

بررسی آلودگی مواد مورد سوء مصرف به باسیلوس‌ها

دکتر رضا حسینی دوست*، دکتر مریم اخگری**، هانیه کتابی***

* استاد گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی تهران

** استادیار سم شناسی و داروشناسی، مرکز تحقیقات پزشکی قانونی، سازمان پزشکی قانونی، تهران

*** کارشناس ارشد سم شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی، تهران

چکیده

زمینه و هدف: آلودگی‌های میکروبی مواد غیر قانونی و مورد سوء مصرف شایع است. بیماری‌های عفونی مانند اندوکاردیت، استئو آرتروز و باکتری می در معتادان تزریقی دیده می‌شود. باسیلوس‌ها دسته وسیعی از باکتری‌ها را شامل می‌شوند. از این خانواده دو گونه با نام‌های باسیلوس آنتراسیس (عامل بیماری سیاه زخم) و باسیلوس سرئوس (عامل ایجاد عفونت‌های غذایی) از نظر پزشکی حائز اهمیت می‌باشند. بنابراین بررسی مواد غیر قانونی از نظر وجود آلودگی‌های باکتریایی ضروری به نظر می‌رسد. هدف از انجام این تحقیق بررسی آلودگی مواد مورد سوء مصرف به باسیلوس‌ها بود.

روش بررسی: بیست و چهار نمونه مواد مورد سوء مصرف شامل هروئین، تریاک، آمفتامین و مت‌آمفتامین که مورد بررسی‌های کامل سم شناسی قرار گرفته بودند، به صورت تصادفی جهت انجام مطالعه انتخاب شدند. تمامی نمونه‌ها با استفاده از روش‌های استاندارد باکتریولوژیک مورد آزمایش قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج حاصل از کشت اولیه و آزمون‌های تاییدی نشان دادند که تمامی نمونه‌ها دارای آلودگی باکتریایی از خانواده باسیلاسه (آنتراسیس، سرئوس و سوبتیلیس) بودند.

بحث و نتیجه گیری: با توجه به ترکیبات مختلف مواد مورد سوء مصرف و نیز فرایندهای گوناگون تهیه و توزیع این مواد در شرایط غیر استریل و غیر بهداشتی، ایجاد انواع آلودگی را در آن‌ها توجیه می‌کند. بنابراین انجام آزمون‌های غربالی به صورت متناوب و گزارش علمی آن‌ها ضمن آگاهی به جامعه پزشکی برای آموزش قربانیان اعتیاد و خانواده‌های آن‌ها مفید خواهد بود.

کلید واژه‌ها: هروئین، آمفتامین، مت‌آمفتامین، تریاک، باسیلوس، آلودگی میکروبی

تایید مقاله: ۹۴/۳/۲۶

وصول مقاله: ۹۳/۱۲/۳

نویسنده پاسخگو: دکتر مریم اخگری، مرکز تحقیقات پزشکی قانونی، سازمان پزشکی قانونی، تهران

شماره تماس: ۰۲۱-۵۶۵۲۴۷۶۳

akhgari1349@yahoo.com

مقدمه

باکتریایی در خون^۱، اندوکاردیت^۲ و عفونت‌های پوستی، استخوانی و بافت نرم ارتباط مستقیم با استفاده از مواد مورد سوء مصرف به شکل تزریقی دارند (۱). در بسیاری از موارد علت بستری افراد معتاد به علت ابتلا به عفونت بافت‌های مختلف می‌باشد (۲). میکروارگانیزم‌های گوناگونی در نمونه‌های تریاک، هروئین و آمفتامین یافت شده‌اند. طبق مطالعات موجود باسیلوس‌ها از دسته باکتری‌هایی هستند که سبب آلودگی این مواد می‌شوند. آنتراکس پوستی از عوارض تماس با باسیلوس آنتراسیس می‌باشد. این شکل بیماری در ۹۵٪ موارد آلودگی به باسیلوس آنتراسیس دیده می‌شود. آنتراکس گوارشی در اثر مصرف

