Archive of SID

اندازه‌گیری حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد و حداقل غلظت کشنده آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام بر روی اعضای خانواده انتروباکتریاسه جدا شده از مدفوع بیماران بیمارستانهای شیراز

عبداله حسین خان ناظر*[1]، ریحان سعادتمند**

خلاصه:
مصرف روزافزون و بی رویه آنتی‌بیوتیکها موجب افزایش تعداد و انواع مقاومتهای میکربی گردیده است که می‌تواند باعث اشکال در درمان عفونتهای باکتریایی در انسان گردد. در این تحقیق حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC)[2] و حداقل غلظت کشنده (MBC)[3] آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام شامل آموکسی‌سیلین، آمپی‌سیلین و سفالکسین برروی ۱۰۸۵ باکتری خانواده انتروباکتریاسه مقاوم به این آنتی‌بیوتیک‌ها، جدا شده از مدفوع بیماران تحت درمان با آنتی‌بیوتیک به شکل داخل وریدی و خوراکی، با استفاده از روش تهیه رقت در لوله، اندازه‌گیری شد. در کنار آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام فوق، حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد وحداقل غلظت کشنده استرپتومایسین برروی ۱۱۳۶ باکتری جدا شده از ۵۴۰ نمونه مدفوع، اعم از حساس و مقاوم به استرپتومایسین نیز آزمایش گردید. حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد بالاتر از ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر برای چهار آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، سفالکسین و استرپتومایسین به ترتیب برابر ۶۸/۱٪، ۷۲/۳٪، ۷۳/۵٪ و ۲۹/۹٪ در باکتری‌ها بود و در مورد حداقل غلظت کشنده باکتری به ترتیب ۹۲/۴٪، ۹۲/۹۵٪، ۹/۰٪ و ۶۵/۱٪ بدست آمد. در مجموع میزان متوسط حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد وحداقل غلظت کشنده بدست آمده برای ۱۳ باکتری جدا شده از خانواده انتروباکتریاسه برای گروهی که آنتی‌بیوتیک خوراکی مصرف می‌نمودند، بیش از گروهی بود که آنتی‌بیوتیک داخل وریدی دریافت کرده بودند.

واژه‌های کلیدی: حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد، آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، انتروباکتریاسه.

مقدمه:

مصرف آنتی‌بیوتیک، در مقادیر متفاوت تحت عناوین مکمل رشد، درمانی، پیشگیری کننده و گاهی نگهداری مواد غذایی می‌باشد که با افزایش مصرف آنتی‌بیوتیک و مصرف مداوم، تعداد و انواع مقاومت‌های میکروبی سویه‌های مقاوم گسترش یافته و در نتیجه باعث اشکال در درمان بیماری‌های باکتریایی در انسان می‌گردد (۱).

ثابت شده است که میکروارگانیزم‌ها بخصوص باکتری‌ها با تمام ماهیت ساده‌شان قادرند با ایجاد

* استاد گروه بهداشت وکنترل مواد غذایی ، دانشکده دامپزشکی ، دانشگاه شیراز
** دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز
۱- نویسنده مسئول

2- MIC (Minimum Inhibitory Concentration)
3- MBC (Minimum Bactericidal Concentration)

دریافت مقاله: ۸۱/۵/۱۳ دریافت مقاله اصلاح شده: ۸۳/۲/۹ اعلام قبولی: ۸۳/۲/۲۰

www.SID.ir

Archive of SID

سویه‌های مقاوم و گسترش آن در برابر آنتی‌بیوتیک‌های متداول که کلید حل بیماری‌های عفونی می‌باشد، مقاومت ایجاد کرده و سلامت بشر را با خطر مواجه سازند (۲).

ایجاد مقاومت باکتریایی در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها از این جهت مهم است که در بسیاری موارد در هنگام بروز بیماری و زمانی که درمان با آنتی‌بیوتیک الزامی است، میکروارگانیزم‌های مقاوم شده به آنتی‌بیوتیک پاسخ نداده و درمان بیماری با شکست مواجه می‌شود. هرچه مقاومت دارویی میکروب‌ها افزایش یابد، حلقه محاصره اطراف آنتی‌بیوتیک‌ها تنگ‌تر می‌شود و روزی خواهد رسید که آنتی‌بیوتیک‌های موجود پاسخ گوی عفونت‌های متداول هم نخواهند بود (۳).

برای جلوگیری از ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی، کشت و آزمایش تعیین حساسیت برای انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب می‌تواند موثر باشد. یکی از این آزمایشات که دارای دقت بالایی است، آزمایش تعیین حساسیت میکروارگانیزم توسط لوله یا تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد می‌باشد (٤).

تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری کمک می‌کند تا بتوان مقدار داروی لازم برای مهار رشد ارگانیزم را در محیط آزمایشگاهی اندازه گرفته و مصرف میزان معین آنرا جهت بهبودی بیمار تجویز نمود.

همچنین این آزمایش، مستقیماً مقدار آنتی‌بیوتیک در واحد حجم (میکروگرم در میلی‌لیتر) را مشخص می‌نماید و امروزه در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی بطور فزاینده‌ای در حال جایگزینی با روش‌های دیگر است.

حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری بوسیله رشد و یا عدم رشد ارگانیزم، در فاصله بین رقت‌های آنتی‌بیوتیک مورد نظر تعیین می‌شود. نتیجه این آزمایش اندازه‌گیری کمی حساسیت یک باکتری خاص نسبت به یک آنتی‌بیوتیک مشخص می‌باشد (۵).

این تحقیق به منظور تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده سه آنتی‌بیوتیک بتالاکتام آمپی سیلین، آموکسی‌سیلین و سفالکسین علیه اعضای خانواده انتروباکتریاسه، جدا شده از مدفوع بیماران تحت درمان با این آنتی‌بیوتیک‌ها در جهت درمان عفونت‌های ناشی از این خانواده صورت گرفته است تا از مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها کاسته شود و نیز با پیشگیری از مصرف غلظت‌های بیش از حد لازم از ایجاد مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و بی‌اثرشدن آنتی‌بیوتیک‌ها جلوگیری بعمل آید.

مواد و روش کار:

افراد مورد مطالعه به علل مختلف غیر از عفونت‌های دستگاه گوارش و یا بیماری‌های عفونی در بیمارستان بستری شده بودند (جراحی عمومی، اورتوپدی، بیماری‌های قلبی، ناراحتی‌های کلیوی و غیره).

نمونه‌گیری از ٥٤٠ بیمار بستری شده در بیمارستان‌های شیراز در سال‌های ۱۳۸۰ و ۱۳۸۱ بعمل آمد و پس از کشت مدفوع روی محیط‌های اختصاصی، باکتری‌ها به روش تست‌های بیوشیمیایی جدا سازی و شناسایی گردیدند (٦). روی باکتری جدا شده تست حساسیت به روش دیسک در مورد آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام (آموکسی‌سیلین، آمپی‌سیلین و سفالکسین) انجام

www.SID.ir

Archive of SID

شد و باکتری‌های مقاوم به این آنتی‌بیوتیک‌ها جهت تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد وحداقل غلظت کشنده باکتری، مورد آزمایش قرارگرفتند (۷ و ٤).

در کنار آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد وحداقل غلظت کشنده استرپتومایسین نیز بر روی کلیه باکتری‌ها، اعم از حساس و یا مقاوم به استرپتومایسین آزمایش گردید.

تهیه رقت مشخص از باکتریهای مورد استفاده در تحقیق:

مقداری از باکتری مورد آزمایش از روی محیط آگار مغذی توسط لوپ استریل برداشته و در محیط آبگوشت برین ـ هارت ـ اینفیوژن[1] کشت و بمدت ٢٤-١٨ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده و سپس کشت باکتری با کدورت استاندارد مک فارلند ۰/۵ تهیه گردید. سپس رقت ۱ به ۲۰۰ از کشت باکتری تهیه شد (۰/۱ میلی‌لیتر از کشت اولیه به ۱۹/۹ میلی‌لیتر از محیط مایع مولر ـ هینتون اضافه می‌شد).

تهیه رقت های متوالی از آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در تحقیق :

ابتدا آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر در حلال‌های ویژه خود حل شده و سپس از هر آنتی‌بیوتیک غلظت ٦٤ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (٦٤۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) و در محیط آبگوشت مولر ـ هینتون به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق کرده که غلظت آنتی‌بیوتیک مورد استفاده ٦/٤ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (٦٤۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) شود. سپس برای هر نمونه آنتی‌بیوتیک خاص، ۱۳ لوله آزمایش استریل و خشک در جا لوله‌ای چیده و مقدار یک میلی‌لیتر محیط آبگوشت مولر ـ هینتون در لوله‌های شماره ۲ تا ۱۰ و لوله‌های شماره ۱۱ و ۱۳ ریخته و مقدار ۲ میلی‌لیتر محیط آبگوشت مولر ـ هینتون در لوله‌های شماره ۱۲ ریخته شد. سپس یک میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک مورد نظر به لوله‌های شماره ۱۲ ریخته، سپس یک میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک مورد نظر به لوله‌های شماره ۱، ۲ و ۱۳ اضافه می‌گردید و پس از مخلوط نمودن ۱ میلی‌لیتر از لوله شماره ۲ برداشته و به لوله بعدی اضافه کرده و از لوله سوم به لوله بعدی و این کار را تا لوله شماره ۱۰ ادامه داده و یک میلی‌لیتر آخر از لوله شماره ۱۰ دور ریخته می‌شد (در این مرحله غلظت آنتی‌بیوتیک در اولین لوله ٦٤۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و در لوله شماره ۱۰، ۱۲/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بود). سپس ۱ میلی‌لیتر از رقت ۱ به ۲۰۰ کشت باکتری مورد نظر را به لوله‌های شماره ۱ تا ۱۱ اضافه کرده و پس از مخلوط کردن بمدت ٢٤-١٨ ساعت در دمای ۳۷-۳۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه قرار می‌گرفت (لوله شماره ۱۱ به عنوان کنترل میزان باکتری، لوله شماره ۱۲ به عنوان کنترل محیط آبگوشت مولر ـ هینتون و لوله شماره ۱۳ به عنوان کنترل آنتی‌بیوتیک در نظر گرفته شد). سپس کدورت لوله‌ها با لوله‌های کنترل مقایسه می‌گردید (پس از افزودن رقت ۱ به ۲۰۰ کشت باکتری، غلظت آنتی‌بیوتیک در اولین لوله ۳۲۰۰ میکروگرم در

1- Brain heart infusion broth

www.SID.ir

Archive of SID

میلی‌لیتر و در لوله شماره ۱۰، ۶/۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بود).

