مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی‌ام/شماره ۲۲۲/هفته چهارم اسفند ماه ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۹/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۱۵

مقایسه‌ی نتایج دو روش دیسک دیفیوژن و E-test در تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری به سه آنتی‌بیوتیک مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی‌سیلین

فرزاد خادمی[۱]، دکتر جمشید فقری[۲]، دکتر فرخنده پورسینا[۳]، معصومه مدحی[۱]،
دکتر پیمان ادیبی[۴]، دکتر حاجیه قاسمیان صفایی[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: افزایش شیوع سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک مهم‌ترین عامل در تعیین نتیجه‌ی درمان با آنتی‌بیوتیک می‌باشد. بنابراین، استفاده از روش‌های قابل اعتماد، آسان، سریع و ارزان در تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ضروری است. در حال حاضر هیچ توصیه‌ی استانداردی برای سنجش این ارگانیسم سخت‌گیر وجود ندارد و معیارهای تفسیری برای تعیین حساسیت یا مقاومت باکتری هنوز استاندارد نشده است. از روش‌های مرسوم در تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها استفاده از روش‌های دیسک دیفیوژن (Modified disk diffusion method یا MDDM) و E-test (Epsilometer test) است. هدف از این مطالعه، ارزیابی مقایسه‌ای نتایج روش‌های دیسک دیفیوژن و E-test برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های هلیکوباکتر پیلوری نسبت به سه آنتی‌بیوتیک مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی‌سیلین بود.

روش‌ها: در این مطالعه ۳۰ ایزوله‌ی هلیکوباکتر پیلوری از نمونه‌های بیوپسی جدا شد و حساسیت هلیکوباکتر پیلوری نسبت به مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی‌سیلین بر اساس پروتکل CLSI (Clinical and laboratory standards institute)، توسط روش‌های دیسک دیفیوژن و E-test مقایسه گردید. علاوه بر این، حداقل غلظت مهاری (Minimum inhibitory concentration یا MIC) برای ایزوله‌های مقاوم به سه آنتی‌بیوتیک تعیین شد.

یافته‌ها: ۳۰ ایزوله‌ی هلیکوباکتر پیلوری که سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی روی آن‌ها صورت گرفت، در هر دو روش دیسک دیفیوژن و E-test، ۵۳/۳ درصد به مترونیدازول، ۱۶/۶ درصد به کلاریترومایسین و ۱۰ درصد نسبت به آموکسی‌سیلین مقاوم بودند.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که هر دو روش تعیین حساسیت هلیکوباکتر پیلوری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی‌سیلین نتایج یکسانی داشتند. بنابراین، در شرایط آزمایشگاه (In vitro) استفاده از روش دیسک دیفیوژن می‌تواند جایگزین روش E-test در تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی برای هلیکوباکتر پیلوری باشد.

واژگان کلیدی: هلیکوباکتر پیلوری، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، روش دیسک دیفیوژن، E-test

ارجاع: خادمی فرزاد، فقری جمشید، پورسینا فرخنده، مدحی معصومه، ادیبی پیمان، قاسمیان صفایی حاجیه. **مقایسه‌ی نتایج دو روش دیسک دیفیوژن و E-test در تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری به سه آنتی‌بیوتیک مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی‌سیلین.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۱؛ ۳۰ (۲۲۲): ۲۵۱۹-۲۵۱۳

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۳۹۰۳۳۳ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- مربی، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- استاد، گروه گوارش، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۵- دانشیار، گروه باکتری و ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر حاجیه قاسمیان صفایی
Email: ghasemian@med.mui.ac.ir

مقدمه

هلیکوباکتر پیلوری باکتری گرم منفی ساکن در معده‌ی حدود ۵۰ درصد جمعیت دنیا است. این باکتری عامل گاستریت، ۹۰ درصد زخم‌های دوازده و ۷۵ درصد زخم‌های معده است و به عنوان عامل خطر برای آدنوکارسینومای معده شناخته می‌شود (۴-۱).