مواد مورد سوء مصرف همواره در شرایط غیر استاندارد، غیر استریل و معمولاً در آزمایشگاه‌های زیر زمینی^۱ تولید شده و توزیع و عرضه آن‌ها نیز تابع هیچ‌یک از قوانین مصوب نمی‌باشد. شرایط نامناسب تولید و توزیع این مواد زمینه را جهت رشد عوامل بیماری‌زا مانند میکروارگانیزم‌ها فراهم می‌کند. آلودگی‌های باکتریایی در بین افرادی که از این مواد استفاده می‌کنند بسیار شایع است، به خصوص اگر این مواد به شکل تزریقی مورد استفاده قرار گیرند. ایجاد عفونت‌های

2bacteraemia
3Endocarditis

1Clandestine laboratories

سپسیس جهت اطلاع رسته بهداشتی، درمانی صادر شد (۱۱). با توجه به گزارشات رسمی و غیر رسمی مبنی بر ایجاد عفونت‌های مختلف در بافت نرم و سایر بافت‌ها در افرادی که مواد غیر قانونی را به صورت تزریقی استفاده می‌کنند، مطالعه حاضر طراحی گردید. ایجاد آلودگی میکروبی توسط تمامی میکروارگانیسم‌ها حائز اهمیت است. به عنوان گام نخست، مطالعه بر روی آلودگی نمونه‌ها از نظر وجود باسیلوس‌ها آغاز گردید. هدف از انجام این تحقیق بررسی آلودگی مواد مورد سوء مصرف (هروئین، کراک، تریاک و ترکیبات شبه آمفتامینی) به باسیلوس‌ها می‌باشد.

روش بررسی

۲۴ نمونه از مواد مورد سوء مصرف شامل هروئین، تریاک، آمفتامین و مت‌آمفتامین ارجاعی به آزمایشگاه سم‌شناسی پزشکی قانونی استان تهران مورد آزمایشات میکروبی قرار گرفت. از هر یک از نمونه‌ها در شرایط کاملاً استریل غلظت ۱ mL/mg تهیه شد. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط آماده شده (به شکل سوسپانسیون یا محلول) به پلیت حاوی محیط گشت بلاد آگار تلقیح شده، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور در شرایط هوایی گرم‌خانه گذاری شدند. پس از ۲۴ ساعت کلنی‌هایی که دارای مشخصات باسیلوس‌ها بودند انتخاب شده و جهت انجام آزمون‌های تأییدی بیوشیمیایی و سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی آماده شدند. از کلنی‌های ایجاد شده لام میکروسکوپی تهیه شد. جهت اطمینان از وجود باسیلوس‌ها رنگ آمیزی گرم، آزمون کاتالاز، آزمون هیدرولیز ژلاتین، آزمون تخمیر قندها شامل گلوکز، گزیزوز، مانیتول و آزمون همولیز بتا مطابق با روش‌های استاندارد باکتریولوژیک انجام شد (۱۱-۱۳).

الف) رنگ آمیزی گرم

رنگ آمیزی گرم^۱ مطابق با روش ارائه شده توسط Barson (۱۹۹۶) انجام شد (۱۲). در این مرحله باکتری‌های گرم منفی به رنگ قرمز یا صورتی در آمده و باکتری‌های گرم مثبت به رنگ آبی یا بنفش دیده شدند.

ب) آزمون کاتالاز

آزمون کاتالاز^{۱۱} مطابق با روش ارائه شده توسط Barson (۱۹۹۶) انجام شد (۱۲). در صورت تشکیل حباب اکسیژن نتیجه آزمون کاتالاز مثبت تلقی می‌شود.

ج) آزمون هیدرولیز ژلاتین^{۱۲}

مواد خوراکی آلوده به باسیلوس آنتراسیس ایجاد می‌گردد، در حالی که آنتراکس ریوی از استنشاق گرد و غبار حاوی مقادیر بالا از اسپور باکتری‌ها حاصل می‌شود. سایر گونه‌های باسیلوس مانند باسیلوس سرئوس و سوبتیلیس ایجاد باکتری‌می، سیتی‌سمی، اندوکاردیت، مننژیت، عفونت زخم‌ها، عفونت دستگاه ادراری و تناسلی، گوش، چشم، دستگاه تنفسی و گوارشی می‌کنند. باسیلوس سرئوس دو نوع سندرم مسمومیت غذایی ایجاد می‌نماید. نوعی از این مسمومیت به سرعت آغاز شده و با تهوع و استفراغ همراه می‌باشد و در نوع تأخیری آن اسهال شایع است (۳).