آنگاه برای تعیین حداقل غلظت کشنده باکتری، از کلیه لوله‌های شفاف بر روی محیط مکانکی آگار کشت داده می‌شد تا حداقل غلظت کشنده نیز برای هر نمونه باکتری و ٤ آنتی‌بیوتیک مورد نظر بدست آید.

چگونگی تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد و حداقل غظت کشنده باکتری:

جهت تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد، آخرین لوله‌ای که باکتری در آن رشد نکرده و شفاف مانده بود (دارای کمترین مقدار آنتی‌بیوتیک)، به عنوان حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد شناخته می‌شد. برای تعیین حداقل غلظت کشنده آخرین لوله‌ای که (دارای کمترین مقدار آنتی‌بیوتیک) باکتری‌های تلقیح شده به آن، کشته شده بودند و نتیجه کشت آن بر روی آگار مکانکی منفی بود، به عنوان حداقل غلظت کشنده در نظر گرفته می‌شد (۸).

نتایج:

در این بررسی ابتدا باکتری‌های گرم منفی حاصل از کشت ٥٤٠ نمونه مدفوع بیماران مورد آزمایشات بیوشیمیایی قرار گرفت و اعضای خانواده انتروباکتریاسه شناسایی و جداسازی گردیدند. از ٥٤٠ بیمار مورد مطالعه ۳۹٥ نفر به صورت خوراکی و ١٤٥ نفر به شکل داخل وریدی آنتی‌بیوتیک دریافت می کردند.

در مجموع از ٥٤٠ نمونه مدفوع مورد آزمایش ١١٣٦ باکتری متعلق به خانواده انتروباکتریاسه جدا گردید که ٤٤٨ مورد (۳۹/٦٪) اشرشیاکلی، ۲۲٤ مورد (۱۹/۸٪) کلبسیلا، ۸٥ مورد (۷/۲٪) پروتئوس، ۱۲۰ مورد (۱۰/۲٪) انتروباکتر، ۷٤ مورد (٦/٥٪) سیتروباکتر، ٦۰ مورد (٥/۳٪) شیگلا، ۳٥ مورد (۳/۱٪) سالمونلا، ۳۰ مورد (۲/۷٪) مورگانلا، ۱٥ مورد (۱/۳٪) پرووِیدنسیا، ۱٥ مورد (۱/۳٪) سراشیا، ٥ مورد (۰/٤٪) یرسینیا، ۲۰ مورد (۱/۸٪) ادوارد سیلا و ٥ مورد (۰/٤٪) آریزونا بود (جداول ۱ و ۲). پس از انجام تست حساسیت (به روش انتشار از دیسک) نسبت به ۳ آنتی‌بیوتیک بتالاکتام (آموکسی‌سیلین، آمپی‌سیلین و سفالکسین)، باکتری‌های مقاوم جدا سازی گردیدند (جدول ۱).

در این مطالعه حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد وحداقل غلظت کشنده آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام شامل آموکسی‌سیلین و سفالکسین برای ۱۰۸٥ باکتری مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های فوق (۷٥۹ باکتری از بیمارانی که آنتی‌بیوتیک به شکل خوراکی دریافت می‌کردند و ۳۲٦ باکتری از بیماران تحت درمان با آنتی‌بیوتیک داخل وریدی) نیزمشخص گردید. برای چهار آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، سفالکسین و استرپتومایسین به ترتیب برای ۷۱٥، ۷۷۰، ٥۹٥ و ۳٤۰ باکتری (٦۸/۱، ۷۲/۳، ۷۳/٥ و ۲۹/۹ درصد) دارای حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد بالاتر از ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بودند. همچنین آنتی‌بیوتیک‌های فوق به ترتیب برای ۹۷۰، ۹۹۰، ۸۰۰ و ۷٤۰ باکتری (۹۲/٤، ۹۳/۰، ۹۸/۸ و ٦٥/۱ درصد) دارای حداقل غلظت کشنده بالاتر از ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بودند.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث:

