دانشور

پزشکي

بررسی میزان مقاومت به متیسیلین در سویههای استافیلوکوکوس ارئوس جدا شده از بیمــــاران و حساســـیت آنهــــا بـــه آنتیبیوتیکهای مورد نظر

نویسنده: دکتر محسن چیتساز

استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده یزشکی، دانشگاه شاهد

E.mail: chitsaz@shahed.ac.ir

چکیده

مقدمه: مقاومت به متیسیلین در سویههای بالینی استافیلوکوکوس یک شاخص مهم آزمایشگاهی و بالینی است، زیرا با مقاومت به شمار متعددی از آنتیبیوتیکها مرتبط است. این سویهها اغلب عفونتهای بیمارستانی به وجود می آورند. بنابراین پایش و کنترل این نوع سویههای مقاوم، یک ضرورت همیشگی است.

هدف: این تحقیق توصیفی برای تعیین میزان وفور مقاومت به متیسیلین در بین سویههای بالینی استافیلوکوکوس ارئوس جدا شده از بیماران بستری در چهار بیمارستان ریفرال شهر تهران است.

مواد و روشها: تحقیق در سال ۱۳۸۰ انجام شده و نمونه ها از چهار بیمارستان امام خمینی (ره)، مرکز طبی کودکان، شفاء یحیائیان و سوانح و سوختگی توحید جمع آوری شده اند. ۳۶۹ سویه بالینی غیرتکراری استافیلوکوکوس ارئوس مورد آزمایش قرار گرفتند. مقاومت براساس مقادیر MIC اگزاسیلین سویه ها باروش رقت در آگار مطابق با استانداردهای NCCLS تعیین گردید. همچنین مقاومت سویه هابه ۲۲ نوع آنتی بیوتیک دیگر به روش کربی – بائر (Kirby-Bauer) وبراساس استانداردهای NCCLS مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج: ازمجموع ۳۶۹ سویه بالینی استافیلوکوکوس ارئوس (S.aureus)، ۱۸۵ سویه (۲۰۱۰ درصد) به اگزاسیلین مقاومت داشتند (MIC≥4µg/ml). مقاومت به ۲۲ نوع آنتیبیوتیک دیگر در سویههای حساس و مقاوم به متیسیلین استافیلوکوکوس ارئوس (MRSA و MSSA) مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که مقادیر مقاومت به اغلب آنتیبیوتیکها در بین سویههای MRSA بهطور معنادار و با اختلاف فاحشی از سویههای MSSA بیشتر است، بهطوری که مقاومت به اریترومایسین در سویههای MSSA و MSSA به ترتیب ۱۰/۳ درصد و ۹۵/۵ درصد، به جنتامایسین ۵/۹ و ۹۸/۲ درصد، به تتراسیکلین /کلولانیک اسید ۵/۹ و ۸۳/۸ درصد، به تتراسیکلین ۸۳/۸ و ۳۹/۸

دوماهنامه علمی - پژوهشی دانشگاه شاهد سال سیزدهم - شماره 61 اسفند ۱۳۸۴

تاریخ وصول: ۸۳/۶/۱۶ تاریخ پذیرش: ۸۴/۴/۱۱

۹۷/۲ درصد، به سیپروفلوکساسین ۰/۰ و ۹۷/۶ درصد، به ایمیپنم ۰/۰ و ۸۱/۱ درصد، و به سفالوتین ۰/۰ و ۹۳/۵ درصد بود. بررسی همبستگی بین مقاومت به متیسیلین با مقاومت به سایر آنتیبیوتیکها، خصوصیت مقاومت به چندین دارو (مولتی رزیستانت) را در تمام سویههای MRSA نشان داد. سویههای MRSA در آزمایش دیسک دیفیوژن نسبت به وانکومایسین و با نسبت بسیار بالا به تئی کوپلانین و فوسیدیک اسید حساس بودند.

نتیجه گیری: نتایج تحقیق حاکی از آن است که نسبت مقاومت به متیسیلین در جمعیت میکروبی مورد مطالعه بالا است و اتضان برنامههای کنترلی در بیمارستانهای مورد مطالعه را ضروری میکند. همچنین خصوصیت مولتی رزیستانس سویههای مقاوم به متیسیلین استفاده درمانی از بسیاری از آنتی بیوتیکها را تقریباً برای نیمی از موارد بالینی عفونت با استافیلوکوکوس ارئوس در محدوده مورد مطالعه غیرمؤثر کرده است. خوشبختانه بیش از ۹۵ درصد سویههای MRSA در مقابل وانکومایسین، فوسیدیک اسید و تئی کویلانین همچنان حساس باقی ماندهاند.