اگر چه مطالعات متعددی جهت بررسی آلودگی میکروبی مواد مورد سوء مصرف در سایر کشورها انجام شده است (۲ و ۴)، اما بررسی جامعی بر روی آلودگی میکروبی مواد مورد سوء مصرف در ایران صورت نگرفته است. ایجاد عفونت‌های بافت نرم در افرادی که انواع مواد را به اشکال تزریقی استفاده می‌کنند در ایران بسیار شایع است. طبق گزارش اداره سلامت جوانان وابسته به معاونت سلامت وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی عفونت و زخم‌های شدید در محل تزریق آمفتامین‌ها گزارش شده است (۵).

آلودگی‌های میکروبی و به خصوص آلودگی‌های باکتریایی مانند آلودگی به باسیلوس‌ها و کلسترییدیوم بوتولینوم در مواد مورد سوء مصرف در مطالعه Cole و همکاران مورد بحث قرار گرفته است (۶). باسیلوس‌ها باکتری‌های هوازی و یا بی‌هوازی اختیاری، گرم مثبت، غیر متحرک، میله‌ای شکل و از خانواده باسیلاسه هستند و اکثراً به شکل زنجیر به دنبال یکدیگر قرار می‌گیرند. برخی از باسیلوس‌ها اسپور تولید می‌کنند. اسپورهای باسیلوس‌ها به حرارت ملایم مقاوم بوده، اما در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه از بین می‌روند. باسیلوس‌ها انواع مختلفی دارند. باسیلوس سرئوس^۴، باسیلوس آنتراسیس^۵، باسیلوس سوبتیلیس^۶، باسیلوس تورینجینسیس^۷ و باسیلوس میکوتیدیس^۸، از خانواده باسیلاسه هستند. باسیلوس سرئوس تولید کننده‌ی انتروتوکسین‌های مولد اسهال و تهوع بوده و قادر به ایجاد سندرم اسهال و تهوع می‌باشد. بیماری سیاه زخم^۹ توسط باسیلوس آنتراسیس ایجاد می‌شود. باسیلوس سوبتیلیس موجب فساد مواد غذایی و آشمایدنی می‌گردد (۷). آلودگی مواد مورد سوء مصرف به باسیلوس‌ها در مطالعات گذشته در سایر کشورها دیده می‌شود (۸-۱۰). در گزارشات موجود، باسیلوس سرئوس سبب سلولیت در فرد مصرف کننده این ماده شده است (۸). با توجه به شیوع بالای ابتلا به بیماری سیاه زخم در معتادان تزریقی در فاصله زمانی دسامبر ۲۰۰۹ الی مارس ۲۰۱۰ هشدار عمومی در کشورهای انگلستان، آلمان و دانمارک ایجاد شد. در این هشدار عمومی دستورالعمل‌هایی با مضمون نحوه برخورد با معتادان مبتلا به عفونت‌های بافت نرم و

- 4 *Bacillus Cereus*
- 5 *Bacillus anthracis*
- 6 *Bacillus subtilis*
- 7 *Bacillus thuringiensis*
- 8 *Bacillus mycoides*
- 9 *Anthrax*

- 10 Gram Staining
- 11 Catalase test
- 12 Gelatinhydrolysis test

شد (۱۴).

(و) تست سنجش حساسیت باکتری به پنی‌سیلین^{۱۸}
جهت انجام آزمون حساسیت باکتری به پنی‌سیلین، از روش Jorgensen و همکاران (۲۰۰۹) استفاده شد (۱۵). قطر حساسیت باکتری‌ها به پنی‌سیلین اندازه‌گیری شد. قطر حساسیت از روی هاله عدم رشد اطراف باکتری به دست می‌آید.

یافته‌ها

(د) آزمون تخمیر قندها^{۱۳}

باکتری باسیلوس قادر به تخمیر برخی از قندها می‌باشد. به عبارتی توانایی تخمیری باکتری‌ها معیار با ارزشی برای شناسایی آن‌ها است. محیط کشت Phenol Red Broth Base محیط کشت کامل و حاوی مواد مغذی بوده و به عنوان محیط کنترل منفی جهت انجام آزمون‌های تخمیری و به عنوان پایه جهت افزودن ماده قندی یا مشتقات آن‌ها به کار رود. محصول نهایی تخمیر مشتقات قندی اسیدهای آلی می‌باشد. اسیدهای آلی تولید شده رنگ شناساگر pH به نام Phenol Red موجود در محیط کشت را از رنگ قرمز به رنگ زرد تبدیل می‌کند. جهت انجام تست تخمیر قندها از روش ارائه شده توسط Vashist و همکاران (۲۰۱۳) استفاده شد (۱۳).