برای تعیین حساسیت گونه‌های مختلف نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از تستهای آزمایشگاهی که مورد استفاده قرار می‌گیرد، اندازه‌گیری حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد می‌باشد. با انجام این آزمایش نه تنها داروی موثر بر نمونه مورد نظر مشخص می‌گردد، بلکه از ایجاد مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی نیز تا حد زیادی جلوگیری می‌شود (۹). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میزان حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد وحداقل غلظت کشنده باکتری‌های جدا شده، در میان گروهی که آنتی‌بیوتیک خوراکی مصرف نموده‌اند بالاتر می‌باشد. این امر می‌تواند در نتیجه مواجه شدن باکتری‌ها با غلظتهای بالاتری از آنتی‌بیوتیک، نسبت به گروهی که آنتی‌بیوتیک داخل وریدی دریافت کرده باشد. زیرا زمانی که آنتی‌بیوتیک بصورت خوراکی مصرف می‌شود، بیشترین غلظت آن ابتدا در دستگاه گوارش ایجاد می‌گردد و سپس در بقیه نقاط بدن منتشر می‌شود، در حالیکه در افرادیکه آنتی‌بیوتیک داخل وریدی دریافت می‌کرده‌اند ابتدا غلظت بالای آنتی‌بیوتیک در خون ایجاد می‌شود و سپس از طریق عروق به سایر نقاط بدن می‌رسد، بنابراین در این حالت باکتری‌های دستگاه گوارش با غلظت کمتری از آنتی‌بیوتیک در تماس هستند و همین امر سبب پائین تربودن حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد و حداقل غلظت کشنده باکتری‌های جدا شده در افراد تحت درمان به روش داخل وریدی نسبت به افراد تحت درمان به روش خوراکی شده است.

نکته قابل توجه در این بررسی مقاومت بسیار بالا نسبت به آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین بود (جدول ۱). مارتینز و همکاران در سال ۱۹۸۷، نشان دادند که از ۲۲ سویه اشرشیاکلی جدا شده از کودکان تمام سویه‌ها حداقل نسبت به یک آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند و مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین تا ۹۰ درصد بوده است (۱۰). مقاومت اکتسابی نسبت به پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین در باکتری‌های گرم منفی اکثراً بدلیل بروز پلاسمید حاوی ژن تولید بتالاکتاماز می‌باشد (۱۱ و ۱۲). لینتون و همکاران در سال ۱۹۷۱، به دنبال مصرف پنی‌سیلین خوراکی در انسان، مشاهده کردند که بطور محسوسی دفع سویه‌های اشرشیاکلی مقاوم به آمپی‌سیلین از طریق مدفوع افزایش می‌یابد (۳). اسمیت در سال ۱۹۶۷، گزارش کرد که اشرشیاکلی مقاوم جدا شده از انسان و حیوانات فاکتور مقاومت را به اشرشیاکلی‌های دستگاه گوارش انسان انتقال می‌دهند و انتشار وسیع مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در بین تعدادی از باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه در محیط ورود این سویه‌های مقاوم به دستگاه گوارش انسان می‌تواند باعث انتقال فاکتور مقاومت به فلور طبیعی و افزایش تعداد ارگانیزمهای مقاوم گردد (۱۳). دیویس و استوارت در سال ۱۹۷۸، روی باکتریهای جدا شده از انسانهای بیمار و حیوانات اهلی خانگی تحقیق کردند و دریافتند که بیش از $\frac{1}{3}$ ارگانیزم‌های جدا شده نسبت به یک یا چند آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند (۱٤). سایروت و همکاران طی تحقیقی که درسالهای ۱۹۸۸، ۱۹۸۹ و ۱۹۹۰ در فرانسه، برروی میزان مقاومت اعضای خانواده انتروباکتریاسه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام انجام دادند، میزان مقاومت نسبت به

www.SID.ir

Archive of SID

سفالکسین را در مورد اشرشیاکلی و کلبسیلا در سال‌های ۱۹۸۸ و ۱۹۸۹، به ترتیب ۱۹/٦ و ۲٦/۹ درصد ذکر کردند، که این مقادیر در سال ۱۹۹۰، به ۲۵ و ۲۸/٦ درصد افزایش می‌یابد (۱۵). ایگرت و همکاران در سال ۱۹۹۱، در کنیا ضمن تحقیق روی انواع عفونت‌های نواحی روستایی در مناطق استوایی، دریافتند که کلبسیلا مهمترین عامل عفونت‌های ادراری بوده است، ارگانیزم‌های جدا شده در این تحقیق بسیار مقاوم بودند (۷٦٪ به آمپی‌سیلین و ٦۰٪ به کوتریموکسازول). آنها چنین نتیجه گرفتند که علت غالب بودن غیرمنتظره کلبسیلا و مقاومت بالا دراین جنس تحت تاثیر شرایط محیطی، عوامل بیماری‌زای مخفی و از همه مهمتر استفاده قبلی از آنتی‌بیوتیک‌ها بوده است (۱٦).

نتایج حاصل از بررسی حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام و استرپتومایسین نشان دهنده برابر بودن حداقل و حداکثر، حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد وحداقل غلظت کشنده این آنتی‌بیوتیک‌ها علیه شیگلای جدا شده، در ۵۹ مورد از افراد تحت درمان به روش خوراکی و فقط یک مورد از افراد تحت درمان به روش داخل وریدی بوده است.

