

عفونت های ثانویه باکتریایی در زخم های پوستی مشکوک به لیشرمانیوز جلدی

محمدحسن شیرازی^{۱*}، رضا رنجبر^۲، خسرو خوانساری^۳، رضا گل محمدی^۴، نورخدا صادقی فرد^۵

۱. متخصص میکروبی شناسی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی تهران.

۲. متخصص باکتری شناسی پزشکی، استادیار مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

۳. دانش آموخته دکترای داروسازی دانشکده داروسازی دانشگاه آزاد اسلامی

۴. کارشناس و محقق مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

۵. متخصص باکتری شناسی پزشکی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی ایلام

* نشانی برای مکاتبه: تهران خیابان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، گروه پاتوبیولوژی، بخش میکروبی شناسی. تلفن: ۶۶۱۱۲۳۷۹، تلفن همراه: ۰۹۱۲۳۱۳۸۶۲۹، shirazi_h2002@yahoo.com

دریافت مقاله: آذر هشتاد و پنج پذیرش برای چاپ: اردیبهشت هشتاد و شش

چکیده

سابقه و هدف: لیشرمانیوز جلدی یا سالک در کانون هیپیراندمیک ایران به عنوان یک معضل بزرگ بهداشتی مطرح است. تحقیقات قبلی نشان داده اند که در اثر ابتلاء به سالک و تضعیف سیستم ایمنی بدن، باکتریهای بیماری زا و گاهی فلور پوستی، به صورت فرصت طلب، عفونت ثانویه ایجاد می کنند که سبب بروز برخی مشکلات می گردد. هدف از انجام این مطالعه، تعیین عفونت های باکتریایی در زخم های پوستی مشکوک به لیشرمانیوز و حساسیت دارویی ایزوله های باکتری جدا شده شایع می باشد.

روش کار: نمونه برداری از ۲۲۰ بیمار دارای زخم مشکوک به سالک جلدی جهت بررسی وجود انگل و باکتری، بعمل آمد. عوامل باکتریایی در محیط های باکتریولوژیک کشت داده شده و از طریق رنگ آمیزی گرم، تست های بیوشیمیایی و سایر تست های اختصاصی و استاندارد، شناسایی شدند. با استفاده از ۱۴ دیسک آنتی بیوتیکی، آنتی بیوگرام به روش کربی باوئر بعمل آمد و مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله های باکتری جدا شده شایع مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: ۳۴/۸٪ زخم های مثبت از نظر وجود جسم لیشمن و ۲۶/۵٪ زخمهای فاقد انگل، آلوده به عفونت های باکتریایی بودند. بیشترین فراوانی آلودگی مربوط به استافیلوکوکوس ارئوس و بعد از آن، استرپتوکوکوس پیوژن بود. سایر عوامل باکتریایی در زخم های مثبت از نظر وجود جسم لیشمن، شامل اشیریشیا کولی، هافینا آلوتی و عفونت های توأم باکتریایی بود. ضمن اینکه در نمونه های منفی از نظر وجود جسم لیشمن، یک مورد عفونت با مورگانلا مورگانی مشاهده گردید. نتایج حاصل از آنتی بیوگرام ۴۶ ایزوله استافیلوکوکوس ارئوس، به عنوان شایع ترین باکتری جدا شده از بیماران، نشان می دهد بیشترین مقاومت دارویی مربوط به آموکسی سیلین (۹۷/۸٪) و کمترین آن مربوط به ریفاپیسین و وانکوماسین (۲/۱٪) بوده است.

نتیجه گیری: با توجه به جدی بودن خطر آلودگی با عفونت های ثانویه باکتریایی در بیماران مبتلا به لیشرمانیوز جلدی، شناسایی و درمان صحیح به موقع این عوامل امری ضروری است. در این بین، استافیلوکوکوس ارئوس بعنوان شایعترین باکتری جدا شده از اهمیت خاصی برخوردار است که در مقوله تشخیص، درمان و پیشگیری باید بطور ویژه مدنظر قرار گیرد.

