

تعیین مقاومت استرپتوکوک پنومونیه به دو داروی پنی سیلین و سفتریاکسون به روش E-test

کامیار مصطفوی زاده^۱، فرزین خوروش^۱، حمید ابوسعیدی^۲، محمد فصیحی دستجردی^۳،
سینا مباشری زاده^۴؛ مرتضی ایزدی^۵، نعمت اله جنیدی جعفری^{۵*}

چکیده

هدف: پنوموکوک از شایعترین باکتریهای گرم مثبت مولد عفونت در انسان است و متأسفانه مقاومت پنوموکوک نیز مانند سایر باکتریها روز به روز در حال افزایش است. با توجه به اینکه تحقیق مفیدی در خصوص میزان مقاومت پنوموکوک به سفتریاکسون (حداقل در استان اصفهان) با روش E-test صورت نگرفته است مطالعه فوق می تواند پایه ای برای سایر مطالعات بعدی جهت سنجش افزایش یا کاهش میزان مقاومت پنوموکوک محسوب گردد.

مواد و روش ها: این مطالعه بصورت cross-sectional و آینده نگر در سال ۱۳۸۵ بر روی ۹۸ نمونه استرپتوکوک پنومونیه جدا شده از نمونه های بالینی افراد مراجعه کننده به بیمارستان الزهرا(س) انجام شده و سپس MIC (Minimal Inhibitory Concentration) آنتی بیوتیکهای سفتریاکسون و پنی سیلین بر روی ارگانیسرها به روش E-Test مشخص گردید. کنترل کیفی با استفاده از پنوموکوک ATCC49619 انجام شد. اطلاعات پس از ویرایش و ورود به رایانه توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۳ و WHONET-5 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: این مطالعه بر روی ۹۸ نفر با محدوده سنی بین ۵ تا ۱۰ سال انجام گردید. در میان نمونه ها ۴۷٪ مونث و ۵۳٪ مذکر می باشند. نمونه های تحت بررسی ۵۵٪ از نمونه حلق افراد سالم، ۲۰٪ از CSF، ۱۶/۵٪ از خون، ۳٪ از مایع پلور، ۳٪ از گوش (بیماران با اوتیت)، ۱/۰۲٪ (۱ نفر) از آبسه و ۱/۰۲٪ (۱ نفر) از زخم میباشد. پنوموکوکهای جدا شده حدود ۳۰٪ حساسیت به پنی سیلین از خود نشان دادند در حالیکه MIC سفتریاکسون برای موارد غیر مننژیت (non CNS) در حدود ۹۰٪ حساسیت و این MIC برای مننژیت (CNS) با توجه به نفوذ کمتر دارو، ۸۱/۵٪ حساسیت می باشد.

نتیجه گیری: پنی سیلین داروی موثری جهت پوشش پنوموکوک حتی در کودکان نمی باشد ولی با توجه به موثر بودن سفتریاکسون این دارو در مواردی که در ابتدای مراجعه بیمار، شک به پنوموکوک وجود دارد به تنهایی مناسب است.

واژه های کلیدی: استرپتوکوک پنومونیه، سفتریاکسون، پنی سیلین، MIC، E-Test.

دریافت مقاله: ۸۶/۷/۱۱ اصلاح مقاله: ۸۶/۱۲/۲۳ پذیرش مقاله: ۸۶/۱۲/۲۵

کچ نویسنده مسئول: استادیار بیماری های عفونی و گرمسیری- مرکز تحقیقات بهداشت نظامی- دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

۱- استادیار گروه بیماریهای عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی و مرکز تحقیقات عفونی اصفهان

۲- متخصص بیماریهای عفونی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

۳- رزیدنت عفونی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۴- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، بیمارستان الزهرا(س)

Email: Jonaidi2000@yahoo.com

مقدمه

پنوموکوک از شایعترین باکتریهای گرم مثبت مولد عفونت در انسان است پنوموکوک عامل بیماریهای مختلفی اعم از مننژیت (که شایعترین نوع مننژیت در سنین بین ۱۹ تا ۶۰ سالگی است)، پنومونی لوپار (۷۳٪ درصد)، اوتیت مدیا (۴۰-۵۰٪) و سینوزیت (۴۰-۵۰٪) است (۱).