بر اساس تحقیق انجام شده از ۳۵ نمونه سالمونلای جدا شده، ۳۰ (۸٦٪) مورد به آمپی‌سیلین مقاومت نشان دادند. در عین حال از این ۳۵ مورد، ۱۰ (۲۸/٦٪) مورد نسبت به استرپتومایسین مقاوم بودند. لی و همکاران در سال ۱۹۹۳، پس از اندازه‌گیری مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سه سویه سالمونلا آگونا، سالمونلا تایفی موریوم و سالمونلا هیدلبرگ، میزان مقاومت نسبت به استرپتومایسین را ۵۷-۳۳ درصد گزارش کرده‌اند. تحقیقات آنها نشان می‌داد که ایجاد مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین معمول نبوده و این مقاومت بین صفر و ٤ درصد تغییر می‌کند (۱۷). گورن در سال ۱۹۹٤، پس از انجام آزمایشات تعیین حساسیت روی سویه‌های مختلف سالمونلا، میزان مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین را ۲۱ درصد گزارش نمود (۱۸). نتایج بدست آمده در مورد سالمونلا در این مطالعه با نتایج لی و گورن منطبق نمی‌باشد. این اختلاف بدلیل جدا سازی سالمونلا از نمونه مدفوع افراد تحت درمان آنتی‌بیوتیکی بوده است، بنابراین در اثر تماس آنتی‌بیوتیک، سالمونلاهای حساس از بین رفته و سالمونلاهای مقاوم باقی مانده‌اند، به همین دلیل مقاومت بالا نسبت به آمپی‌سیلین و استرپتومایسین بدست آمده است. شکی نیست که استعمال میزان ناکافی و نیز استفاده گسترده و بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند بروز مقاومت‌های دارویی را در گونه‌های مختلف سالمونلا افزایش دهد (۱۱).

کانایی و همکاران نیز درسال ۱۹۸۳، نشان دادند که سویه‌های مقاوم بیشتر ازگونه‌هایی است که افراد مربوطه آنتی‌بیوتیک بیشتری دریافت داشته‌اند (۱۹). ورما و گوپتا درسال ۱۹۹۲، گزارش نمودند که از ٦۰۲ سویه سالمونلا ۳/۸ درصد حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد بالاتر از ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نسبت به آمپی‌سیلین و ٦۲/۸ درصد حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد بالاتر از ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نسبت به استرپتومایسین داشته‌اند. مقاومت آنتی‌بیوتیکی مرکب با حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد

www.SID.ir

Archive of SID

بسیار بالا (یک تا دو میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در مقابل ٦ دارو (کانامایسین ـ استرپتو مایسین، کوتریموکسازول، سولفا متوکسازول، تتراسیکلین و تری متو پریم) نیز در بین سالمونلاها مشاهده گردید (۲۰).

نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان دهنده مقاومت بالای انتروباکتر به سفالکسین است. تحقیقات نشان می‌دهد که انتروباکترکلوآگا و انتروباکتر آئروجنزا بطور ذاتی نسبت به سفالوتین‌ها مقاوم می‌باشند (۲۱). حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد بالای سفالکسین علیه انتروباکتر تائیدی بر این امر است. شاه و همکاران درسال ۱۹۹۱، ضمن تحقیق در بخش‌های ICU ۱۰ بیمارستان آلمان مقاومت بالای اعضای انتروباکتریاسه مولد بتا لاکتاماز همچون انتروباکتر، سراشیا، سیترو باکتر و مورگانلا را نسبت به سفالکسین گزارش نمودند و اعلام کردند که مقاومت متقاطع بین آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام بسیار بالا می‌باشد. میزان مقاومت باکتری‌های فوق در بیمارانی که از آنها بطور مکرر جدا می‌گردید به ۵۰ درصد می‌رسید (۲۲). دگوچی و همکاران در سال ۱۹۹۳، ضمن تحقیق بر روی اثرات ضد میکروبی سفودیازیم (یکی از سفالوسپورینها) اعلام کردند که مورگانلا، سراشیا، پروتئوس ولگاریس، انتروباکتر و پرووویدنسیا، مقاومت بالا و همچنین مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه داشته‌اند. همچنین نشان دادند که علاوه بر مقاومت نسبت به سفالوسپورین‌ها به برخی از کوئینولون‌های جدید نیز مقاوم می‌باشند (۲۳).

با توجه به انجام تست حساسیت به روش انتشار از دیسک بر روی پرسینیا جدا شده از مدفوع بیماران این باکتری نسبت به آموکسی‌سیلین و آمپی‌سیلین حساسیت نشان داد ولی نسبت به سفالکسین مقاوم بود. به همین علت حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد سفالکسین و استرپتومایسین (بدلیل عدم محدودیت انجام حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد استرپتومایسین برای باکتری‌های مقاوم و حساس) علیه این باکتری اندازه‌گیری شد. مقاومت ذاتی سیترو باکتر نسبت به آمپی‌سیلین و سفالوتین ثابت شده است (۲۱)، نتایج نشان می‌دهد، حداکثر حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد وحداقل غلظت کشنده، سه آنتی‌بیوتیک بتا لاکتام علیه سیتروباکتر، هم در افراد تحت درمان به روش خوراکی و هم تحت درمان به روش داخل وریدی یکسان و حساسیت این باکتری نسبت به این سه آنتی‌بیوتیک برابر هم بوده است. دگوچی و همکاران در سال ۱۹۹۳، اعلام کردند که سیتروباکتر دایورسوس، مقاومت بسیار کمی نسبت به سفودیازیم نشان داده است، در حالیکه این گونه نسبت به آمپی‌سیلین و کاربنیسیلین دارای مقاومت ذاتی است (۲۳).

