

بررسی الگوی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی استافیلولوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه مرکزی کاشان

دکتر غلامرضا شجری^۱ . خانم دکتر رضوان منیری^۲

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به شیوع بالای عفونتهای استافیلولوکوسی و اهمیت مقاومت داروئی ناشی از آنها، این مطالعه به منظور تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سوبه‌ها استافیلولوکوس اورئوس جدا شده نمونه‌های کلینیکی ارسالی به آزمایشگاه مرکزی کاشان در نیمه اول سال ۱۳۷۷ انجام پذیرفت.

مواد و روشها: این مطالعه به روش توصیفی بر روی ۷۶ بیمار مراجعه کننده به آزمایشگاه مرکزی کاشان که در کشت ارسالی آنها استافیلولوکوس اورئوس رشد کرده بود، انجام شد. نمونه‌های ارسالی بر روی محیط‌های اختصاصی کشت داده شدند و تعیین هویت سوبه‌ها، از طریق تست‌های اختصاصی انجام شد. سپس تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی سوبه‌های جدا شده، به روش انتشار دیسک در برابر آنتی بیوتیکهای مربوطه در محیط مخصوص آنتی بیوتیک انجام گرفت و اطلاعات به دست آمده به روش آمار توصیفی ارائه شد.

یافته‌ها: از ۷۶ نمونه بررسی، بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی به ترتیب نسبت به اگزاسیلین (۹۶/۱)، کلوگزاسیلین (۶۳/۲)، سفالوتین (۲۳/۷) و انکومایسین (۱۸/۴) به دست آمد.

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: میزان مقاومت استافیلولوکوس اورئوس نسبت به اگزاسیلین و کلوگزاسیلین در کاشان بالاست. مطالعات تحلیلی برای تعیین ارتباط دقیق هریک از داروها و قضاوت آماری در مورد آنها با توجه به نقش عوامل درمانی قبلی، سن، جنس و نوع رژیم داروئی توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: مقاومت آنتی بیوتیکی، استافیلولوکوس اورئوس

سنگاپور بر روی عفونتهای باکتریایی پوست صورت گرفت، میزان مقاومت *S. aureus* نسبت به پنیسیلین و آمپیسیلین ۸۹/۵٪ گزارش شد(۴).

با توجه به میزان مقاومت بالای استافیلوکوکوس اورنوس نسبت به آنتیبیوتیک‌ها، جهت تعیین الگوی مقاومت آنتیبیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورنوس جدا شده، این تحقیق برروی نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه مرکزی کاشان در نیمه اول سال ۱۳۷۷ انجام شد.

مواد و روشها

در این پژوهش توصیفی، بیمارانی که به بخش میکروب شناسی ارجاع شده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. که ۷۶ نفر از این بیماران مبتلا به استافیلوکوکوس اورنوس بودند.

مواد و رسانیل لازم:

- سواب استریل، سوزن کشت، شعله گاز، لام، محلول‌های رنگ آمیزی گرم، روغن سدر، میکروسکوپ،...

- پلیت‌های حاوی انواع محیط‌های کشت انوزین متیلین بلور (*EMB*)، زلوز حاوی ۳-۵ درصد خون گوسفند (*BA*), زلور شکلاتی (*CA*) و محیط مولر هیتون آگار (*MH*).

- لوله‌ای در پیچ دار استریل حاوی ۵ سی سی محیط کشت مایع تریپتیکازسوی برات (*TSB*). - لوله شیشه‌ای حاوی سولفات پاریم ۰/۵ درصد استاندارد مک فارلن.

- آب اکسیژنه ۳ درصد برای انجام تست کاتالاز.

مقدمه

استافیلوکوکوس اورنوس (*S. aureus*) مهمترین پاتوژن انسانی جنس استافیلوکوکوس است که به علت قدرت تخریب بالا و مقاومت روزافرون آنها در برابر انواع داروهای ضدباکتریایی، به صورت یکی از نگرانی‌های عمده سلامت عمومی درآمده است. این ارگانیسم سردسته عوامل بوجود آورنده باکتریمی، عفونت زخمی جراحی، پرتوزهای حیاتی و نیز شایعترین عامل پدیده‌آورنده عفونت پوست و بافت‌های نرم است؛ به علاوه از نظر ایجاد عفونتهای بیمارستانی نیز در درجه دوم اهمیت قرار دارد(۱).

