

## Survey of medicine susceptibility in *Brucella melitensis* isolated from raw milk of sheep and goat in Kerman

Shahrnaz banu Ashrafganjooyi<sup>1</sup>, Nosrat Allah Saedadeli<sup>1</sup>, Saeid Alamian<sup>2</sup>, Mohamad Khalili<sup>3,4</sup>

1. Department Microbiology, Faculty of Afzalipour Medicine, Kerman, Iran
2. Department of Brucella, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research education and Extension organization, Karaj, Iran
3. Department of pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
4. Research center of Tropical and Infectious Diseases, Kerman university of Medical Sciences, Kerman, Iran

### Article Information

#### Article history:

Received: 2016/07/12  
Accepted: 2016/11/19  
Available online: 2017/03/16

#### Article Subject:

Medical Bacteriology

IJMM 2017; 11(1): 90-94

#### Corresponding author at:

Shahrnaz Banu Ashrafganjooyi

Department Microbiology,  
Faculty of Afzalipour  
Medicine, Kerman, Iran

Tel: 0983433257665

#### Email:

sh\_ashrafganjooyi@kmu.ac.ir

### Abstract

**Background and Aim:** Brucellosis is one of the most common zoonotic disease between human and cattle breeding. Brucellosis is endemic in all regions of Iran. Since brucella is an arbitrary intracellular organism and a limited range of antibiotics are effective to it, this study is based on the survey of the antibiotic sensitivity to the 9 isolated *B. melitensis* from raw milk in tribes population.

**Materials and Methods:** Antimicrobial susceptibility of 9 *B. melitensis* bacteria isolated from nomadic livestock population's raw milk were studied in the laboratory. The minimum inhibitory concentration (MIC) of tested antimicrobial substances were measured by E- test. To interpret the results, CLSI standards were used for bacteria growth.

**Results and Conclusions:** 9 isolates had a high sensitivity to Doxycycline, two isolates were resistant against three antibiotics Streptomycin (MIC $\geq$ 240 $\mu$ g/mL) Cotrimoxazole (MIC $\geq$ 256 $\mu$ g/mL) and Rifampin (MIC $\geq$ 30 $\mu$ g/mL) and six other isolates were showed Intermediate and sensitivity to former antibiotics. According to results, resistance to Rifampin and Streptomycin and Cotrimoxazole were the important result of this article.

**KeyWords:** Antibiotic sensitivity, *Brucella melitensis*, Raw milk, Kerman

Copyright © 2017 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

### How to cite this article:

Ashrafganjooyi Sh, Saedadeli N, Alamian S, Khalili M. Survey of medicine susceptibility in *Brucella melitensis* isolated from raw milk of sheep and goat in Kerman. Iran J Med Microbiol. 2017; 11 (1): 90-94

## بررسی حساسیت دارویی سویه‌های بروسلای تنسیس جدا شده از شیر خام گوسفند و بز در کرمان

شهرناز بانو اشرف گنجویی<sup>۱</sup>، نصرت ا... سعید عادل<sup>۱</sup>، سعید عالمیان<sup>۲</sup>، محمد خلیلی<sup>۳</sup> و<sup>۴</sup>

۱. گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۲. بخش بروسولوزیس، موسسه تحقیقاتی واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۳. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
۴. مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

### چکیده

### اطلاعات مقاله

**زمینه و اهداف:** بروسولوزیس یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مشترک بین انسان و دام است. این بیماری در تمام نقاط ایران اندمیک می‌باشد. به دلیل اینکه گونه‌های بروسلای باکتری‌های درون‌سلولی اختیاری می‌باشند و تعداد محدودی آنتی‌بیوتیک بر این ارگانسیم مؤثر می‌باشند. مطالعه حاضر باهدف بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی نه سویه بروسلای ملی تنسیس جدا شده از شیر خام گوسفند و بز از جمعیت دامی عشایر می‌باشد.