امروزه مقاومت آنتی‌بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری به یک مشکل جهانی تبدیل شده است و یک عامل مهم در تعیین نتیجه‌ی درمان می‌باشد. اگر چه هلیکوباکتر پیلوری به بیشتر عوامل ضد میکروبی در شرایط آزمایشگاهی حساس است، اما حذف ارگانیسم در بدن مشکل می‌باشد. مؤثرترین درمان عفونت ناشی از این باکتری استفاده از درمان چند دارویی است که شامل ترکیبی از کلاریترومایسین، مترونیدازول یا آموکسی‌سیلین به علاوه‌ی یک مهارکننده‌ی پمپ پروتون مثل امپرازول است (۷-۵).

استفاده از روش‌های قابل اعتماد و ارزان و آسان برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری ضروری می‌باشد و تعیین حساسیت ضد میکروبی به خصوص زمانی که درمان شکست خورده است، مهم است (۸). تکنیک‌های متعددی برای شناسایی مقاومت آنتی‌بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری به کار رفته است. این روش‌ها به طور کلی به دو دسته‌ی آزمایش بر اساس کشت و آزمایش بر اساس اسید نوکلئیک تقسیم‌بندی می‌شوند.

حساسیت آنتی‌بیوتیکی در هلیکوباکتر پیلوری به طور معمول به روش‌های مختلفی ارزیابی می‌شود. از روش‌های تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی می‌توان به دیسک دیفیوژن (Modified disk diffusion method)، یا MDDM، E-test (Epsilometer test)، Agar dilution و Broth micro dilution method اشاره کرد.

مقایسه‌ی نتایج مطالعات با استفاده از روش‌های دیسک دیفیوژن، E-test و Agar dilution همواره یکسان نیستند. همه‌ی این روش‌ها از نظر زمانی کند (نتایج به طور معمول بعد از ۶ تا ۱۰ روز به دست می‌آیند)، دشوار و پیچیده هستند و شکست آزمایش در حدود ۱۰ درصد از موارد به دلیل آلودگی نمونه‌های بیوپسی و یا عدم رشد هلیکوباکتر پیلوری اتفاق می‌افتد. روش‌های بر اساس اسید نوکلئیک مثل RFLP (Restriction fragment length polymorphism)، FISH (Fluorescence in situ hybridization)، RT-PCR (Real time-polymerase chain reaction) و PCR mismatch راه چاره هستند. این روش‌ها سریع‌تر و غیر وابسته به رشد باکتری هستند ولی به دلیل گرانی به صورت معمول انجام نمی‌شوند (۹).

هدف از این مطالعه، ارزیابی مقایسه‌ای نتایج روش‌های MDDM و E-test برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های هلیکوباکتر پیلوری به سه آنتی‌بیوتیک مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی‌سیلین بود تا بتوان به صورت معمول این روش‌ها را در آزمایشگاه‌های بالینی انجام داد.

روش‌ها

نمونه‌های بیوپسی از قسمت آنتروم معده‌ی ۱۳۰ بیمار با علایم گاستروانتستینال نظیر گاستریت، زخم معده، زخم دوازده و سرطان معده که به بخش آندوسکوپی بیمارستان‌های شهر اصفهان بین مهر ۱۳۹۰ تا اردیبهشت ۱۳۹۱ مراجعه کرده بودند، به دست آمد.

این مطالعه توسط کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد تأیید قرار گرفت و تمامی شرکت‌کنندگان فرم رضایت آگاهانه‌ی حضور در این تحقیق را امضا کردند.

در طی آندوسکوپی، ابتدا یک نمونه جهت انجام تست اوره‌آز سریع گرفته شد و در صورت مثبت بودن این تست، نمونه‌ای دیگر از همان بیمار جهت انتقال به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان در محیط انتقالی BHI broth (Brain-heart infusion broth) همراه با ۲ درصد گلوکز صورت پذیرفت.

