

(نامه به سردبیر)

## روش های مرسوم و مولکولی تعیین حساسیت دارویی ایزوله های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مقاوم

مسعود کیخا<sup>۱\*</sup>

بیماری سل یکی از مهم ترین بیماری های عفونی در بین انسان ها می باشد همه گیری های ایدز و ظهور سویه های مقاوم به داروی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس از مهم ترین مشکلات ریشه کنی این بیماری محسوب می شود، استفاده از تست های تعیین حساسیت دارویی نه تنها موجب تجویز رژیم دارویی صحیح و درمان مؤثر بیماران مبتلا به سل مقاوم به دارو شده، بلکه به عنوان یکی از مهم ترین راهکارها جهت شناسایی، کنترل و پیشگیری از گسترش سویه های مقاوم به داروی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در سطح جامعه می شود (۱). این مطالعه با هدف ارائه توضیحاتی در خصوص انواع روش های تعیین حساسیت دارویی سویه های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس صورت گرفت. بیماری سل یکی از مهم ترین بیماری های عفونی می باشد، گرچه این بیماری در بیشتر موارد ریه ها را درگیر می کند ولی می تواند کلیه ارگان های بدن را درگیر نماید، امروزه از هر سه نفر در جهان، یک نفر آلوده به مایکوباکتریوم توبرکلوزیس می باشد به طوریکه در هر ثانیه یک نفر جدید نیز به جمعیت افراد آلوده به باسیل سل اضافه می شود، نکته قابل تأمل اینکه ۵۰ میلیون نفر از این افراد آلوده با باسیل سل مقاوم به چند دارو (MDR-TB) می باشند (۲-۱).

**کلید واژگان:** سل، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، مقاومت آنتی بیوتیکی، روش های مولکولی.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی پزشکی.

۱- گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

\*نویسنده مسؤول:

مسعود کیخا؛ گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.  
تلفن: ۰۰۹۸۹۳۸۶۸۳۶۴۲۵

Email:  
Masoudkeikha@outlook.com

اعلام قبولی: ۱۳۹۶/۱/۲۳

دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۵/۱۰/۳۰

دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۸/۲۹

(MGIT) جایگزین سیستم BacTec460 شده، در روش پروپورشن ابتدا دو رقت استاندارد از سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس تهیه شده و به دو محیط یکی حاوی دارو و دیگری فاقد دارو تلقیح می‌کنیم سپس به ترتیب تعداد کلنی تشکیل شده از رقیق‌ترین غلظت را با تعداد کلنی رشد یافته در محیط فاقد دارو مقایسه می‌کنیم در صورتی که تعداد کلنی در محیط حاوی دارو نسبت به محیط فاقد دارو بیشتر از ۱٪ باشد نشان دهنده مقاومت ایزوله مورد نظر نسبت به داروی مورد آزمایش قرار گرفته شده می‌باشد، لازم به ذکر است پیرازینامید به عنوان یکی از داروهای خط اول، تنها در شرایط اسیدی فعال می‌باشد و تعیین حساسیت برای این دارو توسط روش‌های مرسوم نیاز به شرایطی خاص دارد (۹ و ۶۰). تعیین حساسیت دارویی ایزوله‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس با استفاده از محیط مایع و سیستم BACTEC MGIT 960 به ۲-۴ هفته زمان نیاز دارد، همچنین در روش کشت در محیط جامد این عمل ۶-۸ هفته به طول می‌انجامد، روش‌های مولکولی می‌توانند این کار را با سرعت بیشتری برای ما انجام دهند که خود به عنوان یک امتیاز تلقی می‌شود، عدم شناسایی سریع بیماران مبتلا به سل مقاوم به دارو موجب آلوده شدن سایر افراد سالم جامعه می‌شود، از جمله روش‌های مولکولی که برای تعیین مقاومت دارویی سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مورد استفاده قرار می‌گیرد می‌توانیم به روش‌های: dot blots; Real time PCR; Multiplex-allele-specific chips; PCR(MAS-PCR); Single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP); Restriction Fragment Length Polymorphism-PCR (PCR-RFLP) اشاره کرد. روش توالی‌یابی یکی از بهترین روش‌های مولکولی