منشا عفونت های ذکر شده معمولاً نازوفارنکس خود بیماران می باشد که بدلائل مختلف موجب بیماری های ذکر شده می گردد. به عبارت دیگر پنوموکوک عامل بیماری می تواند جزو فلور نرمال نازوفارنکس باشد (۲). به همین دلیل در برخی از مطالعات جهت بررسی حساسیت پنوموکوک بیماریزا از سوآب نازوفارنکس در افراد سالم استفاده شده است (۳).

متاسفانه مقاومت به پنوموکوک نیز مانند سایر باکتریها روز به روز در حال افزایش است، بطوریکه در آمریکا فقط ۶۰٪ پنوموکوک های جدا شده از بیماران نسبت به پنی سیلین حساس بوده اند (۵ و ۴) و جالب تر آنکه افزایش میزان مقاومت به پنی سیلین همگام با افزایش مقاومت به سایر آنتی بیوتیک ها (مانند سفتریاکسون) نیز بوده است (۵) اما در کشورهای مختلف میزان تاثیر سفتریاکسون و پنی سیلین و مقاومت به آن کاملاً متفاوت بوده است به طوری که در کشور عربستان سعودی ۱۰۰٪ پنوموکوک های جدا شده به سفتریاکسون حساس بوده اند (۶ و ۷). اما میزان مقاومت در کشورهای اروپائی (غیر از آلمان و هلند) در حد بسیار بالایی است و این در صد در کشورهای غربی در حال افزایش است (۸).

در این تحقیق بر آن شدیم تا با توجه به دلایل ذیل میزان مقاومت و حساسیت به پنی سیلین و سفتریاکسون را در پنوموکوک های جدا شده از نمونه های بالینی و یا نازوفارنکس بیماران بررسی نمائیم:

۱. سفتریاکسون داروی بسیار ایمن و کم خطر و در دسترس است و در صورتی که از نمونه های جدا شده مقاومت دیده نشود و یا درصد آن کم باشد می توان بدون تجویز همزمان وانکومایسین بیماران مشکوک به مننژیت باکتریال را درمان نمود (۲).

۲. در آخرین مقالات مربوط به درمان تجربی مننژیت، تاکید به تجویز ۲ آنتی بیوتیک، یعنی سفتریاکسون و وانکومایسین به صورت همزمان بوده است، صرفاً به این دلیل که احتمال وجود مقاومت به سفتریاکسون در حال افزایش است و در صورتی که بعداً در ارزیابی آنتی بیوگرام این مقاومت وجود نداشته باشد و یا بسیار کم باشد، تجویز سفتریاکسون به تنهایی کفایت می کند

(۹ و ۱۰ و ۱۱). در کشور ما متاسفانه بدلیل منفی بودن اغلب کشتهای

تجویز وانکومایسین تا آخر دوره درمان مننژیت ادامه مییابد.

۳. با توجه به اینکه تحقیق مفیدی در خصوص میزان مقاومت پنوموکوک به سفتریاکسون (حداقل در استان اصفهان) با روش E-test صورت نگرفته است مطالعه فوق می تواند پایه ای برای سایر مطالعات بعدی جهت سنجش افزایش یا کاهش میزان مقاومت به پنوموکوک محسوب گردد. لازم به تذکر است که روشهای معمول تعیین حساسیت، مانند Kirby Bauer از ارزش و دقت کمتری نسبت به MIC برخوردارند.

۴. تجویز سفتریاکسون به تنهایی به میزان زیادی از هزینه های اضافی بیماران خواهد کاست و از طرف دیگر هزینه سازمانهای بیمه گر و بیمارستانها و در کل از هزینه های دولت نیز کاسته خواهد شد.

۵. وانکومایسین دارویی است که موارد مقاومت به آنتروکوک و استافیلوکوک های بیمارستانی در جهان گزارش شده و در حال افزایش است (۱۲، ۱۳)، لذا در صورت حساس بودن استرپتوکوک پنومونیه به پنی سیلین و سفتریاکسون می توان مصرف آن به موارد عفونتهای بیمارستانی و خطیر محدود گردد.