حداقل و حداکثر، حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد سه آنتی‌بیوتیک بتالاکتام در مورد سراشیا جدا شده از بیماران تحت درمان به روش خوراکی برابر بود و این نشانگر حساسیت سراشیا به غلظت مساوی از این آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. سراشیاها اغلب در برابر بسیاری از سفالوسپورینها مقاومند و مقاومت برخی گونه‌های سراشیا در برابر آمپی‌سیلین، کاربنیسیلین، نیترو فورانتوین و

www.SID.ir

Archive of SID

پلی میکسین ذاتی است (۲۱ و ۲٤). نتایج بدست آمده دراین تحقیق، این مطلب را نیز تائید می‌کند، به نحوی که سراشیای جدا شده در این مطالعه ۱۰۰ درصد نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مقاومت نشان داده‌اند و حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد و حداقل غلظت کشنده بالای سفالکسین علیه این باکتری نشان دهنده مقاومت بالا نسبت به این آنتی‌بیوتیک می‌باشد. دگوچی و همکاران (۱۹۹۳) مقاومت بالای موررگانلا نسبت به سفالکسین را گزارش نمودند (۲۳). تحقیقات مقاومت ذاتی این ارگانیزم و بخصوص مورگانلا مورگانی را نسبت به پلی‌میکسین، سفالوتین و آمپی‌سیلین ثابت می‌کند (۲۱). در نتایج بدست آمده بالا بودن حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد و حداقل غلظت کشنده سفالکسین هم در موارد خوراکی و هم در موارد داخل رگی این تحقیقات را تائید می‌نماید.

باکتری‌های بدست آمده در این بررسی از افراد تحت درمان با آنتی‌بیوتیک جدا گردید، در نتیجه آنچه که بررسی شد باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام بود و این باکتری‌ها در برابر این آنتی‌بیوتیک‌ها، با غلظتهای بالا مهار وکشته می‌شوند. نتایج حاصل از بررسی حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد و حداقل غلظت کشنده استرپتومایسین علیه این باکتری‌ها نشان دهنده این امر است که باکتری‌ها در غلظت پائین‌تر استرپتومایسین نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مهار می‌شوند. علت این می‌تواند باشد که استرپتومایسین بیشتر روی باکتری‌های گرم منفی موثر بوده، بنابراین در غلظت‌های پائین‌تر سبب مهار رشد و کشندگی باکتری‌های گرم منفی می‌شود. گزارش شده است که میزان انتقال عامل مقاومت در مورد استرپتومایسین ناچیز می‌باشد. شاید که وقوع جهش کروموزومی نسبت به استرپتومایسین تاحدی‌این‌مطلب‌را توجیه‌کند(۲۵). در حالیکه هماهنگ نمودن و مقایسه اطلاعات مربوط به مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در کشورهای مختلف مشکل به نظر می‌رسد، ولیکن تمامی این اطلاعات بیانگر افزایش مقاومت‌های داروئی، به علت افزایش مصرف بی‌رویه آنها است، علت تفاوت‌های جزئی در این اطلاعات را می‌توان به فقدان یک برنامه مدون و یک پایه نمایشی کلی مرتبط ساخت (۲٦).

در مطالعه انجام شده، باکتری که بیش از سایرجنس‌های خانواده انتروباکتریاسه جدا شده، اشرشیاکلی بود که علت آن به فلور طبیعی بودن این ارگانیزم در دستگاه گوارش بر می‌گردد (۲۱). دگوچی و همکاران (۱۹۹۳)، در تحقیقی که در ژاپن برروی اثر ضد میکروبی سفودیازیم ضد باکتری‌های جدا شده از موارد کلینیکی انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که میزان حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد این دارو، برای اشرشیاکلی، کلبسیلا و پروتئوس میرابیلیس اغلب بین ۰/۲۵ تا ۱/۵٦ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌باشد. این نشان می‌دهد که سفودیازیم دارای اثرات آنتی‌بیوتیک کافی در عفونت‌هایی که توسط باکتری‌های یاد شده ایجاد می‌شود، می‌باشد (۲۳). بورمن و همکاران در سال ۱۹۹۲، طی تحقیقی در بیمارستانهای سوئد روی نوزادانی که آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام دریافت کرده بودند، نشان دادند از میان نوزادانی که آمپی‌سیلین