واژگان کلیدی: لیشرمانیوز جلدی، عفونت های ثانویه باکتریایی، آنتی بیوگرام

مقدمه

معضل بزرگ بهداشتی مطرح است. مهمترین کانون این بیماری در ایران استان اصفهان است که سالانه حدود ۸۰۰۰ مورد و تقریباً نصف موارد کشوری را به خود اختصاص می دهد (۳). در ایران حدود پانزده هزار نفر سالانه به سالک مبتلا می شوند که بر اساس تحقیقات موجود، میزان واقعی آن ۴ تا ۵ برابر میزانی است که گزارش شده است (۱).

ناقل بیماری پشه خاکی از جنس فلپوتوموس (فلپوتوموس پاپاتاسی در نوع مرطوب یا روستایی و فلپوتوموس سرزانتی در نوع خشک یا شهری) می باشد (۴ و ۱).

لیشرمانیوز جلدی یا سالک عفونت ناشی از جنس لیشرمانیا است. عامل بیماری در کشورهای قاره قدیم (آسیا و آفریقا) لیشرمانیا تروپیکا و در قاره جدید (آمریکا) لیشرمانیا مکزیکانا و برازیلینسیس است که معمولاً در حیوانات وحشی بخصوص جوندگان ایجاد بیماری می کند و توسط پشه خاکی به حیوانات گوشت خوار و انسان منتقل می شود (۱). این بیماری هم چنین توسط سایر اشکال انگل لیشرمانیا که به پوست تمایل دارند، در محل گزش به وسیله پشه خاکی ایجاد می شود (۲). لیشرمانیوز در کانون هیپیراندمیک ایران به عنوان یک

منفی بودن استفاده شد. کشت ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ C منفی و سپس کلنی ها بررسی شدند.

جهت تشخیص باکتریهای گرم منفی، کشت و انکوباسیون مجدد بر روی محیط های افتراقی شامل TSI، Urea، SIM و تستهای تشخیصی نظیر IMVIC و سایر تست های اختصاصی تر، انجام شد. همچنین جهت تشخیص باکتریهای گرم مثبت، تست های کاتالاز، کوآگولاز، تخمیر مانتیتول، اکسیداز، باسیتراسین و غیره مورد استفاده قرار گرفتند.

تست تعیین حساسیت با استفاده از آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل، تتراسایکلین، سفالوتین، آموکسی سیلین، اگزاسیلین، کاربنی سیلین، پنی سیلین، اریترومایسین، ونکومایسین، ریفامپیسین، جنتامیسین، استرپتومایسین، کانامایسین، کوتریموکسازول، آمپی سیلین، پلی میکسین B، نیتروفورانتوئین و نالیدیکسیک اسید به روش کربی باوئر انجام گرفت (۶ و ۷).

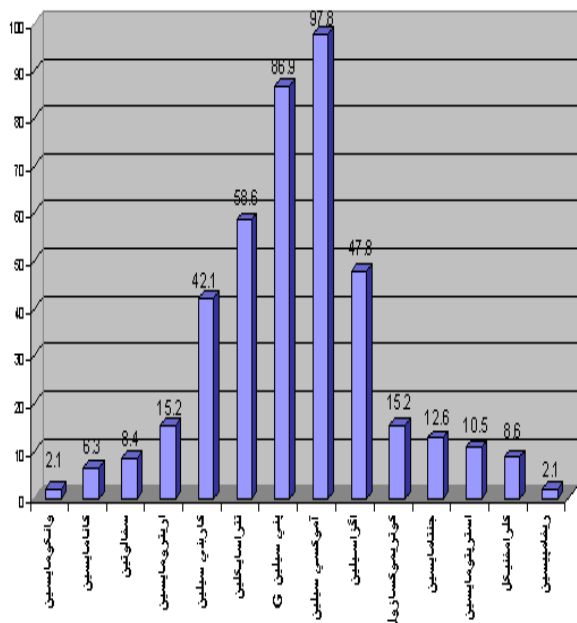
با توجه به فراوانی نسبی و اهمیت استافیلوکوکوس ارئوس در عفونت های ثانویه در زخم های پوستی ناشی از لیشمانیا در این مطالعه، آنتی بیوگرام فقط بر روی ایزوله های مربوط به این باکتری انجام گردید.