مواد و روش ها:

این مطالعه بصورت cross-sectional و آینده نگر در سال ۱۳۸۵ بر روی ۹۸ نمونه استرپتوکوک پنومونیه جدا شده از CSF، ترشحات نازوفارنکس، خون، خلط و سایر نمونه های بالینی مراجعه کننده به بیمارستان الزهراء (س) اصفهان انجام شد.

حجم نمونه مورد نیاز در این تحقیق مطابق فرمول $n = \frac{z^2 pq}{d^2}$ با توجه به میزان شیوع ۴۰٪ مقاومت به پنی سیلین (۱۰) و با سطح اطمینان ۹۵٪ (۱- α) و میزان دقت ۹۰٪، حدوداً ۹۸ نمونه مشتمل بر افراد سالم و بیمار می باشد.

جهت تعیین MIC به روش E-Test از پلیتهای ۱۰ سانتیمتری مولر هینتون آگار حاوی NaCl (۲٪) استفاده شد. بدین صورت که ابتدا سوسپانسیون میکروبی معادل با نیم مک فارلند تهیه کرده و سپس بر روی محیط کشت حاوی Blood agar پاساژ می دهیم. بعد از پانزده دقیقه Strip سفتریاکسون و پنی سیلین را به روی محیط کشت قرار داده و در دمای ۳۵ c به مدت ۲۴-۱۸ ساعت Incubate می نمائیم و سپس MIC آنتی بیوتیک را می خوانیم. کنترل کیفی با استفاده از پنوموکوک ATCC49619 انجام شد. اطلاعات پس از ویرایش و ورود به رایانه توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۳ و WHONET-5 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج:

نمونه های جدا شده از CSF، خون، پلور، اوتیت، آبسه و زخم در بیماران مبتلا به عفونت پنوموکوکی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید ($P < 0.05$).

پنوموکوکیهای جدا شده همانطور که در جدول شماره (۱) مشاهده می شود فقط حدود ۳۰٪ حساسیت به پنی سیلین از خود نشان دادند در حالیکه MIC سفتریاکسون برای موارد غیر مننژیت (non CNS) در حدود ۹۰٪ حساسیت نشان میدهد. این MIC برای مننژیت (CNS) با توجه به نفوذ کمتر دارو، ۸۱/۵٪ می باشد.

این مطالعه بر روی ۹۸ نفر با محدوده سنی بین ۵ تا ۱۰ سال انجام گردید. در میان نمونه ها ۴۷٪ مونث و ۵۳٪ مذکر می باشند. نمونه های بالینی که از آنها در آزمایشگاه استرپتوکوک پنومونیه جدا گردیده است ۵۵٪ از ترشحات نازوفارنکس افراد سالم و ۴۵٪ از افراد بیمار پس از نمونه گیری و تایید توسط آزمایشگاه که شامل ۲۰٪ از CSF، ۱۶/۵٪ از خون، ۳٪ از مایع پلور، ۳٪ از گوش (بیماران با اوتیت)، ۱/۰۲٪ (۱ نفر) از آبسه و ۱/۰۲٪ (۱ نفر) از زخم میباشد.

بین مقاومت و حساسیت نمونه های جدا شده از حلق افراد سالم و

جدول شماره (۱): بررسی حساسیت و مقاومت و محدوده MIC پنوموکوک به سفتریاکسون و پنی سیلین

آنتی بیوتیک	محل عفونت*	محدوده حساسیت	مقاومت	وضعیت بینابینی	حساسیت	MIC50	MIC90	MIC Range
سفتریاکسون	CNS	S<=0/5 R>=2	10/9	7/6	81/5	0/25	1.5	0/016 - 256
سفتریاکسون	non CNS	S<=1 R>=4	3/3	7/6	89/1	0/25	1.5	0/016 - 256
پنی سیلین	-----	S<=0/064 R>=2	15/4	54/9	29/7	0/25	2	0/003 - 32

* MIC سفتریاکسون نسبت به پنوموکوک در دو حالت CNS و nonCNS محاسبه میگردد که در مورد CNS محدوده حساسیت پایین تر و نصف موارد nonCNS است. در حالیکه MIC پنی سیلین در تمام حالات یکسان میباشد.