www.SID.ir

Archive of SID

دریافت کرده بودند، ۳۰ درصد آنها حامل اشرشیاکلی‌هایی بودند که بتالاکتاماز تولید می‌نمودند و درمقابل فقط ۱۳ درصد از نوزادانی که با سفالوسپورین‌ها درمان شده بودند و ۱۵ درصد از نوزادانی که درمان نشده بودند، حامل اشرشیاکلی‌هایی بودند که بتالاکتاماز تولید می‌کردند. همین نتایج برای کلبسیلاها بترتیب ۱۸، ۱۳ و ۹ درصد بود. آنها چنین نتیجه گرفتند که آمپی‌سیلین دارای خطر بیشتری برای حفظ بروز تولید بتالاکتامازهای با واسطه پلاسمید در باکتری‌های گرم منفی در نوزادان بستری می‌باشد (۲۷). ایگرت و همکاران در سال ۱۹۹۲، در تحقیقی که بر روی طیف پاتوژنها و مقاومت آنها در عفونت‌های مجاری ادراری کودکان در آنگولا انجام دادند، مشاهده نمودند که مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین، جنتا مایسین و کوتریموکسازول بسیار بالا است، در حالیکه حساسیت خوبی نسبت به نیتروفورانتوین‌ونالیدیکسیک‌اسید وجود دارد(۱۶). در تست حساسیت به روش انتشار از دیسک، میزان مقاومت نسبت به پنی‌سیلین بسیار بالا و تقریباً نزدیک به ۱۰۰ درصد بود. این مقاومت بالا سبب صرف نظر کردن از انجام آزمایش تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد در مورد پنی‌سیلین گردید.

نتیجه‌گیری نهایی:

نظر به اینکه آزمایش حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد مستقیماً مقدار آنتی‌بیوتیک در واحد حجم را مشخص می‌نماید بنابراین استفاده از آن در آزمایشگاهها لازم به نظر می‌رسد.

استفاده بی‌رویه مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها موجب مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های روده انسان گردیده که جهت درمان بیماران لازم است آنتی‌بیوتیک‌های با وصعت طیف بیشتر و عوارض جانبی بیشتر بکار گرفت. لذا توصیه می‌گردد که جهت جلوگیری از این عوارض از آزمایش حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد برای بررسی میزان مقاومت باکتری‌ها در آزمایشگاه استفاده شود.

جدول ۱: فراوانی باکتریهای خانوادهٔ انتروباکتریاسه جدا شده از بیماران دریافت کننده آنتی‌بیوتیک به صورت خوراکی (۳۹۵ نفر) و درصد مقاومت آنها در برابر آنتی‌بیوتیکهای بتالاکتام

باکتری	موارد جدا شده (تعداد)	مقاومت به آموکسی‌سیلین (درصد)	مقاومت به آمپی‌سیلین (درصد)	مقاومت به سفالکسین (درصد)
اشریشیاکلی	۳۲۰	۸۷	۱۳	۵۰
کلبسیلا	۱۵۹	۱۰۰	۱۰۰	۷۲
پروتئوس	٦٤	۹۲	۹۲	۸٤
شیگلا	۵۹	۹۲	۹۲	۹۲
سالمونلا	۳۵	۸٦	۸٦	۸٦

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول ۱

باکتری	موارد جدا شده (تعداد)	مقاومت به آموکسی‌سیلین (درصد)	مقاومت به آمپی‌سیلین (درصد)	مقاومت به سفالکسین (درصد)
پرووویدنسیا	۱۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
ادوارسیلا	۲۰	۷۵	۷۵	۵۰
یرسینیا	۰	۰	۰	۰
انتروباکتر	۶۰	۱۰۰	۱۰۰	۸۳
مورگانلا	۱۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
سراشیا	۱۱	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
سیتروباکتر	۴۵	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
آریزونا	۰	۰	۰	۰

جدول ۲: فراوانی باکتریهای خانوادهٔ انتروباکتریاسه جدا شده از بیماران دریافت کننده آنتی‌بیوتیک به صورت وریدی (۱۴۵ نفر) و درصد مقاومت آنها در برابر آنتی‌بیوتیکهای بتالاکتام

باکتری	موارد جدا شده (تعداد)	مقاومت به آموکسی‌سیلین (درصد)	مقاومت به آمپی‌سیلین (درصد)	مقاومت به سفالکسین (درصد)
اشریشیاکلی	۱۲۸	۷۷	۷۲	۴۱
کلبسیلا	۶۵	۱۰۰	۱۰۰	۵۴
پروتئوس	۲۱	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
شیگلا	۱	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
سالمونلا	۰	۸۶	۰	۸۶
پرووویدنسیا	۵	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
ادوارسیلا	۰	۰	۰	۰
یرسینیا	۵	۰	۰	۱۰۰
انتروباکتر	۶۰	۱۰۰	۱۰۰	۸۳
مورگانلا	۲۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
سراشیا	۴	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
سیتروباکتر	۲۹	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
آریزونا	۵	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

www.SID.ir

Archive of SID

تشکر و قدردانی: هزینه مربوط بـه ایـن تحقیـق توسط شورای محـترم تحقیقـات دانشـگاه شـیراز تـامین گردیـده اسـت کـه بدینوسـیله قدردانـی می‌گردد.

