مثبت مؤثر می‌باشند. در مطالعه‌ای در سال ۱۹۹۴ چنین مطرح شده که سیپروفلوکساسین به علت فعالیت ضدسودوموناسی و نفوذ بالینی بهتر، مؤثرترین درمان برای اوتیت خارجی بدخیم ایجاد شده توسط سودوموناس اثروجینوزا است (۹۰) و نیز طبق گزارش زیگ و همکارانش در ۲۴ مورد بررسی شده با اوتیت خارجی با عامل اتیولوژیک سودوموناس اثروجینوزا و درمان با افلوکساسین ۸۳/۳٪ بهبود کامل به دست آمده است.

همچنین Gehanno در سال ۱۹۹۴ نشان داد که از ۸۶ بیمار با اوتیت خارجی حاصل از سودوموناس اثروجینوزا که با سیپروفلوکساسین درمان شده‌اند، ۸۳ نفر (۹۶/۴٪) بهبودی حاصل کرده‌اند (۱۴) که این یافته با نتایج به دست آمده ما در شرایط In Vitro مطابقت دارد.

هفت مورد (۵۳/۸٪) از استافیلوکوکهای اورئوس و هشت مورد (۳۲٪) از سودوموناسها پنی‌سیلیناز تولید کردند. در مطالعه‌ای در سال ۱۹۹۲ تولید پنی‌سیلیناز از ۱۹ مورد بررسی شده برای سودوموناس اثروجینوزا، ۱۸ مورد (۹۴/۲٪) و برای استافیلوکوکهای اورئوس تمام هفت مورد بررسی شده گزارش شده است (۳) که این مطالعات، تولید پنی‌سیلیناز را بیشتر از یافته‌های ما نشان می‌دهد و نشانگر پایین بودن مقاومت سویه‌های ایزوله شده در شهر ما نسبت به آنتی‌بیوتیکهای بتالاکتام می‌باشد.

References:

1. Dobb WL. Microbial aetiology of otitis externa. *J. of Infect.* 1991; 22: 233-239.
2. Dobb WL. The Microbiology of otitis externa: A review. *Saudi Med. J.* 1993; 14(3): 181-5.
3. Brook I, Frazier EH, Thompson DH. Aerobic and anaerobic microbiology of external otitis. *Clin. Infect Dis.* 1992; 15: 955-8.
4. Benth H, Brook I, Rodrigez WJ. Group beta-hemolytic Streptococcal otitis externa in an infant. *South Med. J.* 1980; 73(8): 1079-1080.
5. Rowland SS, Walsh SR, Teel LD, Carnahan AM. *Pathogenic and Clinical Microbiology: A Laboratory Manual.* First edition, London, Little, Brown and Company, 1994; P: 71-133.
6. Baron EJ, Finegold SM. *Diagnostic Microbiology.* 8th ed, Toronto Mosby co, 1990; 323-52.
7. Koletar SL. Concepts in antimicrobial therapy. In: Mahon CR, Manuselis G: *Testbook of Diagnostic Microbiology: 4th ed,* Philadelphia Saunders Co, 1995; P:50-57.
- 8- نهائی م. جلالی ع: اصول بیولوژیک و بالینی بیماریهای عفونی، درمان ضد میکروبی (ترجمہ) انتشارات کروژ تبریز، ۱۳۶۷ صفحات ۲۵-۲۹.
9. Illet HP. Antimicrobial agent. In: Joklik WK, Willet HP, Amos DB: *Zinsser Microbiology.* 20th ed, California Appleton & Lange, 1992; P: 153-188.
10. Clark BW, Brook I, Bianki D, Thompson DH. Microbiology of otitis externa. *Otolaryngol Head Neck surg.* 1997; 116: 23-25.
11. Sundstrom J, Jacobson K, Wikland EM, Ringerts S. *Pseudomonas aeruginosa* in otitis externa. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg,* 1996; 122: 833-836.
12. Compos MA. Etiology and therapy of chronic suppurative otitis. *J. Chemother,* 1995; 7(5): 427-31.
13. Dohar JE. Therapeutic implications in the treatment of aural *Pseudomonas* infections based on in vitro susceptibility patterns.
14. *Arch Otolaryngol Head Neck surg,* 1995; 121(9): 1022-5.
15. Gehanno P. Ciprofloxacin in the treatment of malignant extrnal otitis. *Chemotherapy,* 1994; 40: 35-40.