یافته ها

۲۲۰ نمونه از زخم های مشکوک به سالک از نظر لیشمانیا و باکتری مورد آزمایش قرار گرفتند. در این بررسی ۱۴۱ مورد (۶۴٪) از نمونه ها از نظر وجود جسم لیشمن، مثبت (L+) و ۷۹ مورد (۳۶٪) منفی بودند (L-). همچنین در نمونه های L+ ۲۲/۶٪ دارای عفونت با یک باکتری و ۲/۱٪ دارای عفونت با بیش از یک باکتری بودند.

در نمونه های L+ ۸۷/۱٪ را باکتریهای گرم مثبت و ۱۲/۸٪ را باکتریهای گرم منفی تشکیل دادند. لذا از اینرو اکثریت باکتریهای ایزوله شده گرم مثبت بودند که در رأس آنها از نظر فراوانی، استافیلوکوکوس ارئوس قرار داشت. جدول شماره ۱، توزیع فراوانی انواع باکتریهای جدا شده در نمونه های L+ و L- را نشان می دهد. در نمودار شماره ۱، نتایج حاصل از آنتی بیوگرام ۴۶ ایزوله استافیلوکوکوس ارئوس جدا شده از بیماران ارائه شده است که نشان می دهد بیشترین مقاومت دارویی مربوط به آموکسی سیلین (۹۷/۸٪) و کمترین مقاومت دارویی مربوط به ریفامپین و وانکوماسین (۲/۱٪) بوده است.

نمودار ۱: توزیع زخم سالک بر اساس درصد مقاومت ۴۶ ایزوله استافیلوکوکوس ارئوس نسبت به ۱۴ آنتی بیوتیک



دوره نهفتگی این بیماری به طور معمول ۱ تا ۱۲ هفته است (۴). سالک معمولاً به شکل ضایعه منفرد و به صورت پاپول قرمز رنگی ظاهر شده که به تدریج ندولی و نکروزه می شود و پس از گذشت ۸ تا ۱۲ ماه با به جا گذاشتن جوشگاه بهبود می یابد. اشکال مختلف بالینی مختلف آن بصورت پاپول، ندول، پلاک، اولسر، لوپوئید، اسپورتریکوئید و برخی اشکال غیر معمول دیگر دیده می شود (۴). بیماری معمولاً پس از یک سال با بجای گذاشتن اسکار (جوشگاه) بهبود می یابد. ظهور تومور پوستی در زمینه اسکار سالک پدیده ای نادر است (۵). در پاره ای از موارد، این ضایعات به درمان های اختصاصی سالک پاسخ نمی دهند که میتوان دو احتمال را در نظر گرفت: اول اینکه زخم اساساً سالک نبوده و دوم اینکه علاوه بر سالک، یک عفونت ثانویه هم وجود داشته است (۴). لذا بایستی با تشخیص کامل عفونت ثانویه و انجام تست حساسیت ضد میکروبی، آنتی بیوتیک مناسب را تعیین و در کنار داروهای ضد سالک به بیمار تجویز نمود تا درمان کامل و قطعی صورت پذیرد. هدف از این تحقیق، شناسایی این عوامل و گزارش مقاومت آنتی بیوتیکی آنها است که سرانجام می تواند در درمان بیماران کمک کننده باشد.