نتایج حاصل از رنگ آمیزی گرم

پس از انجام رنگ آمیزی گرم، لام‌ها زیر میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ مورد بررسی قرار گرفتند. باسیل‌هایی که به رنگ بنفش - آبی با دو انتهای گرد و با آرایش تک‌تک، دو تایی و در مواردی به شکل زنجیره کوتاه و یا به شکل زنجیره پشت سر هم قرار گرفته بودند به عنوان کلنی باسیلوس انتخاب شدند. پس از بررسی‌های میکروسکوپی بر روی ۲۴ نمونه، ۲۴ کلنی به شکل باسیلوس‌ها در محیط کشت تمامی نمونه‌ها مشاهده شدند. جهت تأیید وجود باسیلوس‌ها آزمون‌های بیوشیمیایی متعددی بر روی کلنی‌ها انجام شد.

نتایج آزمون کاتالاز

تمامی کلنی‌های تازه تهیه شده از ۲۴ نمونه (۲۴ ساعته) با انجام این تست حباب تشکیل دادند که می‌تواند ناشی از متصاعد شدن گاز اکسیژن باشد. بنابراین تمامی ۲۴ نمونه از نظر وجود آنزیم کاتالاز مثبت بودند.

نتایج آزمون هیدرولیز ژلاتین

نتایج حاصل از آزمون هیدرولیز ژلاتین در مورد تمامی نمونه‌ها مثبت بود و تمامی باکتری‌ها دارای آنزیم ژلاتیناز بودند.

نتایج آزمون تخمیر قندها

نتایج حاصل از آزمون تخمیر قندهای گلوکز، گزبلوز و مانیتول در مورد تمامی نمونه‌ها مثبت بود و تغییر رنگ محیط کشت از قرمز به زرد در مورد تمامی نمونه‌ها دیده شد.

نتایج آزمون پدیده همولیز

نتایج حاصل از بررسی پدیده همولیز نشان داد که ۱۱ نمونه (۴۵/۸۳٪) در این آزمون دارای نتایج مثبت بودند و قطر هاله همولیز از ۶۵-۱۲ متغیر بود.

نتایج حاصل از آزمون‌های بیوشیمیایی وجود باسیلوس‌ها از خانواده آنتراسیس، سرئوس و سوبتیلیس را در نمونه‌های مواد مورد سوء

18 Penicillin sensitivity test

13 Carbohydrate fermentation test
14 Hemolysis test
15 Blood Agar
16 hemolysin
17 non - hemolytic

مصرف تایید می‌کند.

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان دادند که مواد مورد سوء مصرف به میکروب‌ها از خانواده باسیلوسها آلوده می‌باشند. مطالعات متعددی ایجاد عفونت‌های بافت نرم و سایر بافت‌ها را در مصرف کنندگان مواد به صورت وریدی به اثبات رسانده‌اند (۶). حل کردن مواد در حلال‌های غیر استریل و حاوی میکروارگانیسم‌ها ورود انواع باکتری‌ها را به جریان خون عمومی تسهیل می‌کند. به علاوه آلودگی مواد مورد سوء مصرف به انواع میکروارگانیسم‌ها ایجاد عفونت را در افراد وابسته به این مواد توجیه می‌کنند (۸ و ۱۶ و ۱۷). در بررسی‌های به عمل آمده در ایران مطالعات اختصاصی در خصوص آلوده بودن مواد مورد سوء مصرف به میکروارگانیسم‌ها انجام نشده است. نتایج نشان دادند که از ۲۴ نمونه مورد بررسی از دسته‌های مختلف مواد مورد سوء مصرف (اوپیوئیدهای طبیعی و نیمه صناعی و محرک‌های شبه آمفتامینی) همگی آلوده به باسیل‌های گرم مثبت بودند.

در میان انواع آلودگی‌های میکروبی، باسیلوس‌ها به علت اسپورزا بودن و ایجاد بیماری‌های خطرناک مانند سیاه زخم از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند.