**مواد و روش کار:** حساسیت آنتی‌بیوتیکی ۹ ایزوله بروسلای ملی تنسیس جدا شده از شیر خام جمعیت دامی عشایری در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. حداقل غلظت مهار (MIC) (Minimal Inhibitory Concentration-MIC) مواد ضد میکروبی مورد آزمایش توسط روش E-test اندازه‌گیری شد. جهت تفسیر نتایج از معیارهای CLSI برای باکتری‌های کند رشد استفاده شد.

**یافته‌ها و نتیجه‌گیری:** ۹ ایزوله نسبت به داکسی‌سیکلین حساسیت بالایی داشته‌اند. دو ایزوله نسبت به سه آنتی‌بیوتیک استرپتوماسین ( $MIC \geq 240 \mu\text{g/mL}$ ) و کوتریموکسازول ( $MIC \geq 206 \mu\text{g/mL}$ ) و ریفامپین ( $MIC \geq 20 \mu\text{g/mL}$ ) مقاوم بوده‌اند ۶ ایزوله دیگر نسبت به این سه آنتی‌بیوتیک حساسیت در حد وسط و حساس داشته‌اند. شناسایی مقاومت نسبت به ریفامپین و استرپتوماسین و کوتریموکسازول از نتایج مهم این تحقیق می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** حساسیت آنتی‌بیوتیکی، بروسلای ملی تنسیس، شیر خام، کرمان

### تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۰۶

پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۰۲

انتشار آنلاین: ۱۳۹۵/۱۲/۲۶

### موضوع:

باکتری‌شناسی پزشکی

IJMM 1396; 11(1): 90-94

### نویسنده مسئول:

شهرناز بانو اشرف گنجویی

گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

تلفن: ۰۹۸۳۴۳۲۲۵۷۶۶۵

### پست الکترونیک:

sh\_ashrafganjooyi@kmu.ac.ir

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروبی شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

### مقدمه

برای جلوگیری از عود بیماری بروسولوزیس ترکیب چند دارو امروزه استفاده می‌شود، تتراسیکلین‌ها، تری‌متوپریم، سولفامتاکسازول (کوتریموکسازول)، ریفامپین، استرپتوماسین، و کینولون‌ها معمولاً در درمان استفاده می‌شود.

استفاده از ترکیب داکسی‌سیکلین به همراه استرپتوماسین، داکسی‌سیکلین به همراه ریفامپین اولین خط درمان که توسط WHO پیشنهاد شده است (۱). ریفامپین یکی از قوی‌ترین و

بروسولوزیس یک بیماری زئونوز (مشترک بین انسان و دام) است که در سرتاسر دنیا اکثراً در مردمی که در آمریکای جنوبی و مرکزی، آفریقا، آسیای مرکزی، خاورمیانه، اسپانیا و بخش‌هایی از مدیترانه زندگی می‌کنند را تحت تأثیر قرار می‌دهد. گونه‌های بروسلای باکتری‌های داخل سلولی هستند که چندین اندام را در انسان در برمی‌گیرند، در سال‌های اخیر درمان‌های مختلفی پیشنهاد شده که شامل ترکیب چند آنتی‌بیوتیک می‌باشد (۱).

دامی عشایری شهرستان‌های اطراف کرمان (رابر، راین، بردسیرو بافت) انجام شد.

ابتدا با روش انتشار در آگار آنتی‌بیوتیک‌های داکسی‌سیکلین، استرپتومایسین ریفامپین، و کوتریموکسازول (MAST, UK) بر روی ۹ باکتری بروسلاملی تنسیس بیوتیپ I آزمایش انجام گرفت (۴).

سپس با توجه به قطر هاله جلوگیری کننده از رشد در اطراف دیسک‌های آنتی‌بیوتیک برای آنتی‌بیوتیک‌های ریفامپین، کوتریموکسازول و استرپتومایسین MIC با روش E.test انجام شد (۴،۵) (جدول ۱).