روش کار

نمونه برداری از ۲۲۰ بیمار مراجعه کننده به آزمایشگاه مرکزی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، بیمارستان رازی و مرکز بهداشت ابن سینا اصفهان که زخم مشکوک به سالک جلدی داشتند، انجام شد. ابتدا زخم ضد عفونی و سپس با لانت استریل یکبار مصرف در کنار زخم (مرز بین پوست سالم و قسمت ملتهب)، خراش ایجاد شد تا سرروزینه خارج گردد. حداقل ۲ اسمیر برای سالک تهیه و توسط ۲ الی ۳ سوآب استریل، نمونه بر روی محیط های بلادآگار، اندو آگار و تایو کشت داده شد. اسمیر تهیه شده مربوط به سالک با متانول فیکس شده و به روش گیمسا رنگ آمیزی و پس از ۳۰ دقیقه جهت دیدن انگل با میکروسکوپ به دقت مورد بررسی قرار گرفت. برای آزمایشات باکتریولوژیک، لام با حرارت فیکس شده و پس از انجام رنگ آمیزی گرم با میکروسکوپ به جستجوی باسیل، کوکسی گرم مثبت یا منفی پرداخته شد. در مواردی هم از تست KOH جهت تشخیص گرم مثبت یا

جدول ۱: توزیع زخم های سالک بر اساس باکتریهای جدا شده در ۲۲۰ بیمار

باکتری	زخم لیشمانیایی		جمع
	مثبت	منفی	
استافیلوکوکوس ارئوس	۲۸ (۸۰/۰)٪	۱۶ (۷۶/۱)٪	۴۴ (۷۸/۵)
استرپتوکوکوس پیوژنز	۲ (۵/۸)	۴ (۱۸/۱)٪	۶ (۱۰/۷)
اشریشیا کولی	۱ (۲/۹)	-	۱ (۱/۷)
مورگانلا مورگانی	-	۱ (۴/۵)٪	۱ (۱/۷)
هافینا آلوئی	۱ (۲/۹)	-	۱ (۱/۷)
استافیلوکوکوس ارئوس + استرپتوکوکوس پیوژنز	۱ (۲/۹)	-	۱ (۱/۷)
استافیلوکوکوس ارئوس + کلبسیلا	۱ (۲/۹)	-	۱ (۱/۷)
اشریشیا کولی + سودوموناس	۱ (۲/۹)	-	۱ (۱/۷)
استرپتوکوکوس پیوژنز + سودوموناس	۱ (۲/۹)	-	۱ (۱/۷)
جمع	۳۵ (۶۲/۵)	۲۱ (۳۷/۵)	۵۶ (۱۰۰)

اعداد داخل پرانتز نشان دهنده درصد ایزوله ها می باشد.

بحث

در رده های بعدی بودند که با وجود اختلافاتی در میزان فراوانی آنها، با نتایج گزارش شده توسط Vera و همکاران (۸) مطابقت دارد. بطور کلی با توجه به موارد زیاد مبتلایان به استافیلوکوکوس و حاملین این باکتری، طبیعی است که زخمهای مشکوک به سالک نیز بیشترین آلودگی با این ارگانیسم را داشته باشند. همچنین بر اساس نتایج بدست آمده از مطالعات انجام شده بر روی حیوان آزمایشگاهی، آلودگی ثانویه این باکتری، منجر به افزایش شدت زخم اولیه می شود (۱۱)، لذا برای تشخیص و درمان این زخم ها، عفونت های ثانویه به ویژه با استافیلوکوکوس ارئوس باید مورد توجه قرار گرفته و پس از تشخیص صحیح و انجام آنتی بیوگرام، درمان مناسب صورت گیرد.