یکی از مهم‌ترین نکاتی که در ساخت و نگهداری داروها باید بدان توجه نمود حفظ کیفیت دارو و جلوگیری از آلودگی میکروبی داروها می‌باشد. داروهای تقلبی و مواد مورد سوء مصرف که در شرایط غیر استاندارد و بدون هیچ‌گونه نظارت تهیه می‌شوند، حاوی آلودگی‌های میکروبی بیش از حد مجاز هستند و کیفیت این مواد مورد ارزیابی قرار نمی‌گیرد (۱۸). هم چنین مصرف کنندگان این مواد از خطرات مصرف آن‌ها بی‌خبر هستند. از آن جایی که میزان عرضه و تقاضای مواد مورد سوء مصرف در ایران بالا می‌باشد، بالطبع آلودگی میکروبی افراد مصرف کننده و بیماری‌های عفونی متعاقب آن نیز دارای شیوع بالایی است. از انواع باکتری‌های موجود در هروئین می‌توان به باسیلوس آنتراسیس اشاره نمود (۹). اسپور باکتری آنتراسیس می‌تواند از طریق تزریق هروئین و یا استنشاق آن از طریق دود کردن^{۱۹} و یا تدخین^{۲۰} وارد بدن شود. هروئین آلوده به باکتری از نظر ظاهری تفاوتی با سایر هروئین‌ها نداشته و اسپور باسیلوس با چشم غیر مسلح قابل رؤیت نیست (۱۶).

در مطالعه‌ای که به مدت ۶ سال در کشور اسپانیا انجام شد، ۳۵ مورد آرتريت عفونی در معتادان به هروئین تزریقی دیده شد. در بررسی‌های به عمل آمده علت ایجاد آرتريت عفونی استافیلوکوکوس اورئوس^{۲۱} گزارش شد (۲). اندوکار دیت و استئومیلیت در مصرف کنندگان هروئین در مطالعه Ciccarone گزارش شده است (۱۹). علاوه بر باسیلوس‌ها سایر میکروارگانیسم‌ها نیز در مواد مورد سوء مصرف یافت

شده است. McLauchlin و همکاران در سال ۲۰۰۲ هفده گونه باکتری را در ۵۸ نمونه هروئین شناسایی نمودند (۲۰). Dunbar و Harruff در مطالعه‌ای ده ساله دریافتند که عفونت بافت نرم^{۲۲} می‌تواند ناشی از مصرف هروئین‌های آلوده به باکتری‌ها باشد (۲۱). مطالعه Mulleague و همکاران در انگلستان بر روی بیوپسی سرم معتادان به هروئین بیانگر آلودگی به کلستریدیوم بوتولینوم بود (۲۲).

آزمایشات انجام شده به عنوان روش‌های تأییدی بر وجود باسیلوس‌ها در نمونه‌های مورد بررسی صحت گذاشت. باسیلوس‌ها باکتری‌هایی هستند که فعالیت آنزیم کاتالاز در آن‌ها مثبت است (۲۳). در مطالعه حاضر نیز در تمامی ۲۴ نمونه فعالیت آنزیم کاتالاز مثبت بود.

آزمون هیدورولیز ژلاتین در تمامی نمونه‌ها مثبت بود و این امر نشان دهنده فعالیت آنزیم ژلاتیناز در باسیلوس‌های موجود در موارد مورد سوء مصرف می‌باشد. باسیلوس‌های آنتراسیس و سرئوس قادر به تخمیر گلوکز بوده و این فعالیت در مورد باسیلوس سوبتیلیس در مورد تخمیر قندهای گزیلوز و مانیتول دیده می‌شود (۲۴). تمامی ۲۴ نمونه مورد آزمایش قادر به تخمیر هر سه قند بودند که می‌تواند گویای وجود باکتری‌های خانواده باسیلاسه (گونه‌های آنتراسیس، سرئوس و یا سوبتیلیس) در این نمونه‌ها باشد. در مطالعات استاندارد باکتربولوژیک باسیلوس‌های سوبتیلیس و سرئوس در محیط کشت بلاد آگار همولیز بتا ایجاد می‌کنند و این در حالی است که برخی از انواع باسیلوس آنتراسیس همولیز گاما (غیر همولیتیک) ایجاد می‌نمایند (۱۴). نتایج حاصل از انجام آزمون همولیز در محیط کشت بلاد آگار نشان داد که ۱۱ نمونه (۴۵/۸۳٪) دارای همولیز آلفا و بتا بودند (گونه‌های سوبتیلیس و سرئوس) و در ۱۳ مورد (۵۴/۱۷٪) باکتری‌ها غیر همولیتیک بودند (گونه آنتراسیس). نتایج حاصل وجود باکتری‌های خانواده باسیلاسه را تایید می‌کند.