وسیع‌الطیف‌ترین آنتی‌بیوتیک بر علیه بیماری بروسلوزیس در انسان می‌باشد (۲). علیرغم استفاده توأم این داروها، درجه عود بیماری ۳۰ درصد می‌باشد. بنابراین درمان‌های جدید و اطلاعات زیادی در مورد حساسیت دارویی نیاز می‌باشد (۳).

در این مطالعه هدف بررسی حساسیت دارویی گونه‌های بروسلاملی جدا شده از شیر خام گوسفند و بز در شرایط *in vitro* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های داکسی‌سیکلین، استرپتومایسین، ریفامپین و کوتریموکسازول می‌باشد. تا این مطالعه به درمان تجربی بروسلوزیس در منطقه کرمان کمی‌کند.

#### مواد و روش‌ها

این بررسی بر روی ۹ باکتری بروسلاملی تنسیس جدا شده از ۷۰۰ نمونه شیر خام گوسفند و بز در سال ۱۳۹۴ از جمعیت

جدول ۱: نتایج انتشار در آگار و MIC به روش E.test

| شماره باکتری | انتشار در آگار |     |     | MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) |       |     |
|--------------|----------------|-----|-----|--------------------------|-------|-----|
|              | Rif            | SXT | STR | Rif                      | SXT   | STR |
| ۱            | R              | R   | R   | ۳۰                       | ۴     | ۳۰  |
| ۲            | R              | R   | R   | ۳۰                       | ۲۵۶   | ۲۴۰ |
| ۳            | S              | S   | S   | ۰/۱                      | ۰/۱۲۵ | ۳   |
| ۴            | I              | R   | S   | ۰/۵                      | ۰/۲۵  | ۰/۱ |
| ۵            | S              | S   | S   | ۱                        | ۰/۷۵  | ۰/۱ |
| ۶            | I              | R   | S   | ۱                        | ۰/۱۹  | ۰/۱ |
| ۷            | I              | R   | S   | ۱                        | ۲     | ۰/۱ |
| ۸            | I              | I   | S   | ۱                        | ۰/۵   | ۰/۱ |
| ۹            | I              | S   | S   | ۱                        | ۰/۵   | ۰/۱ |

حساس و یک باکتری حساسیت حد وسط را نسبت به کوتریموکسازول داشته است.

نتایج MIC با روش E-test هم‌خوانی با نتایج آزمایش انتشار در آگار داشت.

در ایران، بروسلاملی تنسیس اولین بار از گوسفند در سال ۱۹۵۰ در اصفهان جدا گردید و بعداً بیووار I این باکتری به‌طور اسپورادیک از نقاط دیگر کشور از گوسفند و بز در رمه‌ها و همچنین از انسان جدا شد. بروسلاملی تنسیس بیووار I مسئول بیماری در نواحی اصفهان، خراسان، گیلان، خوزستان، یزد و کرمانشاه هستند (۶).

این بررسی بر روی حساسیت دارویی ۹ باکتری بروسلاملی تنسیس بیووار I (تعیین بیوار شده با روش فاژ تایپینگ) جدا شده از جمعیت دامی عشایری شهرستان‌های اطراف کرمان

#### یافته‌ها و بحث

۹ باکتری بروسلاملی تنسیس با روش انتشار در آگار همه به آنتی‌بیوتیک داکسی‌سیکلین حساسیت بسیار بالایی نشان دادند. (قطر هاله ۴۵ میلی‌متر). نتایج نسبت به سه آنتی‌بیوتیک ریفامپین، کوتریموکسازول و استرپتومایسین به هر دو روش انتشار در آگار و تعیین MIC با روش E.test در جدول ۱ گزارش شده است.

همان‌طور که در جدول مشاهده می‌گردد دو باکتری نسبت به ریفامپین و کوتریموکسازول و استرپتومایسین مقاوم بوده‌اند.

