

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

دکتر غلامرضا شجری<sup>۱</sup>، خانم دکتر رضوان منیری<sup>۲</sup>

### چکیده

سابقه و هدف: با توجه به شیوع بالای عفونتهای استافیلوکوکی و اهمیت مقاومت دارویی ناشی از آنها، این مطالعه به منظور تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌ها استافیلوکوکس 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 استافیلوکوکس اورئوس رشد کرده بود، انجام شد. نمونه‌های ارسالی بر روی محیطهای اختصاصی کشت داده شدند و تعیین هویت سویه‌ها، از طریق تست‌های اختصاصی انجام شد. سپس تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های جدا شده، به روش انتشار دیسک در برابر آنتی بیوتیکهای مربوطه در محیط مخصوص آنتی بیوگرام 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 انکوماسین (۱۸/۴٪) به دست آمد.

نتیجه گیری و توصیه‌ها: میزان مقاومت استافیلوکوکس اورئوس نسبت به اگزاسیلین و کلوگزاسیلین در کاشان بالاست. مطالعات تحلیلی برای تعیین ارتباط دقیق هر یک از داروها و قضاوت آماری در مورد آنها با توجه به نقش عوامل درمانی قبلی، سن، جنس و نوع رژیم دارویی توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: مقاومت آنتی بیوتیکی، استافیلوکوکس اورئوس

گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

## مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس (*S. aureus*) مهمترین پاتوژن انسانی جنس استافیلوکوکوس است که به علت قدرت تخریب بالا و مقاومت روزافزون آنها در برابر انواع داروهای ضدباکتریایی، به صورت یکی از نگرانی‌های عمده سلامت عمومی درآمده است. این ارگانیسم سردسته عوامل به‌وجودآورنده باکتریایی، عفونت زخمهای جراحی، پروتزیهای 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 ۵ تا ۲۰ درصد استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از زخمها و عفونتها، نسبت به انواع آنتی‌بیوتیکهای معمول در درمان این عفونتها، مانند اریترومايسين، کلیندامایسین و لینکومايسين مقاوم شده‌اند. مقاومت در برابر کلرامفنیکل، آمینوگلیکوزیدها، متی‌سلین و... نیز در حال افزایش است (۲)؛ بطوری که میزان مقاومت سویه‌های *S. aureus* در برابر متی‌سلین امروزه در برخی از مؤسسات مراقبتهای پزشکی بیش از ۴۰٪ گزارش شده است (۱). مقاومت استافیلوکوک‌ها نسبت به پنی‌سلین 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 پنی‌سلین بیش از ۹۰٪ گزارش شد (۳). در مطالعه دیگری که در سال ۱۹۹۸ در

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

با توجه به میزان مقاومت بالای استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، جهت تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده، این تحقیق بر روی 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 اورئوس بودند.

## مواد و وسایل لازم:

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

- پلیت های حاوی انواع محیط های کشت انوزین متیلین بلور (*EMB*)، ژلوز حاوی ۵-۳ درصد خون گوسفند (*BA*)، ژلوز شکلاتی (*CA*) و محیط مولر هیتون آگار (*MHI*).

- لوله‌ای در پیچ دار استریل حاوی ۵ سی‌سی محیط کشت مایع تریپتیکازسوی برات (*TSB*) - لوله شیشه‌ای حاوی سولفات باریم ۵٪ درصد استاندارد مک فارلند.

- آب اکسیژنه ۳ درصد برای انجام تست کاتالاز.

– لوله حاوی پلاسما سیترات رقیق شده خرگوش به نسبت ۱ به ۵ برای انجام تست کوآگولاز.

– انواع دیسک های آنتی بیوتیکی تاریخ مصرف دار تهیه شده از شرکت های معتبر.

تمام محلول ها و محیط های کشت مصرفی نیز دیسک آنتی بیوتیکی تا قبل از مصرف در یخچال و در دمای  $4^{\circ}C$  نگهداری شدند. لوله حاوی ۰.۵ درصد استاندارد مک فارلند 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 می شد.