در مطالعه انجام شده ۷۵٪ نمونه‌ها نسبت به پنی‌سیلین مقاوم بوده و ۲۵٪ آن‌ها به پنی‌سیلین حساسیت نشان دادند. باسیلوس آنتراسیس به پنی‌سیلین حساس بوده و باسیلوس سرئوس نسبت به پنی‌سیلین مقاومت نشان می‌دهد (۱۵). نتایج حاصل از حساسیت به پنی‌سیلین نیز وجود باسیلوس‌ها از خانواده آنتراسیس را تایید کرد.

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم امکان جدا سازی و تشخیص اعضای خانواده باسیلوس‌ها و سایر باکتری‌ها اشاره نمود. پیشنهاد می‌شود در صورت وجود امکانات آزمایشگاهی بررسی‌های جامع‌تر از نظر وجود سایر باکتری‌ها مانند کلستریدیوم بوتولینوم و ... صورت گیرد.

19 Smoking
20 Snorting
21 Staphylococcus aureus

References

- 1- Cho KT, Richardson MM, Kirkbride KP, McNevin D, Nelson M, Pianca D, et al. Recovery and identification of bacterial DNA from illicit drugs. *Forensic Sci Int*. 2014 Feb; 235: 78-85.
- 2- Brancós MA, Peris P, Miró JM, Monegal A, Gatell JM, Mallolas J, et al. Septic arthritis in heroin addicts. *Semin Arthritis Rheum*. 1991 Oct; 21(2): 81-7. Review.
- 3- Baron S, editor. *Bacillus*. In: *Medical Microbiology*. 4th ed. The University of Texas Medical Branch at Galveston: NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health; 1996.
- 4- Pullirsch D, Bellemare J, Hackl A, Trottier YL, Mayrhofer A, Schindl H, et al. Microbiological contamination in counterfeit and unapproved drugs. *BMC Pharmacol Toxicol*. 2014 Jun 26; 15:34.
- ۵- شیشه و مواد محرک و روانگردان. اداره سلامت جوانان، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی. اخذ شده از: <http://javan.behdasht.gov.ir/index.aspx?siteid=394&pageid=51816>
- 6- Cole C, Jones L, McVeigh J, Kicman A, Syeed Q and Bellis M (2010) Cut: a guide to adulterants, bulking agents and other contaminants found in illicit drugs. Liverpool: Liverpool John Moores University. Available from: www.cph.org.uk/showPublication.aspx?pubid=632
- 7- *Bacillus*. Available from: <http://en.wikipedia.org/wiki/Bacillus>.
- 8- Dancer SJ, McNair D, Finn P, Kolsto AB. *Bacillus cereus* cellulites from contaminated heroin. *J Med Microbiol*. 2002 Mar; 51(3): 278-81.
- 9- Ringertz SH, Høiby EA, Jensenius M, Maehlen J, Caugant DA, Myklebust A. Injection anthrax in a heroin skin-popper. *Lancet* 2000 Nov; 356 (9241): 1574-5.
- 10- Ramsay CN, Stirling A, Smith J, Hawkins G, Brooks T, Hood J; NHS GGC; Scottish National Outbreak Control Teams. An outbreak of infection with *Bacillus anthracis* in injecting drug users in Scotland. *Euro Surveill*. 2010 Jan; 15(2). pii: 19465. Erratum in: *Euro Surveill*. 2010; 15(3). pii: 19469.
- 11- Grunow R, Klee SR, Beyer W, George M, Grunow D, Barduhn A, et al. Anthrax among heroin users in Europe possibly caused by same *Bacillus anthracis* strain since 2000. *Euro Surveill*. 2013 Mar 28; 18 (13). pii: 20437
- 12- Baron S, editor. *Bacillus*. In: *Medical Microbiology*. 4th ed. The University of Texas Medical Branch at Galveston: NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health; 1996.
- 13- Vashist H, Sharma D, Gupta A. A review on commonly used biochemical test for bacteria. *Inov J Life Sci*. 2013; 1(1): 1-7.
- 14- Hemolysis (microbiology). Available from: [http://en.wikipedia.org/wiki/Hemolysis_\(microbiology\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Hemolysis_(microbiology)).
- 15- Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clin Infect Dis*. 2009 Dec 1; 49(11): 1749-55.
- 16- Anthrax and heroin users: what workers need to know? Produced by Scottish drugs forum in association with health protection Scotland. Available from URL: http://www.sdf.org.uk/index.php/download_file/view/262/183/.
- 17- Pullirsch D, Bellemare J, Hackl A, Trottier YL, Mayrhofer A, Schindl H. Microbiological contamination in counterfeit and unapproved drugs. *BMC Pharmacol Toxicol*. 2014 Jun 26; 15:34.
- 18- Mugoyela V, Mwambete KD. Microbial contamination of non sterile pharmaceuticals in public hospital settings. *The Clin Risk Manage*. 2010 Oct; 6: 443-8.
- 19- Ciccarone D. Heroin in brown, black and white: structural factors and medical consequences in the US heroin market. *Int J Drug Policy*. 2009 May; 20(3): 277-82.
- 20- McLaughlin J, Mithani V, Bolton FJ, Nichols GL, Bellis MA, Syeed Q, et al. An investigation into the microflora of heroin. *J Med Microb*. 2002; 51: 1001-8.
- 21- Dunbar NM, Harruff RC. Necrotizing fasciitis: Manifestations, microbiology and connection with black tar heroin. *J Forensic Sci*. 2007; 52(4): 920-3.
- 22- Mulleague L, Bonner SM, Samuel A, Nichols P, Khan, M, Shaw S, et al. Wound botulism in drug addicts in the United Kingdom. *Anesthesia*. 2001; 56(2), 120-3.
- 23- Mahon, Lehman, & Manuselis, GRAM POSITIVE BACILLI. *Bacillus* sp. pages 369-373, University