واژههای کلیدی: مقاومت به متیسیلین، استافیلوکوکوس ارئوس، مولتی رزیستانس

بوماهنامه علمي - پژوهشي دانشور پزشكي / دانشگاه شاهد / اسفند ٨٠ / سال سيزدهم / شماره ٦٠

مواد و *ر*وشها

۱– سویههای میکروبی

سویههای میکروبی شامل ۳۶۹ سویه استافیلوکوکوس کوآگولاز مثبت جدا شده از نمونههای بالینی بیماران بستری از چهار بیمارستان ریفرال شهر تهران (بیمارستان امام خمینی (ره)، مرکز طبی کودکان، بیمارستان سوانح و سوختگی توحید و بیمارستان شفاء یحیائیان) بودند که در طول سال ۱۳۸۰ جمع آوری شدند. همزمان با دریافت نمونه، یک شماره مرجع به هر نمونه اختصاص داده می شد و شماره پرونده بیمار نیز ثبت می گردید. سویه های میکروبی سپس به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پزشکی شاهد انتقال یافته، با تستهای افتراقی استافیلو کو کوسها، شامل کو آگولاز، رشد بر روی محیط مانیتول سالت آگار و تخمیر مانیتول و DNAase برای تعیمین هویت آزمایش می شدند. سویه های تعیین هویت شده بلافاصله به محیط نگهدارنده که از محلول بافر فسفات (PBS) [PH=7.4] با افزودن ۵ درصد آلبومین سرم گاوی (ICN Flow) و ۱۰ درصد دیمتیل سولفو کساید (dimethyl sulfoxide [C₂H₆OS], MERK) تهيـه مــى شــد انتقال یافته، در شرایط انجماد ۲۰- درجه سلسیوس تا زمان انجام تستهای حساسیت به متی سیلین و سایر آنتی بیوتیک ها نگه داری می شدند. در این تحقیق سویههای میکروبی استاندارد (Staphylococcus aureus ATCC 25923 بـــه (Staphylococcus aureus ATCC 29213 بـــه منظور كنترل كيفي صحت و دقت روشها و مواد مورد استفاده قرار گرفتند.

۲- تعیین MIC اگزاسیلین به روش رقت در آگار

محلول استوک اگزاسیلین (۲۵۶۰۰ μ g/ml) با استفاده از پسودر اگزاسیلین (Oxacillin sodium salt monohydrate پسودر اگزاسیلین (Sigma Lot 87H1507)] در آب مقطر استریل تهیه می شد. لوله های استوک آنتی بیوتیک تا زمان استفاده در شرایط انجماد $^{\circ}$ - نگهداری می شدند. در هر دوره آزمایش، ابتدا از یک محلول استوک اگزاسیلین رقتهای متسوالی

مقدمه

استافیلو کو کوسهای مقاوم به متی سیلین از مشکلات مهم پزشکی و بیماریهای عفونی محسوب میشوند [۲،۱و۳]. وفور بالای این سویه ها می تواند استفاده از شمار متعددی از آنتی بیوتیک ها را برای درمان عفونتهای استافیلو کو کوسی محدود کرده، گاه شکستهای درمانی را موجب شود [۴و۵]. سویههای دارای مقاومت چندگانه اغلب به انواع بیمارستانی تعلق داشته، می توانند منشأ عفونتهای موردی یا اییدمیهای بيمارستاني شوند [عو٧]. اين سويه ها همچنين مي توانند مشكلات و گرفتاری های درمانی و كنترلی متعددی را به وجود آورده، هزینه های گزافی را به بیمار و سیستم بهداشت و درمان تحمیل کنند [۸]. یـایش وآگـاهی از میزان وفور استافیلو کو کوسهای مقاوم به متی سیلین در جمعیتهای میکروبی مخصوصاً در بیمارستانها به دلایل گفته شده یک ضرورت دائمی است که می تواند تا حدودی خطر نسبی مواجهه با این قبیل سویهها را در عفونتهای ناشی از استافیلو کو کوس پیشبینی کرده، همچنین یک آگاهی اولیه از آنتی بیوتیکهای مؤثر برای درمان تجربی را قبل ازاین که نتایج آزمایشگاه آماده شود فراهم كند. اين مطالعات همچنين مي توانند موجب آگاهی از خطر و ترویج شیوه های مؤثر پیشگیری از گسترش سویههای مقاوم شوند.