نمونه‌های بیوپسی داخل محیط انتقالی BHI broth بین دو لام استریل له شدند و سپس روی محیط بروسلا آگار که حاوی ۵ درصد خون انسان، ۷ درصد سرم جنین گوساله (Fetal calf serum یا FCS) (بهارافشان، ایران)، ۲ میلی‌گرم در لیتر ونکومایسین (Merck)، ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر پلی‌میکسین (Merck) و ۱ میلی‌گرم در لیتر تری‌متوپریم (Merck) بود، کشت داده شد. سپس، پلیت‌ها در شرایط میکروآئروفیلیک (۵ درصد O_2، ۱۰ درصد CO_2 و ۸۵ درصد N_2) و در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۳ تا ۵ روز در دستگاه مارت انکوبه شد.

باکتری‌های رشدکرده بر اساس مورفولوژی کلنی روی محیط کشت، رنگ‌آمیزی Cram و واکنش‌های بیوشیمیایی مثبت نظیر اوره‌آز، کاتالاز و اکسیداز به عنوان هلیکوباکتر پیلوری شناسایی شدند.

روش MDDM برای ارزیابی حساسیت سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری به ۳ آنتی‌بیوتیک کلاریترومایسین (۱۵ میلی‌گرم)، مترونیدازول (۵ میلی‌گرم) و آموکسی‌سیلین (۱۰ میلی‌گرم) انتخاب شد.

برای این منظور، سوسپانسیونی از باکتری در سالین استریل معادل با استاندارد ۳ MC Farland تهیه گردید. سپس سوسپانسیون توسط سوآب روی محیط بروسلا آگار حاوی ۵ درصد خون انسان و ۷ درصد FCS پخش گردید. بعد از خشک شدن پلیت‌ها، دیسک‌های آنتی‌بیوتیک بر روی پلیت قرار داده شد و به مدت ۵-۳ روز در شرایط میکروآئروفیل انکوبه گردید. سویه‌هایی مقاوم به مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی‌سیلین محسوب می‌شدند که قطر هاله‌ی عدم رشد آن‌ها به ترتیب کمتر از ۱۶ میلی‌متر، بدون هاله‌ی عدم رشد و کمتر از ۱۱ میلی‌متر بود (۷). سویه‌ی استاندارد ۲۶۶۹۵ به عنوان کنترل کیفی مورد استفاده قرار گرفت.

برای انجام E-test سوسپانسیونی از باکتری خالص در محیط سالین استریل معادل با استاندارد ۳ MC Farland آماده گردید. سپس سوسپانسیون روی محیط بروسلا آگار حاوی ۵ درصد خون انسان و ۷ درصد FCS پخش گردید. حداقل غلظت مهاری (MIC یا Minimum inhibitory concentration) هلیکوباکتر پیلوری برای آنتی‌بیوتیک‌های مختلف توسط نوارهای E-test (AB Biodisk, Solana, Sweden) ارزیابی گردید.

مقدار MIC در ایزوله‌های هلیکوباکتر پیلوری که به مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی‌سیلین مقاوم بودند، به ترتیب بیشتر از ۴ میکروگرم در میلی‌لیتر، بیشتر یا مساوی ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر و بیشتر از ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر بود (۱۰).

یافته‌ها

سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای ۳۰ ایزوله‌ی

هلیکوباکتر پیلوری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف توسط روش‌های دیسک دیفیوژن و E-test تعیین شد، که در جدول ۱ ذکر شده است. تعداد سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری مقاوم به سه آنتی‌بیوتیک مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی‌سیلین در هر دو روش MDDM و E-test مشابه بود و تفاوتی نداشت.

ایزوله‌های هلیکوباکتر پیلوری مقاوم به کلاریترومایسین، دارای MIC برابر با ۸، ۴، ۲، ۲ و ۱/۵، سویه‌های مقاوم به مترونیدازول، دارای MIC مساوی ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۲۴، ۱۲، ۸، ۶ و سویه‌های مقاوم به آموکسی‌سیلین دارای MIC برابر با ۴ و ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بودند.