منابع:

1- Levy, SB; Microbial resistance to antibiotics. Lancet II: 1982; 83-88.
2- Nazer, AHK; Yazdipour A: Incidence of drug resistance of Escherichia coli isolated from selected foods. Journal of Applied Animal Research. 1993; 3: 123-128.
3- Linton, Patricia KB, Lee A, Richmon MD and Gillespi WA: Antibiotic resistance and transmissible R-factor in the intestinal coliform flora of healthy adult and children in an urban and rural community. Journal of Hygiene Cambridge. 1972; (70): 99-104.
4- Balows A: Current techniques for antibiotic susceptibility testing. Carlles, C. Thomas Pub. Springfield. 1974; pp: 3-7, 17, 26, 36, 63-64.
5- Brander GC, Pugh DM, Bywater RJ; Jenkins WL : Veterinary Applied Pharmacology and therapeutics. 5th Ed. Bailliere Tindall. London. 1991; pp: 36-39, 289, 417-494.
6- Baron EJ; Finegold SM : Bailey and Scott Diagnostic Microbiology. 8th Ed. Mosby Company, Philadelphia. 1995; pp: 363-385.
7- Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC; Turck M: Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology. 1966; 45: 493-496.
8- Treagan, L; Pulliam L: Medical microbiology laboratory procedures. W.B. Saunders Company. Toronto, Canada. 1982; pp: 234-236.
9- Ikeda JS: Characteristics of salmonella isolated from animals at a Veterinary Medical teaching hospital. American Journal of Veterinary Research. 1986; 47(2) : 232-235.
10- Martinez, LY, Arenas, MMP, Montes MYR. Baca BE: Antibiotic resistance and plasmid pattern of enterotoxogenic ST-a strain of E.coli isolated in Puebla Mexico. Canadaian Journal of Microbiology. 1987; 33: 816-819.
11- Lowbury EJL. Ayliffee, GAJ: Drug Resistance in : antimicrobial Therapy. 4th Ed. Bailliere and Tindall, London. 1974; pp: 6-7, 73, 106, 112, 116, 119, 129, 179, 189.
12- Cruickshank R: Medical Microbiology. 12th.Ed., Churchill, Edinburg, 1973; pp: 103-108.
13- Smith HW. Halss S: The Transmissible nature of the genetic factor in E.coli that controls haemolysine production. Journal of General Microbiology. 1967; 47: 153-161.
14- Davis M; Stewart PR: Transferable drug resistance in man and animals: genetic relationship between R-plasmid in enteric bacteria from man and domestic pets. Aus. Vet. J. 1978; 54(11): 507-512.
15- Sirot DL, Goldstein FW, Soussy CJ, Courteiu AL, Husson MG, Lemozy J, Meyran M, Morel C, Perez R, Quentin-Noury C, Reverdy ME, Scheftel JM, Rosembaum M and Rezvani Y: Resistance to cefotoxime and seven other betalactaams in the members of family Enterobacteriaceae: a 3 years survey in France. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1992; 36(8) : 1677-1681.
16- Eggert W, Eggert S, Ferreira E, Bernardino L: The pathogen spectrum and it's resistance behavior in children with urinary tract infections in Angola. Kinderarztl Praz. 1992; 60(2) : 46-48.
17- Lee LA, Threatt VL, Puhr ND: Antimicrobial resistant salmonella spp. Isolated from healthy broiler chickens after slaughter. Journal of American Veterinary Medicine Association. 1993; 202(5): 752-755.
18- Goren E : Bacterial drug resistance is still a major problem. World-Poultry. 1994; 10(4) : 53-53.
19- Kanai H: Drug resistance and distribution of conjugative R. plasmid in Escherichia coli strains isolated from healthy adult animals and Humans. Journal of Veterinary Sciences. 1983; 45(2) : 171-178.
20- Verma JC, Gupta BR: Determination of minimum inhibitory concentration of antibiotics against salmonella organisms from animal sources by using a multiple inoculator. Indian Journal of Animal Sciences. 1992; 62(9): 793-796.
21- Farmer JJ III, Kelly MT: Enterobacteriaceae in : Ballows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD and

www.SID.ir

Archive of SID

Shadomy HJ (Eds.). Manual of Clinical Microbiology. 5th Ed. American Society for Microbiology. Washington D.C. 1991; pp: 360-383.

22- Shah PM, Asanger R, Kahan FM: Incidence of multi-resistance in gram-negative in gram-negaative gerobes from intensive care units of 10 German hospitals. Scandinavian Journal of Infectious Diseases. Suppl. 1991; 78: 22-34.

23- Deguch K, Yokota N, Koguch M, Suzuki Y: Antimicrobial activity of cefodiazime against fresh clinical isolates. Japanese Journal of Antibiotics. 1993; 46(10): 860-876.

24- Katzung BG : Basic and Clinical Pharmacology.. 3rd Ed.. Lange Medical Publication, Los Altos, California , 1987; pp: 509-525.

25- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA: Review of Medical Microbiology. 7th Ed. Appleton and Lange. California. 1987; pp: 71-80, 130-156, 233-245, 355-356, 456.

26- Wray C, Mclaren IM, Beedell YE: Bacterial resistance monitoring of salmonella isolated form animals, national experience of surveillance schemes in the United Kingdom. Veterinary Microbiology. 1993; 35(1,2) : 313-319.

27- Burman LG, Haeggman S, Kuistila M, Tullus K, Huovinen P : Epidemiology of plasmid-mediated betalactamases in Enterobacteriaceae Swedish neonatal wards and relation to antimicrobial therapy. Antimicrobial Agents and Chemoterapy. 1992; 36.

www.SID.ir