امروزه استفاده بی‌رویه و تجویز نامناسب داروهای ضد سلی منجر به ظهور و گسترش سویه‌های مقاوم به داروی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس شده افراد مبتلا به سل مقاوم به دارو موجب انتشار این سویه در سطح جامعه می‌شوند، آزمایش تعیین حساسیت دارویی برای سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس یکی از مهم‌ترین راهکارها جهت شناسایی افراد مبتلا به سل مقاوم به دارو می‌باشد با شناسایی نوع مقاومت دارویی این افراد، درمان مؤثر صورت گرفته و در نتیجه از انتشار سویه‌های مقاوم به داروی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس جلوگیری می‌شود (۶-۳). جهت تعیین مقاومت دارویی گونه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس می‌توان از روش‌های فنوتیپیک و مولکولی بهره جست، لازم به ذکر است روش‌های فنوتیپیک به عنوان استاندارد طلایی شناخته شده و توصیه می‌شود روش‌های مولکولی در کنار روش‌های فنوتیپیک به کار گرفته شود، یکی از مهم‌ترین مزایای روش‌های مولکولی این است که این روش‌ها قادرند در مدت زمان کوتاهی مقاومت دارویی مورد نظر را تشخیص دهند (۸-۷). جهت تعیین حساسیت و مقاومت سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس روش‌های فنوتیپیک متنوعی از قبیل: روش غلظت مطلق، نسبت مقاومت، پروپورشن، برات ماکرودیولوشن، دیسک دیفیوژن، برات میکرودیولوشن و روش E-test به کار گرفته می‌شود، به طور معمول آزمایشگاه‌ها جهت تشخیص مقاومت به داروهای خط اول درمان سل از روش برات ماکرودیولوشن Bactec بهره می‌گیرند در حالی که برای داروهای خط دوم بیشتر از روش پروپورشن استفاده می‌شود، روش برات ماکرودیولوشن Bactec بر پایه اندازه‌گیری میزان  $C^{14}$  متابولیزه شده می‌باشد که البته امروزه سیستم Mycobacterial Growth Indicator Tube

جهت شناسایی مقاومت‌های دارویی سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس می‌باشد، ضمن اینکه روش PCR-RFLP نیز مطلوب ارزیابی شده هرچند از حساسیت بالایی برخوردار نمی‌باشد، این روش برای تشخیص جهش در کدون‌های مشخصی طراحی شده و برای افزایش حساسیت در تشخیص باید کدون‌های دیگر مرتبط با مقاومت دارویی مورد نظر را نیز بررسی کرد (۱۰-۱۲).