بحث

هلیکوباکتر پیلوری یک باکتری گرم منفی است که توانایی مقاومت به طیف وسیعی از داروهای ضد میکروبی را دارد. شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری در مناطق مختلف جغرافیایی متفاوت است و با مصرف آنتی‌بیوتیک ارتباط دارد (۱۱). روش‌های تعیین حساسیت مختلفی در شرایط آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گرفته‌اند که از جمله می‌توان به روش‌های Agar dilution، E-test و MDDM اشاره کرد.

در حال حاضر هیچ توصیه‌ی استانداردی برای سنجش این ارگانیسم سخت‌گیر وجود ندارد و معیارهای تفسیری برای تعیین حساسیت یا مقاومت باکتری هنوز استاندارد نشده‌اند. بنابراین، مشکلات متعددی برای سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری وجود دارد. استانداردسازی روش‌های سنجش بدین معنی که ساده و سریع باشند و بتوانند در آزمایشگاه‌ها به صورت معمول مورد استفاده قرار گیرند، این اجازه را می‌دهد تا شناسایی گونه‌های مقاوم سریع‌تر انجام شود و انتخاب روش‌های درمانی مؤثر که در حال حاضر مبرم‌ترین نیاز است، بهتر صورت گیرد (۱۲).

اشاره شد که روش مرجعی که برای تعیین حساسیت هلیکوباکترپیلوری در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها پیشنهاد شود، وجود ندارد (۱۳). با این حال، روش Agar dilution به عنوان استاندارد طلایی در CLSI (Clinical and laboratory standards institute) در نظر گرفته شده است. لیکن، این روش نیز نیازمند صرف وقت و کار فشرده می‌باشد (۱۴).

ثابت شده است که روش E-test یک روش دقیق برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ارگانیسم‌های سخت رشد مانند هلیکوباکترپیلوری است. این روش برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری توصیه شده است و نتایج MIC قابل مقایسه‌ای را با روش Agar dilution در اختیار قرار می‌دهد.

جدول ۱. مقایسه‌ی نتایج تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش‌های MDDM و E-test در ۳۰ ایزوله‌ی هلیکوباکتر پیلوری

روش	MDDM		E-test	
آنتی‌بیوتیک	حساس	مقاوم	حساس	مقاوم
مترونیدازول	۱۴ (۴۶/۶)	۱۶ (۵۳/۳)	۱۴ (۴۶/۶)	۱۶ (۵۳/۳)
کلاریترومایسین	۲۵ (۸۳/۳)	۵ (۱۶/۶)	۲۵ (۸۳/۳)	۵ (۱۶/۶)
آموکسی سیلین	۲۷ (۹۰)	۳ (۱۰)	۲۷ (۹۰)	۳ (۱۰)

MDDM: Modified disk diffusion method; E-test: Epsilometer test

به دلیل مقرون به صرفه نبودن روش E-test، استفاده از آن با محدودیت همراه است (۱۵، ۱۲). روش MDDM به دلیل سادگی کار و ارزان بودن، در هر محیط آزمایشگاهی برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به صورت مرسوم مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۶). در مطالعه‌ی حاضر، از روش‌های MDDM و E-test برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری استفاده شد.

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که از ۳۰ ایزوله‌ی هلیکوباکتر پیلوری که سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی روی آن‌ها صورت گرفت، در هر دو روش MDDM و E-test، ۵۳/۳ درصد به مترونیدازول، ۱۶/۶ درصد به کلاریترومایسین و ۱۰ درصد به آموکسی‌سیلین مقاوم بودند.

در مطالعه‌ی Mishra و همکاران نیز ارتباط بسیار خوبی بین نتایج روش‌های MDDM و E-test مشاهده گردید. در این مطالعه تطابق ۱۰۰ درصد برای آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین و تطابق ۹۵ و ۹۰ درصد به ترتیب برای مترونیدازول و کلاریترومایسین گزارش شد (۱۲).

در مطالعات متعددی ثابت شده است که اگر چه CLSI روش Agar dilution را به عنوان روش مرجع و انتخابی برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری توصیه کرده است (۱۷)، با این حال به دلیل محدودیت استفاده از آن و نیز به دلیل این که یک ارتباط خوب بین روش‌های MDDM و E-test وجود دارد، این دو، روش‌های بسیار خوبی جهت جایگزینی با روش Agar dilution محسوب می‌شوند (۱۸-۱۷).