از ۶ باکتری دو باکتری نسبت به سه آنتی‌بیوتیک فوق حساس، نسبت به ریفامپین ۵ باکتری حد وسط حساسیت را داشته‌اند و هفت باکتری نسبت به استرپتومایسین حساس بوده‌اند. از این ۹ باکتری، سه باکتری نسبت به کوتریموکسازول

نمونه‌های بالینی نسبت به ریفامپین کاهش یافته است (۸). در بررسی حاضر نیز سوبه‌های باکتری نسبت به ریفامپین حساسیت در حد نیمه حساس داشته‌اند. در هر دو مطالعه Piri dogaher و مطالعه حاضر در کرمان باکتری‌های جدا شده نسبت به استرپتومایسین حساس بودند. در بررسی که توسط Hashim و همکارانش در مالزی بر روی حساسیت آنتی‌بیوتیکی بروسلا ملی تنسیس با استفاده از روش E.test انجام گرفته نمونه‌های این تحقیق به ریفامپین مقاوم بودند (۹). در پرو مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۷ بر روی ۴۸ نمونه بروسلا ملی تنسیس بیوتیپ I جدا شده از انسان انجام گرفته، نشان داده است که این باکتری‌ها به چهار آنتی‌بیوتیک فوق حساس بودند (۱۰). با توجه به نتایج تحقیق مالزی نتایج مطالعه حاضر مشابه تا حدودی نتایج مطالعه مالزی می‌باشد. با توجه به اینکه در این مطالعه دو باکتری نسبت به سه آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین، کوتریموکسازول و ریفامپین مقاوم و ۵ باکتری نسبت به کوتریموکسازول مقاوم بودند، هشدار برای وقوع مقاومت نسبت به کوتریموکسازول و ریفامپین و تا حدودی استرپتومایسین می‌باشد. لزوم درمان ترکیبی، طول مدت درمان نسبت شکست درمانی با برخی رژیم‌های دارویی و بررسی و تحقیق در مورد داروهای جدید برای درمان بروسلوزیس را می‌طلبد.

#### تقدیر و تشکر

نویسندگان از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمان که هزینه این تحقیق را تأمین نموده‌اند و همچنین از آقای محمدحسین صالحی کاردان آزمایشگاه میکروبی‌شناسی و اعضای بخش میکروبی‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دانشکده دامپزشکی شهید باهنر کرمان، مؤسسه تحقیقات و واکسن‌سازی رازی حصارک کرچ و اداره کل دامپزشکی استان کرمان و مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری تشکر می‌کنند.

#### تعارض منافع

بین نویسندگان و مجله میکروبی‌شناسی پزشکی ایران هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

(رابر، راین، بردسیر و بافت) می‌باشند. در این بررسی دو باکتری از ۹ باکتری جدا شده، نسبت به سه آنتی‌بیوتیک ریفامپین، استرپتومایسین و کوتریموکسازول مقاوم بودند. همه ۹ باکتری نسبت به داکسی‌سیکلین حساسیت بالایی داشتند.

در بررسی که بر روی چهار آنتی‌بیوتیک فوق در ترکیه بر روی بروسلا ملی تنسیس در سال ۲۰۱۱ انجام گرفته است، باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های مختلف کلینیکی نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها حساس بودند (۵). در حالی که در بررسی حاضر در کرمان در باکتری از نه باکتری نسبت به سه آنتی‌بیوتیک فوق مقاوم بودند.

در بررسی که توسط Valdezate و همکاران در سال ۲۰۱۰ در اسپانیا انجام گرفته است، بروسلا ملی تنسیس جدا شده از انسان نسبت به ریفامپین مقاوم نبودند، و ریفامپین داروی خط اول درمان بروسلوزیس گزارش شده است (۱). در مطالعه‌ای که در ایتالیا در سال ۲۰۰۴، اولین بار موتان‌هایی از باکتری که حامل ژن rpo مقاومت به ریفامپین می‌باشد را در گونه‌های بروسلا گزارش شده است (۲).