#### 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 رنگ آمیزی شد. نمونه دیگری نیز جهت کشت در محیط های اختصاصی، ژلور خون دار (*BA*)، ژلوز شکلاتی (*CA*) و *EMB* گرفته شد. کشت ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در انکوباتور  $37^{\circ}C$  نگهداری شدند، پس از این مدت ویژگی های ماکروسکوپی و میکروسکوپی کلیه های رشد کرده روی محیط های کشت بررسی شده همراه با انجام تست های بیوشیمیایی اختصاصی کاتالاز و کوآگولاز، تعیین هویت شدند. کلیه نمونه هایی که دارای پیگمان زرد طلایی و همراه با همولیز بنا در محیط ژلوز خون دار بودند و در رنگ آمیزی گرم ظاهر خوشه ای و گرم مثبت داشتند و تست های کاتالاز و کوآگولاز آنها (به روش لوله ای) مثبت می شد به عنوان

*S. aureus* در نظر گرفته می شدند. سپس به وسیله لوپ استریل ۳ تا ۴ کلنی از باکتری مورد نظر برداشته به محیط *TSB* انتقال داده به مدت ۳ تا ۴ ساعت در انکوباتور  $37^{\circ}C$  قرار داده می شدند تا کدورتی معادل ۰.۵ استاندارد مک فارلند حاصل شود؛ سپس به وسیله سواب استریل آغشته شده با سوسپانسیون میکروبی در محیط *TSB*، تمام سطح یک پلیت حاوی محیط مولر هیتون آگار را در مقابل شعله گاز در تمام جهات استریک زده پس از دیسک گذاری و انکوباسیون به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت، قطر هاله عدم رشد به وسیله یک خط کش پلاستیکی نازک اندازه گیری نمود (روش استاندارد *Kirby - Bauer*) پس از مقایسه با اندازه های استاندارد شرکت سازنده

یومرف —————  
*(France-iomerx)*، مقاومت آنتی بیوتیکی سوبه های جدا شده تعیین گردید (۵).  
 در این مطالعه، از دیسک های آنتی بیوتیکی معمول در درمان عفونت های استافیلوکوکی مانند اگزاسیلین ( $1\mu g$ )، کلوکزاسیلین ( $5\mu g$ )، و انکوماپسین ( $30\mu g$ ) و سفالونین ( $30\mu g$ ) تهیه شده از شرکت های (پادتن طب) استفاده شد و از دیسک های آنتی بیوتیکی پنی سیلین ( $10\mu g$ ) و جنتامایسین ( $10\mu g$ )، تنها جهت مقایسه استفاده شد.  
 داده های به دست آمده به روش آمار توصیفی به صورت جدول و نمودار ارائه شده است.

#### یافته ها

الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ۷۶ سوبه استافیلوکوکوس ارئوس جدا شده از نمونه های کلینیکی، با توجه به محل ضایعه نوع آنتی بیوتیک در جدول و نمودار مربوطه ارائه شده

درصد 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 اسافیلوکوک‌های عامل باکتری می انجام شد، از ۲۰۳ نمونه اسافیلوکوک، ۱۸ مورد آن نسبت به وانکومايسين مقاوم بودند (۹٪) (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، ۲/۶٪ سویه‌ها نسبت به وانکومايسين مقاوم بودند (۷)؛ در مطالعه دیگری که توسط دکتر ستاری و همکاران در دانشگاه علوم پزشکی تربیت مدرس در سال ۱۳۷۸ بر روی اسافیلوکوک‌های کواگولاز مثبت و کواگولاز منفی جدا شده از مواد لبنی انجام شد، ۲۲/۴٪ نمونه نسبت به وانکومايسين مقاوم بودند (۸). در مطالعه ما میزان مقاومت نسبت به وانکومايسين 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 سفالکسین و گلوکزاسیلین ۷٪ 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 زندی و همکاران در سال ۱۳۷۷ بر روی سویه‌های *S.aureus* جدا شده از نمونه ادرار بیماران بستری در بیمارستان انجام شد، میزان مقاومت نسبت به سفالوتین، سفالکسین و

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

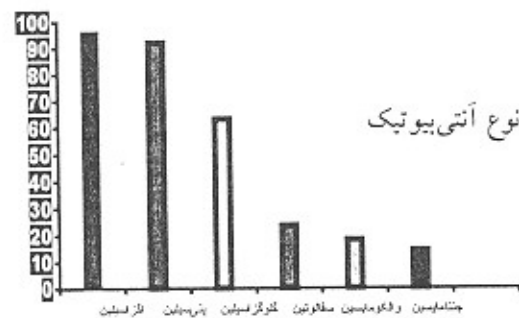
جدول ۱: توزیع فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی اسافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های کلینیکی ارسالی به آزمایشگاه مرکزی کاشان برحسب نوع آنتی‌بیوتیک و محل ضایعه