گسترش شدید و بی‌رویه مقاومت آنتیبیوتیکی *S. aureus* یکی از مشکلات عمده در علم پزشکی است بطوری که ۲۰ تا ۵۰ درصد استافیلوکوکوس اورنوس‌های جدا شده از زخمها و عفونتها، نسبت به انواع آنتیبیوتیک‌های معمول در درمان این عفونتها، مانند اریترومایسین، کلیندامایسین و لینکومایسین مقاوم شده‌اند. مقاومت در برابر کلرامفینیکل، آمینوگلیکوزیدها، متیسیلین و... نیز در حال افزایش است(۲)؛ بطوری که میزان مقاومت سویه‌های *S. aureus* در برابر متیسیلین امروزه در برخی از مؤسسات مراقبتهای پزشکی بیش از ۶۰٪ گزارش شده است(۱). مقاومت استافیلوکوک‌ها نسبت به پنیسیلین نیز به علت تولید آنزیم بتا- لاکتاماز در حال افزایش است به طوری که در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۸ در دانمارک انجام شد میزان مقاومت *S. aureus* نسبت به پنیسیلین بیش از ۹۰٪ گزارش شد(۳). در مطالعه دیگری که در سال ۱۹۹۸ در

S.aureus در نظر گرفته می‌شدند. سپس به وسیله لوب استریل ۳ تا ۴ کلینی از باکتری مورد نظر برداشته به محیط TSB انتقال داده به مدت ۳ تا ۴ ساعت در انکوباتور 37°C قرار داده می‌شدند تا کدورتی معادل ۵٪ استاندارد مک‌فارلنند حاصل شود؛ سپس به وسیله سواب استریل آغشته شده با سوپسانیسون میکروبی در محیط TSB، تمام سطح یک پلیت حاوی محیط مولر هیلتون آگار را در مقابل شعله گاز در تمام جهات استریک زده پس از دیسک‌گذاری و انکوباسیون به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت، قطر هاله عدم رشد به وسیله یک خطکش پلاستیکی نازک اندازه‌گیری نموده (روش استاندارد Kirby - Bauer) پس از مقایسه با اندازه‌های استاندارد شرکت سازنده

یوروفرنس (France-iomerx)، مقاومت آنتی‌بیوتیکی سوبهای جدا شده تعیین گردید(۵).

در این مطالعه، از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی معمول در درمان عفونتهاي استافیلوکوکي مانند اگرزاپلین ($1\mu\text{g}$)، کلوکرزاپلین ($5\mu\text{g}$)، و انکومایپلین ($30\mu\text{g}$) و سفالوتین ($30\mu\text{g}$) نهیه شده از شرکت‌های (پادتن طب) استفاده شد و از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی پنی‌سیلین ($10\mu\text{g}$) و جنتامایپلین ($10\mu\text{g}$)، تنها

جهت مقایسه استفاده شد.

داده‌های به دست آمده به روش آمار توصیفی به صورت جداول و نمودار ارائه شده است.

یافته‌ها

الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۷۶ سوبه استافیلوکوکوس ارئوس جداده از نمونه‌های کلینیکی، با توجه به محل ضایعه نوع آنتی‌بیوتیک در جدول و نمودار مربوطه ارائه شده

- لوله حاوی پلاسمای سیتراته رفیق شده خرگوش به نسبت ۱ به ۵ برای انجام تست کواگولاژ.