دهد. همچنین در این مطالعه پنوموکوک حساسیت بسیار خوب و قابل قبولی به سفتریاکسون از خود نشان داده است. در مطالعات مختلف و بررسی مقالات، مقاومت به پنی سیلین بین ۲۵٪ تا ۵۰٪ بوده است (متوسط ۴۰٪) و مقاومت نسبت به سفتریاکسون نیز بین ۲٪ تا ۷٪ بوده که به طور متوسط ۵٪ می باشد (۱۶). در مطالعه افتخار و همکاران که طی سالهای ۷۷-۱۳۷۶ در تهران انجام شد از ۶۶ پنوموکوک جدا شده از بیماران ۲۸٪ از نمونه ها مقاوم به پنی سیلین بودند و مقاومت به آمپی سیلین، آموکسی سیلین و سفازولین به روش انتشار دیسکی به ترتیب ۷۶٪، ۸۱/۱٪ و ۱۰٪ بود (۱۷). در مطالعه ای دیگر که درجه های زیر ۵ سال در کشورهای آسیایی در ژانویه ۹۸ تا مارس ۹۹ انجام گرفته است (۶۴/۲٪) موارد به پنی سیلین حساس بودند (۱۸).

در اروپا کمترین میزان مقاومت در کشور هلند با ۳/۲ درصد و بیشترین میزان در کشور فرانسه با ۵۳/۳٪ است و در آمریکای لاتین نیز کمترین میزان در برزیل با ۱۵/۶٪ و بیشترین میزان مقاومت در کشور مکزیک و اروگوئه با ۶۰٪ است (۱۹) و در نهایت در مطالعات دیگری که در آمریکا و کانادا انجام شد به

نمودارهای شماره (۶ - ۱) در ضمیمه مقاله بدین منظور ترسیم گردیده است.

بحث:

محدوده سنی در این مطالعه بیشتر از میان کودکان می باشد و آن بدین علت است که کلونیزاسیون نازوفارنژیال پنوموکوک در بچه ها (۲۰ تا ۴۰٪) بیشتر از بالغین (۵ تا ۱۰٪) است (۱۵). در این تحقیق نیمی از نمونه ها از کشت حلق افراد سالم و بقیه از افراد بیمار تهیه گردیده است. که همانگونه که در مقدمه ذکر گردید منشا عفونت های ذکر شده معمولا نازوفارنکس بیماران می باشد و پنوموکوک عامل بیماری می تواند جزو فلور نرمال نازوفارنکس باشد (۲). به همین دلیل در برخی از مطالعات جهت بررسی حساسیت پنوموکوک بیماریزا از سواب نازوفارنکس در افراد سالم استفاده شده است (۳).

در مطالعه حاضر حدود ۳۰٪ حساسیت با پنی سیلین و بیش از ۵۰٪ وضعیت بینابینی مشاهده می شود و این مزیت روش انجام آن یعنی E-Test می باشد که با دقت بالاتر نسبت به روشهای قدیمی محدوده فعالیت آنتی بیوتیک علیه ارگانیسم را نشان می

- (1998-2002).clin infect Dis.2003;36:963-970
- 6-Fouda SI, Kadry AA, Shibl AM. Beta-lactam and macrolide resistance and serotype distribution among *Streptococcus pneumoniae* isolates from Saudi Arabia. J Chemother. 2004 Dec;16(6):517-23
- 7-Burcin sener, Trends in antimicrobial resistance of str. pneumonia child in a Turkish hospital. journal of Antimicrobial chemotherapy 1998;42,381-384
- 8-Harbarth S,Albrich W,Burn-Buisson C.Outpatient antibiotics use and prevalence of antibiotic-resistant pneumococcus in france and germany: A sociocultural perspective. Emerh infect Dis. 2002;8:1460-1467
- 9-Tunkel AR. Bacterial meningitis. philadelphia: lippincott,Williams&wilkins;2001;472:35-52.
- 10-Tunkel AR,scheld Wm.Bacterial meningitis. lancet.1995;346:1675-1680.
- 11-Tunkel AR,scheld Wm.Treatment of bacterial meningitis.Curr infect Dis Rep.2002;4:7-16.
- 12.Hiramasu K. The emergency of staphylococcus aureus with reduced susceptibility to vancomycin in Japan. Am J Med. 1998;104:7-10.
۱۳. سلطانی عربشاهی ک . فروهش تهرانی هما. محمود عربی م. آنتروکوکهای مقاوم به وانکومايسين در بیماران بستری، مجله دانشگاه علوم پزشکی ایران، ۱۳۷۸ ، دوره ۶، زمستان ، شماره ۴ ، صفحات ۳۰۹-۳۰۲
- غازیانی ط. درسنامه جامع داروهای رسمی ایران، انتشارات س. ۱۴. شهرزاد بهار ۸۱ صفحه ۷۱۸ تیمورزاده، چاپ اول،
15. Kasper D, Braunwald E, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson JK. Harisson principles of internal medicine. 16th. Mc Graw-Hill. USA. 2005:3023-6.
16. B Tunkel AR ,scheld WM.Treatment of bacterial meningitis.curr infect dis Rep.2002;4:7-16.
- ۱۷-مینو، بررسی مقاومت آنتی محرز ، میسنا عیشورا ، فرشته ۱۷. افتخار و گرمسیری ۱۳۷۸؛ عفونی مجله بیماریهای بیوتیکی استرپتوکوک پنومونیه شماره نهم: ۱۹ - ۳۰.
18. Young Lee , Jae. Hoon Songe, Carriage of Antibiotic resistant pneumococci among asian