مطالعات مختلف نشان داده است که روش MDDM جایگزین خوبی برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری، به خصوص به مترونیدازول، است. همچنین با توجه به مطالعات قبلی، انکوباسیون طولانی مدت قابلیت اطمینان را حتی زمانی که از E-test برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی استفاده می‌شود، در معرض خطر قرار می‌دهد (۱۲).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه ما نشان دادیم که استفاده از روش MDDM می‌تواند جایگزین روش E-test در تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی برای هلیکوباکتر پیلوری در شرایط In vitro باشد. بنابراین، با توجه به نتایج این مطالعه، روش MDDM به دلیل آسان، مقرون به صرفه بودن و عدم نیاز به وسایل و تکنیک‌های خاص برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری دارای اهمیت است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از استادان و همکاران گروه میکروب‌شناسی و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان اعلام می‌دارند.

References

1. Duck WM, Sobel J, Pruckler JM, Song Q, Swerdlow D, Friedman C, et al. Antimicrobial resistance incidence and risk factors among Helicobacter pylori-infected persons, United States. Emerg Infect Dis 2004; 10(6): 1088-94.
2. Fallahi GH, Maleknejad S. Helicobacter pylori culture and antimicrobial resistance in Iran. Indian J Pediatr 2007; 74(2): 127-30.
3. Hosseini E, Poursina F, de Wiele TV, Safaei HG, Adibi P. Helicobacter pylori in Iran: A

systematic review on the association of genotypes and gastroduodenal diseases. J Res Med Sci 2012; 17(3): 280-92.
4. Yamaoka Y. Mechanisms of disease: Helicobacter pylori virulence factors. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2010; 7(11): 629-41.
5. Debets-Ossenkopp YJ, Sparrius M, Kusters JG, Kolkman JJ, Vandenbroucke-Grauls CM. Mechanism of clarithromycin resistance in clinical isolates of Helicobacter pylori. FEMS Microbiol Lett 1996; 142(1): 37-42.
6. Taylor DE, Ge Z, Purych D, Lo T, Hiratsuka K. Cloning and sequence analysis of two copies of a 23S rRNA gene from Helicobacter pylori and association of clarithromycin resistance with 23S rRNA mutations. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41(12): 2621-8.
7. Tomatari FH, Mobarez AM, Amini M, Hosseini D, Talebi Bezmin Abadi A. Helicobacter pylori resistance to metronidazole and clarithromycin in dyspeptic patients in Iran. Iran Red Crescent Med J 2010; 12(4): 409-12.
8. Lang L, Garcia F. Comparison of E-test and disk diffusion assay to evaluate resistance of Helicobacter pylori isolates to amoxicillin, clarithromycin, metronidazole and tetracycline in Costa Rica. Int J Antimicrob Agents 2004; 24(6): 572-7.
9. Gerrits MM, van Vliet AH, Kuipers EJ, Kusters JG. Helicobacter pylori and antimicrobial resistance: molecular mechanisms and clinical implications. Lancet Infect Dis 2006; 6(11): 699-709.
10. E-test technical guide 8. Susceptibility testing of Helicobacter pylori. Solna, Sweden: AB Biodisk; 2000.
11. Sirous M, Mehrabadi JF, Daryani N, Eshraghi S, Hajikhani S, Shirazi M. Prevalence of antimicrobial resistance in Helicobacter pylori isolates from Iran. Afr J Biotechnol 2011; 9(36): 5962-5.
12. Mishra KK, Srivastava S, Garg A, Ayyagari A. Antibiotic susceptibility of Helicobacter pylori clinical isolates: comparative evaluation of disk-diffusion and E-test methods. Curr Microbiol 2006; 53(4): 329-34.
13. Alarcon T, Domingo D, Lopez-Brea M. Antibiotic resistance problems with Helicobacter pylori. Int J Antimicrob Agents 1999; 12(1): 19-26.
14. Glupczynski Y, Broutet N, Cantagrel A, Andersen LP, Alarcon T, Lopez-Brea M, et al. Comparison of the E test and agar dilution method for antimicrobial susceptibility testing of Helicobacter pylori. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2002; 21(7): 549-52.
15. Osato MS, Reddy R, Reddy SG, Penland RL, Graham DY. Comparison of the Etest and the NCCLS-approved agar dilution method to detect metronidazole and clarithromycin resistant Helicobacter pylori. Int J Antimicrob Agents 2001; 17(1): 39-44.
16. Yakoob J, Fan X, Hu G, Liu L, Zhang Z. Antibiotic susceptibility of Helicobacter pylori in the Chinese population. J Gastroenterol Hepatol 2001; 16(9): 981-5.
17. Perna F, Gatta L, Figura N, Ricci C, Tampieri A, Holton J, et al. Susceptibility of Helicobacter pylori to metronidazole. Am J Gastroenterol 2003; 98(10): 2157-61.
18. Khashei R, Shojaei H, Adibi P, Shavakhi A, Aslani MM, Daei Naser A. Genetic diversity and drug resistance of Helicobacter pylori strains in Isfahan, Iran. Iran J Basic Med Sci 2008; 11(3): 174-82.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 30.11.2012
Vol. 30, No. 222, 4th Week, March 2013
Accepted: 03.02.2013