of Nebraska 4th edition. Available from: <https://faculty.sau.edu.sa/filedownload/doc-2-pdf>.

24-Virtual microbiology textbook. Microbiology Laboratories, Microbes in our world and what

they do. Typical results for biochemical tests. Available from:

<http://inst.bact.wisc.edu/inst/index.php?module=book&type=user&func=displayarticle&aid=123>.

Identification of Microbial (*Bacillus* spp.) Contamination in Illicit Drugs

Reza Hosseini Doust*-Maryam Akhgari**†- Hanie Ketabi***

*MD, Microbiology Department, Islamic Azad University, Pharmaceutical Sciences (IAUPS), Tehran, Iran

**MD, Legal Medicine Research Center, Legal Medicine Organization, Tehran, Iran

***MSc Student, Islamic Azad University, Pharmaceutical Sciences (IAUPS), Tehran, Iran

Abstract

Background: Bacterial infections are a common risk associated with illicit drug using. Infectious diseases such as endocarditis, osteoarthritis and bacteraemia are common among injecting drug abusers. *Bacillus* species are among the most important bacterial species. Two *Bacillus* species, *Bacillus anthracis* (causes anthrax) and *Bacillus cereus* (causes food borne illness) are categorized to be important in medicine. Therefore it is necessary to survey illicit drugs for the presence of bacteria. The objective of the present study was to identify bacillus species in illicit drugs.

Methods: Twenty four samples of illicit drugs, including heroin, opium, amphetamine and methamphetamine were collected randomly from Forensic Toxicology Laboratory, Tehran, Iran. Standard culture, biochemical and bacteriological methods were used for isolation, characterization and determination of bacillus species.

Findings: All of the samples showed positive results for cultural and confirmatory bacteriological tests. All of the samples were contaminated with bacillus species.

Conclusion: Considering illicit drugs are produced and distributed in unsterile and unhygienic conditions, therefore, more experimental analysis also informing the medical society and would be beneficial for educating victims of abuse and their family.

Keywords: Heroin, Amphetamine, Methamphetamine, Opium, Bacillus, Microbial Contamination

Received: 22 Feb 2015

Accepted: 16 June 2015

†Correspondence: Legal Medicine Research Center, Legal Medicine Organization, Tehran, Iran

Tel: 098(21) 56524763

Email: akhgari1349@yahoo.com