ترتیب ۲۴ و ۶/۸٪ مقاومت پنوموکوک به پنی سیلین و سفتریاکسون گزارش گردید (۲۰ و ۲۱).
در این مطالعه نیز مانند مطالعات ذکر شده مقاومت به پنی سیلین بالا ولی سفتریاکسون بسته به منطقه ای که تحقیق در آن انجام شده است متفاوت است. سفتریاکسون در مورد غیر مننژیت بسیار حساس است و با توجه به اینکه جهت درمان موارد مننژیت نیز میزان سفتریاکسون دو برابر غیر مننژیت می باشد با این میزان MIC بدست آمده در مجموع سفتریاکسون داروی بسیار مفید و همچنان موثر جهت درمان پنوموکوک می باشد.

نتیجه گیری:

پنی سیلین داروی موثری جهت پوشش پنوموکوک حتی در کودکان نمی باشد ولی با توجه به موثر بودن سفتریاکسون این دارو در مواردی که در ابتدای مراجعه بیمار، شک به پنوموکوک وجود دارد می تواند به تنهایی کفایت کند.

References

- 1-Irani DN ,Griffin DE.Approach to the patient with infection of the central nervous system. In: Gorbach SL, Bartlett JG ,Blacklow NR. Infectious Diseases, Third ed, lippincott Willlams & wilkins. Philladelphia,2004:1259-263
- 2-Musher DM. Streptococcus pneumonia. In: Mandell GL, Benett JE, Dolin R.Mandell, Duglas and Bennett, principle and practice of infectious diseases. 6th ed. Elsevier Co.philladelphia,2005:2392-410
- 3-KATHERINE L. O'BRIEN, MD, MPH, HANNA NOHYNEK, MD. Report from a WHO Working Group: standard method for detecting upper respiratory carriage of *Streptococcus pneumoniae*. Pediatrics infectious dis j,2003;22:el-11 vol.22,no.2
- 4-Whitney CG, farley MM, Hadler J,. Increasing prevalence of multidrug resistant streptococcus pneumoniae in the united states.N Engl Med.2002;343:1917-1924
- 5-Karlosky JA, Thorsnberry C,Jones ME,et al.Factors associated with relative rates of antimicrobial resistance among streptococcus pneumoniae in the USA: results from the TRUST surveillance program

children. J Microbial Immunol Infect 1999; 32: 179-86.

21. Whitney C G, Farley M M, Halder J, et al, Increasing prevalence of multi drug resistant *Streptococcus pneumoniae* in the U.S, N.Engl.J.Med 2000; 343: 1917-240.

children: A multi-national surveillance by ANSORP. Clinical Infect Dis 2001: 32:1463-9.

19. Peter C . Appelbam. Resistance among *streptococcus pneumoniae*: Implication for drug selection. Clin. Infect Dis 2002;34:1613-20 .

20. Lu Lu C.Y, Lee PI, Hsueh P.R,et al.Penicillin nonsusceptible *streptococcus pneumoniae* infection in

ضمیمه