Comparative Evaluation of Disk Diffusion and E-Test in Determining the Susceptibility of Helicobacter Pylori to Metronidazole, Clarithromycin and Amoxicillin

Farzad Khademi[1], Jamshid Faghri PhD[2], Farkhondeh Poursina PhD[3], Masoumeh Madhi[1], Peyman Adibi MD[4], Hajieh Ghasemian Safaei PhD[5]

Original Article

Abstract

Background: Increasing prevalence of antibiotic-resistant Helicobacter pylori strains have severe consequences. It is also the most important factor in determining the outcome of treatment with antibiotics. Therefore, using reliable, easy, fast, and inexpensive methods to determine of antibiotic susceptibility is crucial. Currently, there is no standard recommended for testing these fastidious organisms and interpretive criteria for determining the susceptibility or resistance of bacteria is not yet standardized. Among conventional methods to assess antibiotic susceptibility of bacteria are modified disk diffusion method (MDDM) and E-test. The aim of this study was to compare the results of MDDM and E-test in determining the susceptibility of Helicobacter pylori to metronidazole, clarithromycin, and amoxicillin.

Methods: We collected 30 Helicobacter pylori isolates from biopsy specimens. MDDM and E-test were then used to detect the susceptibility of the isolates to metronidazole, clarithromycin, and amoxicillin. The results were compared according to the Clinical and Laboratory Standards Institute protocols.

Findings: In both MDDM and E-test, Helicobacter pylori resistance to metronidazole, clarithromycin, and amoxicillin was 53.3%, 16.6%, and 10.0%, respectively. In addition, the minimum inhibitory concentration was determined for isolates resistant to three antibiotics.

Conclusion: MDDM and E-test had similar results regarding the susceptibility of Helicobacter pylori to metronidazole, clarithromycin, and amoxicillin. Thus, for determination of antibiotic resistance of Helicobacter pylori isolates, disk diffusion method could be replaced with E-test.

Keywords: Helicobacter pylori, Antibiotic resistance, Modified disk diffusion method, E-test

Citation: Khademi F, Faghri J, Poursina F, Madhi M, Adibi P, Ghasemian Safaei H. **Comparative Evaluation of Disk Diffusion and E-Test in Determining the Susceptibility of Helicobacter Pylori to Metronidazole, Clarithromycin and Amoxicillin.** J Isfahan Med Sch 2013; 30(222): 2513-9

* This paper is derived from a MSc thesis No. 390333 in Isfahan University of Medical Sciences.

1- MSc Student, Department of Microbiology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Instructor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Professor, Department of Gastroenterology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
5- Associate Professor, Department of Bacteriology and Virology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Hajieh Ghasemian Safaei PhD, Email: ghasemian@med.mui.ac.ir