با توجه به یافته های حاصل از نتایج آنتی بیوگرام، استافیلوکوکوس ها نسبت به اگزاسیلین مقاومت بالایی داشته، لذا توصیه می شود که جهت درمان از این دارو استفاده نشود. هم چنین این باکتری نسبت به پنی سیلین، آمپی سیلین و آموکسی سیلین مقاوم بوده و برخلاف انتظار نسبت به پنی سیلین های مقاوم به پنی سلیناز نظیر اگزاسیلین هم مقاومت نشان داده است، بنابراین لازم است از مصرف داروهای ذکر شده خودداری شود. خوشبختانه ریفامپیسین و آمینوگلیکوزیدها اثر خوبی را نشان داده اند و چون این دو دارو بر روی سالک هم مؤثر اند، لذا می توانند در درمان عفونت توأم مورد نظر قرار گیرند. ریفامپیسین از راه خوراکی جذب شده و بر باکتریهای گرم مثبت و منفی مؤثر است و علاوه بر آن اثر ضد لیشمانیایی آن بر آموستیکوت ها و پروماستیکوت ها ثابت شده است. آمینوگلیکوزیدها اگرچه به علت سمیت در کلیه باید با دقت کافی مصرف شوند اما به صورت تزریقی و عضلانی و پماد جذب بالایی داشته و در درمان توأم، اثرات چشمگیری دارند.

نتیجه گیری

با توجه به جدی بودن خطر آلودگی با عفونت های ثانویه باکتریایی در بیماران مبتلا به لیشمانیوز جلدی، شناسایی و درمان صحیح و به موقع این عوامل امری ضروری است. در این بین، استافیلوکوکوس ارئوس به عنوان شایعترین باکتری جدا شده از اهمیت خاصی برخوردار است که در مقوله تشخیص، درمان و پیشگیری باید به طور ویژه مدنظر قرار گیرد.

در مطالعه ای که در سال ۱۳۸۰ توسط گیتی صادقیان و همکاران بر روی ۲۰۰ بیمار مبتلا به سالک در مرکز تحقیقات پوست و سالک مرکز پزشکی امین اصفهان انجام شد، بروز عفونت های ثانویه به عنوان یکی از شایعترین عوارض این بیماری مطرح شد. در آن مطالعه شایع ترین میکروارگانیسم عامل عفونت ثانویه، استافیلوکوکوس ارئوس گزارش شده بود (۴). مطالعه ای که بر روی ۷۳۶ بیمار مبتلا به لیشمانیوز جلدی در سال ۱۹۹۱ در یکی از بیمارستان های کشور سودان انجام شد، نشان داد که ۱۸٪ این افراد به عفونت های ثانویه مبتلا شده بودند (۷). بررسی دیگری که در سال ۲۰۰۱ توسط Vera و همکاران روی ۸۳ بیمار انجام شده، نشان داده است که ۴۵ مورد از بیماران (۵۴/۲٪)، درگیر عفونت های ثانویه بوده اند که در این میان استافیلوکوکوس ارئوس بطور قاطع با ۸۹٪ بیشترین سهم را داشته است (۸).

در بررسی عفونت های ثانویه روی زخم بر روی ۳۱ بیمار مبتلا به سالک که در سال ۲۰۰۵ توسط Fontes و همکاران انجام شد، نتایج زیر بدست آمد: ۲۱ مورد از بیماران (۶۷/۷٪)، با یک تا چهار مورد عفونت ثانویه باکتریایی و مخمر درگیر بودند که در مجموع ۱۴۲ ایزوله باکتریایی از آنها جداسازی شد که شامل استافیلوکوکوس ارئوس (۹۵/۲٪ بیماران)، پروتئوس میرابیلیس (۳۳/۳٪)، گونه های H₂S منفی پروتئوس (۱۹٪)، استرپتوکوکوس پیوژن (۱۹٪)، کلبسیلا اکسی توکا (۱۴/۳٪)، گونه های انتروباکتر (۹/۵٪)، گونه های پپتواسترپتوکوکوس (۹/۵٪)، گونه های سودوموناس (۴/۸٪)، پرووتلا بی ویه (۴/۸٪)، اشیریشیا کولی (۴/۸٪)، استرپتوکوکوس آگالاکتیا (۴/۸٪)، باکترئوئیدس فراژیلیس (۴/۸٪)، کاندیدا آلبیکانس (۹/۵٪) و کاندیدا تروپیکالیس (۴/۸٪) بودند (۹).