- انواع دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی تاریخ مصرف‌دار تهیه شده از شرکت‌های معتبر، تمام محلول‌ها و محیط‌های کشت مصرفی نیز دیسک نتی‌بیوتیکی تا قبل از مصرف در بخشال و در دمای

4°C نگهداری شدن. لوله حاوی ۰.۵٪ درصد استاندارد مک‌فارلنند قلع پیچی شده در یک محل دور از نور، در حرارت معمولی آزمایشگاه نگهداری شد و قبل از مقایسه آن با کدورت حاصل از رشد میکروبی در محیط TSB، Shker کاملاً یکنواخت می‌شد.

روش انجام کار:

از کلیه افراد مورد مطالعه با توجه به محل ضایعه به وسیله یک سواب یا سوزن و سرنگ استریل از زخم یا محل عفونت یک گسترش تهیه نموده به روش گرم رنگ‌آمیزی شد. نمونه دیگری نیز جهت کشت در محیط‌های اختصاصی، ژلور خوندار (BA)، ژلوز شکلاتی (CA) و EMB گرفته شد. کشت‌ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در انکوباتور 37°C نگهداری شدند، پس از این مدت ویژگی‌های ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک کلینی‌های رشد کرده روی محیط‌های کشت بررسی شده همراه با انجام تست‌های بیوشیمیایی اختصاصی کاتالاز و کواگولاژ، تعیین هویت شدند. کلیه نمونه‌هایی که دارای پیگمان زرد طلایی و همراه با همولیز بنا در محیط ژلوز خوندار بودند و در رنگ‌آمیزی گرم ظاهر خوش‌های و گرم مثبت داشتند و تست‌های کاتالاز و کواگولاژ آنها (به روش لوله‌ای) مثبت می‌شد به عنوان

در صد به دست آمد که با مطالعات انجام شده توسط این محققین کاملاً مطابقت دارد.

در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۹ در هنگ‌کنگ بر روی الگوی حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی استافیلولوکوک‌های عامل باکتریمی انجام شد، از ۲۰۳ نمونه استافیلولوکوک، ۱۸ نمونه آن نسبت به وانکومایسین مقاوم بودند(۶)؛ همچنین در مطالعه‌ای که در ایران در سال ۱۳۷۹ توسط دکتر رهبر و همکارانش بر روی ۹۲ نفر از پرسنل بیمارستانی که ناقل *S.aureus* در بینی خود بودند انجام شد، ۷۲/۶٪ سوبیه‌ها نسبت به وانکومایسین مقاوم بودند(۷)؛ در مطالعه دیگری که توسط دکتر ستاری و همکاران در دانشگاه علوم پزشکی تربیت مدرس در سال ۱۳۷۸ بر روی استافیلولوکوک‌های کواگولاز مثبت و کواگولاز منفی جدا شده از مواد لبني انجام شد، ۴/۲۲٪ نمونه نسبت به وانکومایسین مقاوم بودند(۸). در مطالعه ما میزان مقاومت نسبت به وانکومایسین ۱۸/۴٪ به دست آمد که با میزان مقاومت به دست آمده توسط محققین فوق همخوانی دارد.

در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۸ در سنگاپور انجام شد میزان مقاومت *S.aureus* نسبت به سفالکین و گلوکزاسیلین ۷/۰٪ گزارش شد(۴). در مطالعه‌ای که در ایران توسط دکتر ستاری و همکاران انجام شد میزان مقاومت *S.aureus* نسبت به سفالوتین ۲۸/۶٪ به دست آمد (۸)، همچنین در مطالعه دیگری که توسط خانم فاطمه زنایی و همکاران در سال ۱۳۷۷ بر روی سوبیه‌های *S.aureus* جدا شده از نمونه ادرار بیماران بستری در بیمارستان انجام شد، میزان مقاومت نسبت به سفالوتین، سفالکین و

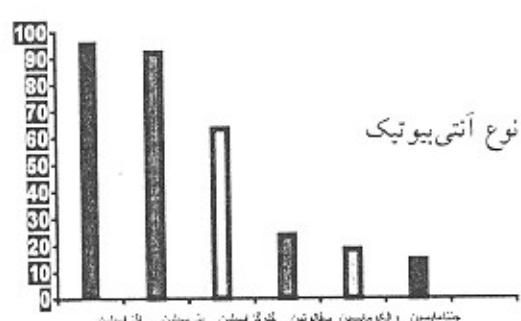
است، همانطور که ملاحظه می‌شود در بین ۷۶ نمونه مورد بررسی، بیشترین مقاومت آنتی‌پلیسین نسبت به اگزاسیلین به مقدار ۹۶/۱٪ و کمترین آن نسبت به وانکومایسین به میزان ۱/۶٪ مشاهده شد.