## منابع

- 1-Azadi D, Shojaei H. The role of the laboratory in the diagnosis of tuberculosis. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 2016 Jul 15;10(2):1-5.
- 2-Tahmasebi P, Sheikolslami FM, Farnia P, Sadeghizadeh M, Ramazanzadeh R, Kazempoor M, Masjedi M, Velayati AA, et al. Detection of Amikacin-Resistance among MDR Strains of Mycobacterium tuberculosis by Using PCR-RFLP Method. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*. 2011 Dec 15;11(4):345-53.
- 3-Jarand J, Levin A, Zhang L, Huitt G, Mitchell JD, Daley C.L, et al. Clinical and microbiologic outcomes in atients receiving treatment for Mycobacterium abscessus pulmonary disease. *Clinical Infection Disease*. 011;52(5):565-71.
- 4-Van Rie A, Warren R, Mshanga I, Jordaan AM, van der Spuy GD, Richardson M, Simpson J, Gie RP, Enarson DA, Beyers N, van Helden PD, et al. Analysis for a limited number of gene codons can predict drug resistance of Mycobacterium tuberculosis in a high-incidence community. *Journal of clinical microbiology*. 2001 Feb 1;39(2):636-41.
- 5-Calver AD, Murray M, Strauss OJ, Streicher EM, Hanekom M, Liversage T, Masibi M, Van Helden PD, Warren RM, Victor TC, et al. Emergence of increased resistance and extensively drug-resistant tuberculosis despite treatment adherence, South Africa. *Emergence*. 2010 Feb 1.
- 6-Ando H, Mitarai S, Kondo Y, Suetake T, Sekiguchi JI, Kato S, Mori T, Kirikae T, et al. Pyrazinamide resistance in multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates in Japan. *Clinical Microbiology and Infection*. 2010 Aug 1;16(8):1164-8.
- 7-Rodrigues C, Jani J, Shenai S, Thakkar P, Siddiqi S, Mehta A, et al. Drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis against second-line drugs using the Bactec MGIT 960 System. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 2008 Dec 1;12(12):1449-55.
- 8-Zamanlou S, Farajnia S, Moadab R, Akhi MT. Rapid diagnosis of Isoniazid resistant Mycobacterium Tuberculosis, isolated from East Azerbaijanian patients by PCR-RFLP method. *Pharmaceutical Sciences*. 2009 Jan 1;15:263-8.
- 9-Pfyffer GE, Bonato DA, Ebrahimzadeh A, Gross W, Hotaling J, Kornblum J, Laszlo A, Roberts G, Salfinger M, Wittwer F, Siddiqi S, et al. Multicenter laboratory validation of susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis against classical second-line and newer antimicrobial drugs by using the radiometric BACTEC 460 technique and the proportion method with solid media. *Journal of Clinical Microbiology*. 1999 Oct 1;37(10):3179-86.
- 10-Caws M, Tho DQ, Duy PM, Lan NT, Torok ME, Chau TT, Chau NV, Chinh NT, Farrar J, et al. PCR-restriction fragment length polymorphism for rapid, low-cost identification of isoniazid-resistant Mycobacterium tuberculosis. *Journal of clinical microbiology*. 2007 Jun 1;45(6):1789-93.
- 11-Bornasi H, Arjomandzadegan M, Bahrmand A, Hadizadeh Tasbiti A, Ahmadi A, Tayeboom M, et al. Comparison of PCR-RFLP and Allele Specific-PCR and sequencing in rapid diagnosis of isoniazid resistance in clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis. *ISMJ*. 2015 May 15;18(2):296-303.
- 12-Campbell PJ, Morlock GP, Sikes RD, Dalton TL, Metchock B, Starks AM, Hooks DP, Cowan LS, Plikaytis BB, Posey JE, et al. Molecular detection of mutations associated with first-and second-line drug resistance compared with conventional drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2011 May 1;55(5):2032-41.

## The Conventional and Molecular Drug Susceptibility Methods for Isolated *Mycobacterium Tuberculosis*

Masoud Keikha<sup>1\*</sup>

*I-M.Sc Student of Medical Microbiology.*

*I-Department of Medical Microbiology, Isfahan Medical School, Isfahan, Iran.*

*\*Corresponding author:*

*Masoud Keikha; Department of Medical Microbiology, Isfahan Medical School, Isfahan, Iran.  
Tel: +989386836425  
Email: masoudkeikha@outlook.com*

### Abstract

Tuberculosis is one of the most important causes of humans mortality in the worldwide; The emergence of drug-resistant *Mycobacterium Tuberculosis* strains and increasing of HIV patients make difficult control of tuberculosis. Drug susceptibility test have important role in identification patients with drug resistance TB; Synchronous application of phenotypic and molecular methods together are a best strategies for identification and prevention spread of drug resistance *Mycobacterium Tuberculosis* strains between peoples.

**Keywords:** Tuberculosis, *Mycobacterium Tuberculosis*, Antibiotic Resistance, Molecular methods.

---

► Please cite this paper as:

Masoud Keikha. The Conventional and Molecular Drug Susceptibility Methods for Isolated *Mycobacterium Tuberculosis*. *Jundishapur Sci Med J* 2017;16(1):1-4.

Received: Nov 19, 2016

Revised: Jan 19, 2017

Accepted: Apr 12, 2017