نوع آنتی‌بیوتیک	وانکومايسين	سفالوتین	کلوزاسیلین	آگزاسیلین	چنتامپسین	پنیسلین
زخمهای سرگرم (۲۳)	۳۰/۵*	۲۶/۱	۶۰/۸	۹۵/۶	۱۳/۱	۹۵/۶
تسریه حلقه (۲۱)	۱۴/۳	۲۴	۶۶/۶	۱۰۰	۱۵/۴	۸۴/۶
دختر چشم (۳)	۱۵/۴	۱۵/۴	۶۶/۲	۱۰۰	۱۵/۴	۸۴/۶
نوع عفون (۵)	۱۲/۵	۳۷/۵	۶۲/۵	۸۷/۵	۱۲/۵	۸۷/۵

\* اعداد به صورت درصد بیان شده است

نمودار ۱: توزیع ۱۳۷۶ نمونه اسافیلوکوکوس اورئوس برحسب درصد مقاومت و به تفکیک نوع آنتی‌بیوتیک، کاشان

درصد 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 رژیم دارویی و نقش عوامل درمانی قبلی در ایران را طلب می‌کند.

از موارد فوق چنین برمی‌آید که میزان مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به اگزاسیلین (۹۶/۱٪) و گلوکزاسیلین (۶۳/۲٪) بالاست ولی میزان مقاومت نسبت به وانکومایسین نسبتاً 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 دارویی، جهت درمان هر نوع عفونت استافیلوکوکوسی، ابتدا 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

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

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

در مطالعه زندی و همکاران در سال ۱۳۷۷، میزان مقاومت نسبت به کلوکزاسیلین ۶۱٪ (۹) و در مطالعه انجام شده توسط دکتر زرگری‌زاده و همکار در دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، ۷۹/۱٪ (۱۰) گزارش شده میزان مقاومت نسبت به گلوکزاسیلین در این مطالعه ۶۳/۲٪ به دست آمد.

در مطالعه ای 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 پروتکل 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 استافیلوکوسی 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

#### Referece

- 1- Fouci, Issilbacher; "erHarrison's Principler of Internal Medicine, Mc Graw Hill Pubication ,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 Effectiveness*. 8th ed 1990; 171 - 194.

6 - Wonf - SS; Ho - PL. *Bacteremia caused by staphylococci with inducible vancomycin heteroresistance*. *Clin Infect Dis* 1999; 29(4):260 - 67.

۷- دکتر محمد رهبر و همکاران. « بررسی فراوانی استافیلوکوکوس مقاوم به متی سیلین در کارکنان مرکز آموزشی- درمانی بیمارستان امام خمینی ارومیه در خرداد و تیرماه ۱۳۷۹. چهارمین کنگره میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی. دانشگاه شاهد، ۱۵ تا ۱۷ آبان ۱۳۸۰، صفحه ۱۷۱ و ۱۷۲.

۸- دکتر مرتضی ستاری و همکاران. « بررسی آلودگی استافیلوکوکوس مواد لبنی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آنها در تهران. فصلنامه علوم پزشکی مدرس، ۱۳۷۸ دوره دوم، شماره ۲، صفحه ۶۸-۶۳.

۹- فاطمه زندی و همکاران. ردیابی مقاومت بتا - لاکتامازی در بین سویه‌ها استافیلوکوکوس اورنوس جدا شده از عفونت ادراری در عفونت‌های بیمارستانی. چهارمین کنگره میکروبیولوژی، دانشکده دانشگاه شاهد، ۱۵ تا ۱۷ آبانماه ۱۳۸۰. صفحات ۸۸۹-۸۹۹.

۱۰- دکتر احد زرگری زاده، بابک شمالی. بررسی مقاومت دارویی استافیلوکوکهای کوآگولا منفی جدا شده از ادرار بیماران، در چهارمین کنگره میکروبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، ۱۵ تا ۱۷ آبانماه ۱۳۸۰ صفحه ۹۱ و ۹۰.

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.