جدول ۱: توزیع فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی استافیلولوکوک اورنوس از نمونه‌های کلینیکی ارსالی به آزمایشگاه مرکزی کاشان بر حسب نوع آنتی‌بیوتیک و محل ضایعه

مکان ضایعه	وانکومایسین	سفالوتین	گلوکزاسیلین	جنتامایسین	پلیسین
زمهای سرگردان (۲۳٪)	۳۰/۵*	۲۶/۱	۶۰/۸	۹۵/۶	۱۳/۱
نسمهای سل (۲۰٪)	۱۶/۳	۲۶	۶۶/۶	۱۵/۴	۸۱/۹
رضهای نرم (۱۹٪)	۱۰/۶	۱۰۰	۱۷/۲	۱۵/۴	۸۴/۷
نرم (۱۸٪)	۱۲/۰	۶۲/۰	۳۷/۵	۸۷/۰	۱۲/۰

* اعداد به صورت درصد بیان شده است

نمودار ۱: توزیع ۱۳۷۶ نمونه استافیلولوکوکوس اورنوس بر حسب درصد مقاومت و به تفکیک نوع آنتی‌بیوتیک، کاشان در صد مقاومت



در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۸ در دانمارک بر روی عفونت پوست و بافت‌های نرم ناشی از *S.aureus* انجام شد، میزان مقاومت نسبت به پنی‌سیلین بیش از ۹۰٪ گزارش شد(۳). در مطالعه دیگری که در همین سال در سنگاپور انجام شد این میزان ۹۸/۵٪ گزارش شد(۴)؛ در مطالعه میزان مقاومت نسبت به پنی‌سیلین ۹۲/۱٪

میزان بروز این مقاومت‌ها، با توجه به نوع دزیم داروئی و نقش عوامل درمانی قبلی در ایران را طلب می‌کند.

از موارد فوق چنین برمنی آید که میزان مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به اگزاسیلین (۹۶/۱) و گلوکزاسیلین (۶۳/۲) بالاست ولی میزان مقاومت نسبت به وانکومایسین ونسبتاً پایین است (۱۸/۴). البته بروز نشانه‌های مقاومت نسبت به وانکومایسین هشدار جدی برای دست‌اندرکاران کادر درمانی است تا از استفاده بی‌رویه از این آنتی‌بیوتیک خودداری نموده در صورت عدم پاسخ بیمار نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های دیگر از وانکومایسین استفاده شود.

پیشنهادات:

به منظور جلوگیری از افزایش بروز مقاومت داروئی، جهت درمان هر نوع عفونت استافیلوکوکی، ابتداء تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی مناسب (آنتی‌بیوگرام) به روش استاندارد انجام شود. مطالعات تحلیلی بیشتر برای تعیین ارتباط دقیق هر یک از این آنتی‌بیوتیک‌ها و قضاوت آماری در مورد آنها توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

پدینوسله از زحمات پرسنل محترم آزمایشاء مرکزی کاشان جهت همکاری در اجرای تحقیق، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

سفازولین ۳/۳۳٪ به دست آمد (۹) که با میزان مقاومت به دست آمده در این مطالعه (۷/۲۳٪) تقریباً افزایش نشان می‌دهد.

در مطالعه زندی و همکاران در سال ۱۳۷۷ میزان مقاومت نسبت به گلوکزاسیلین ۶۱٪ (۹) و در مطالعه انجام شده توسط دکتر زرگری‌زاده و همکار در دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، همکار در گزارش شده میزان مقاومت نسبت به گلوکزاسیلین در این مطالعه ۶۳٪ به دست آمد.