در تحقیقی دیگر که توسط Masmoudi و همکاران در سال ۲۰۰۶ انجام شده است، دو مورد عفونت ثانویه ناشی از استافیلوکوکوس در بین ۱۴ بیمار گزارش شد (۱۰).

در تحقیق ما اکثریت باکتریهای ایزوله شده گرم مثبت بودند که در رأس آنها از نظر فراوانی استافیلوکوکوس ارئوس قرار داشت که از این حیث با یافته های حاصل از مطالعات گیتی صادقیان و همکاران (۴)، Vera و همکاران (۸) و Fontes و همکاران (۹) مطابقت دارد. در این مطالعه گونه های استرپتوکوکوس، سودوموناس، کلبسیلا و اشیریشیا کولی از نظر فراوانی

REFERENCES

- ۱- صائبی اسماعیل. بیماریهای انگلی در ایران: بیماریهای تک یاخته ای، چاپ هفتم، انتشارات حیان- ابوالصالح، ۱۳۸۲، صفحات ۱۶۳ تا ۱۷۹.
- 2- Geo. FB, Janet SB, Stephen AM.. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. 23th ed. McGraw-Hill. 2004.
- ۳- نیلفروش زاده محمدعلی، جلاپور طهمورث، عطایی بهروز، جعفری فریبا و متولی امامی محمد. کاربرد روش تلفیقی در کنترل لیشمانیوز جلدی در حرم امامزاده آقا علی عباس (ع) در نطنز اصفهان در سالهای ۷۷-۱۳۷۵. فصلنامه بیماری های پوست، زمستان ۱۳۸۲، سال هفتم: شماره ۲، صفحات ۷۸ تا ۸۳.
- ۴- صادقیان گیتی، حجازی سیدحسین و کلانتری مهتاب. بررسی باکتری های جدا شده از ضایعات عفونی شده لیشمانیوز جلدی. فصلنامه بیماری های پوست، پائیز ۱۳۸۰، سال پنجم: شماره ۱، صفحات ۳۹ تا ۴۲.

۵- نیلفروشان زهره، اصیلیان علی و نیلفروش زاده محمدعلی، کارسینوم پوستی بر روی اسکار ناشی از لیشمانیوز جلدی: معرفی چهار بیمار. فصلنامه بیماری های پوست، پائیز ۱۳۸۳، سال هشتم: شماره ۱، صفحات ۱۱ تا ۱۶.

6- Baron EJ, Peterson L. Finegold S.M: Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 9th ed. C.V. Mosby. Co,1994.

7- El-Safi SH, El-Peters W, El-Toam BA, El-Kadarow and El-Evans DA. Studies on the leishmaniasis in the Sudan, Clinical and parasitological studies on cutaneous leishmaniasis. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 1991; 85, 457-464.

8- Vera LA, Santos JB, Macedo VO, de Magalhaes AV, Ciuffo IA and Santos CG.. Evaluation of secondary bacterial infection's influence on the course of cutaneous leishmaniasis in Corte de Pedra, Bahia. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2001; 34, 233-237.

9- Fontes CO, Carvalho MA, Nicoli JR, Hamdan JS, Mayrink W, Genaro O and et al. Identification and antimicrobial susceptibility of micro-organisms recovered from cutaneous lesions of human American tegumentary leishmaniasis in Minas Gerais, Brazil. J Med Microbiol, 2005; 54,1071-1076.

10- Masmoudi A, Maalej N, Boudaya S, Turki H, Zahaf A, Potter ME and et al. Adverse effects of intralesional Glucantime in the treatment of cutaneous leishmaniosis Med Mal Infect. 2006; 36, 226-228.

11- Potter ME, Chapman WL Jr, Hanson WL, Blue JL. Leishmania braziliensis: Effects of bacteria (Staphylococcus aureus and Pasteurella multocida) on the developing cutaneous leishmaniasis lesion in the golden hamster. Experimental Parasitology, 1983; 56,107-118.