در بررسی دیگری در ترکیه در سال ۲۰۱۲ که توسط kaya انجام گرفته است. یک باکتری بروسلا ملی تنسیس نسبت به ریفامپین مقاوم بوده و نسبت به داکسی‌سیکلین و استرپتومایسین، بروسلا ملی تنسیس جدا شده، از نمونه‌های بالینی حساس بودند (۳).

نتایج مطالعه ایتالیا و kaya در ترکیه در مقایسه با مطالعه حاضر در کرمان نشان‌دهنده شروع مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک ریفامپین می‌باشد. البته در هر سه مطالعه تعداد سوبه‌های باکتری که مورد مطالعه قرار گرفتند کم می‌باشند.

در بررسی که توسط Alikhani در ایران انجام گرفته است، بروسلا ملی تنسیس جدا شده نسبت به داکسی‌سیکلین حساسیت مطلوب داشته که مشابه نتایج مطالعه حاضر در کرمان می‌باشد. حساسیت کوتریموکسازول و استرپتومایسین نیز در بررسی Alikhani مشابه نتایج مطالعه حاضر می‌باشد (۷).

در بررسی که توسط Piri dogaher در اردبیل انجام گرفته، حساسیت نیمی از سوبه‌های بروسلا ملی تنسیس جدا شده از

## References

1. Valdezate S, Navarro A, Medina-Pascual MJ, Garrasco G, Saez-Nieto JA. Molecular screening for Rifampicin and fluoroquinolone resistance in a clinical population of *Brucella melitensis*. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(1): 51-53.
2. Marianelli C, Ciuchini F, Tarantino M, Pasquali p, Adone R. Genetic Bases of the Rifampin Resistance Phenotype in *Brucella* SPP. *J Clin Microbiol* 2004; 42(12):5439-5443.
3. Kaya O, Akcam FZ, Yayli G. Investigation of the in vitro activities of various antibiotics against *Brucella melitensis* strains. *Turk J Med Sci* 2012; 42(1): 145-148.
4. Bailly & Scott's, Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. *Diagnostic Microbiology*. 12<sup>nd</sup>ed. Mosby; 2007.
5. Bayram Y, Korkoca H, Aypak C, Parlak M, Cikman A, Kilic S, et al. Antimicrobial Susceptibilities of *Brucella* Isolates from various clinical specimens. *International Journal of Medical Sciences*. 2011; 8(3): 198-202.
6. Zowghi E, Ebadi A, Yarahmadi M. Isolation and identification of *Brucella* organisms in Iran. *Iranian Journal of Clinical Infectious Disease*. 2008; 3(4): 185-8. [in Persian]
7. Alikhani A, Honarmand H, Dehgani N, Hedarzadeh A. Microbiological survey and antibiotic sensitivity in patients with positive culture and positive serological wright test. *Magazine of Mazandaran Medical Sciences University(JMUMS)*. 2008; 18(68): 74-8. [in Persian]
8. Peridogahe H, Aligoli M, Dehghan M, Mleknejad P. Determination of Antibiotic Sensitivity in *Brucella melitensis* Isolated from patient's blood by MIC method. *Research and scientific magazine Ardabil university*. 1999; 8(1): 20-28. [in Persian]
9. Hashim R, Ahmad N, Zahidi JM, Tay BY, Mohd Noor A, Zainal S, et al. Identification and In vitro Antimicrobial Susceptibility of *Brucella* species Isolated from Human Brucellosis. *International Journal of Microbiology*. 2014; ID 596245, 5 Pages.
10. Maves R, Castillo R, Gaillen A, Espinosa B, Meza R, Espinoza N, et al. Antimicrobial susceptibility of *Brucella melitensis* Isolates in Peru. *Antimicrobial Agents and chemotherapy*. 2011; 1279-81.