در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۹ در آمریکا بر روی عفونت پوست و بافت‌های نرم ناشی از *S.aureus* انجام شد، میزان مقاومت نسبت به اگزاسیلین ۲۴٪ گزارش شد (۱۱) که با میزان مقاومت به دست آمده در ایران مطالعه (۹۶/۱)، کاملاً متفاوت است.

علت مقاومت بالای *S.aureus* نسبت به دو آنتی‌بیوتیک اگزاسیلین و گلوکزاسیلین در ایران، احتمالاً می‌تواند ناشی از تفاوت در پرتوکل درمانی در ایران و خارج از کشور باشد؛ بدین معنی که وانکومایسین در ایران دیرتر از کشورهای پیشرفته (آمریکا) و یا در حال پیشرفت (سنگاپور) وارد بازار مصرف شده در نتیجه آنتی‌بیوتیک‌های قبلی، که از جمله آنها اگزاسیلین و گلوکزاسیلین است، برای زمانهای طولانی‌تری در درمان عفونت‌های استافیلوکی استفاده شده است از نتیجه مقاومت باکتری نیز نسبت به این دو آنتی‌بیوتیک افزایش یافته است که البته مطالعات تحلیلی بیشتری را برای تعیین ارتباط دقیق هر یک از این آنتی‌بیوتیک‌ها، در

Reference

1- Fouci, Issilbacher; "erHarrison's Principles of Internal Medicine, Mc Graw Hill Publication ,14th Edition ,1998: 611-7

- 2- Jawetz, Melnick, Adelberg *Medical Microbiology*. California , 21 edition, 1998: 197-202
- 3- Espersenf. Resistance to antibiotics used in dermatological practice. *Br J Dermatol* 1998; Suppl. 4 - 8
- 4- Tan - HH,Tay - YK; Cah - Cl . Bacterial skin infections at a tertiary dermatological center . *J. Aug.* 1998; 39(8); 353 - 56
- 5 - Ellen Jo. Baron , Sydney M. Finegold ; *Diagnostic Microbiology ; Methods for Testing Antimicrobial ffective ness*. 8 th ed 1990 ; 171 – 194.
- 6 - Worf - SS;Ho PL . Bacteremia caused by staphylococci with inducible vancomycine heteroresistance. *Clin Infect Dis* 1999; 29(4):260 – 67.

- 7- دکتر محمد رهبر و همکاران. « بررسی فراوانی استافیلکوکوس مقاوم به متی سیلین در کارکنان مرکز آموزشی درمانی بیمارستان امام خمینی ارومیه در خرداد و تیرماه ۱۳۷۹. چهارمین کنگره میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، ۱۵ تا ۱۷ آبان، ۱۳۸۰، صفحه ۱۷۱ و ۱۷۲ .
- 8- دکتر مرتضی ستاری و همکاران. « بررسی آلدگی استافیلکوکوس مواد لبنی و تعیین الگوی مقاومت آنها در تهران. فصلنامه علوم پزشکی مدرس، ۱۳۷۸ دوره دوم، شماره ۲، صفحه ۶۳-۶۸ .
- 9- فاطمه زندی و همکاران. ردیابی مقاومت بنا - لاکتامتازی در بین سویه‌ها استافیلکوکوس اورنوس جدا شده از عفونت ادراری در عفونت‌های بیمارستانی. چهارمین کنگره میکروب شناسی، دانشکده دانشگاه شاهد، ۱۵ تا ۱۷ آبانماه ۱۳۸۰، صفحات ۸۸-۹۹ .
- 10- دکتر احمد زرگری‌زاده، بابک شمالی. بررسی مقاومت دارویی استافیلکوکهای کوآگولا منفی جدا شده از ادرار بیماران، در چهارمین کنگره میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، ۱۵ تا ۱۷ آبانماه ۱۳۸۰، صفحه ۹۰ و ۹۱ .

11 – Doern. GT, jone S-RN Bacterial pathogens isolated from patients with skin and soft tissue infections agn *Microbial Infect Dis* 1999 May; 34(1): 65 – 72.