در این تحقیق، وفور مقاومت به متی سیلین در بین سویه های بالینی استافیلو کو کوس ارئوس جدا شده از بیماران بستری از چهار بیمارستان شهر تهران بررسی خواهد شد. همچنین مقاومت سویه ها به تعدادی از آنتی بیوتیک ها که برخی به طور متداول در درمان عفونت های استافیلو کو کوسی در کشور مورد استفاده قرار می گیرند و چند داروی جدید که در کشورهای دیگر برای این منظور استفاده می شوند مورد سنجش قرار گرفته، سپس نسبتهای مقاومت به هر یک از آنتی بیوتیک ها در بین سویه های MSSA و MRSA مقایسه خواهد شد.

دو مرتبهای در محدوده ۱۲۸۰۰ستا ۱۲۸۰۰ستا ۶٬۲۵سور دو مرتبهای در محدوده آب مقطر استریل تهیه و سپس از هر رقت محلول آنتیبیوتیک به نسبت ۱:۱۰۰ به شیشههای محتوی محیط مولرهینتون آگار (MERK) استریل ذوب شده و خنک شده تا دمای ۵۰۰ – ۴۵۰ افزوده شده، در پلیتهای ۱۰ سانتی متری پخش می شد. یک عدد پلیت به عنوان کنترل مثبت (فاقد آنتی بیوتیک) استفاده می شد. پلیتهای مثبت به صورت نقطهای توسط سواب پنبهای استریل از سوسپانسیون تهیه شده از کشت ۲۴ ساعته سویههای سوسپانسیون تهیه شده از کشت ۲۴ ساعته سویههای تست در سرم فیزیولوژی استریل با کدورت معادل ۵۰۰ می شدند. مقدار اینوکلوم در هر نقطه تلقیح می شدند. مقدار اینوکلوم در هر نقطه تلقیح می شدند. مقدار اینوکلوم در هر نقطه تلقیح معادل ۵۰۰ –۱۰ بود.

همچنین در هر دوره آزمایش از سوسپانسیون تهیه شده از کشت ۲۴ ساعتهسویهاستاندارد استافیلوکوکوس ارئوس (Staphylococcus aureus) ATCC 25923) در کنار سویههای تست تلقیح می شد.سپس سری پلیتها به گرمخانه ۳۵° انتقال داده شده، ۲۴ ساعت کامل اجازه رشد داده می شد. سری پلیتها بعد از ۲۴ ساعت برای رشد استافیلوکوکوس ارئوس در نقاط تلقیح شده بررسی می شدند. هرگونه رشد باکتری (بهصورت انبوه یا کلنیهای معدود و منفرد) مقاومت نسبت به آن رقت تلقی می شد. حداقل غلظتی که باکتری هیچگونه رشد قابل مشاهده در آن نداشت به عنوان MIC تعیین و در فرمهای مربوط با شماره مرجع سویه باکتری ثبت می گردید. معیار مقاومت به اگزاسیلین MIC≤2mcg/ml در نظر معیار حساس بودن به اگزاسیلین MIC≤2mcg/ml در نظر گرفته شده بود [۹].

۳– آزمایشهای دیسک دیفیوژن

تعیسین حساسسیت سسویههای میکروبی به سسایر آنتی بیوتیکهای مورد نظر به روش دیسک دیفیوژن (kirby-bauer) مطابق با استاندادهای NCCLS انجام گردید [۱۰]. دیسکهای کاغذی مخصوص آنتی بیوگرام از شرکت دیفکو و محیط مولر – هینتون آگار از شرکت مرک تهیه گردیدند. پلیتهای مولر – هینتون آگار به ضخامت حدود ۴mm، با اینوکلوم تهیه شده از کشت

۲۴ ساعته سویههای تست در سرم فیزیولوژی استریل که کدورت آنها با شماره ۱۰/۵ استاندارد مک فارلند تنظیم می گردید تلقیح می شدند. سپس دیسکهای کاغذی محتوی آنتیبیوتیک به دقت روی آگار گذاشته می شد. از هرپلیت ده سانتی برای شدش عدد دیسک آنتیبیوتیک استفاده شد. پلیتها ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۵°۵ گذاشته می شدند و در انتهای ۲۴ ساعت قطر هالههای عدم رشد با خط کش مخصوص آنتیبیوگرام اندازه گیری و حالت حساس (Sensitive)، حد واسط اندازه گیری و حالت حساس (Resistant) یا مقاوم (Resistant) برای هر آنتیبیوتیک از روی معیارهای جداول استاندارد NCCLS وشدرکت دیفکو تعیین می شد [۱۰].

روشهای آماری

۱. تعداد نمونه مورد نیاز (سویه بالینی استافیلوکوکوس $n = \frac{Z^2 P(1-P)}{d^2}$ با دقت $n = \frac{Z^2 P(1-P)}{d^2}$ با حدود اعتماد ۹۵ درصد و با در نظر گرفتن اطلاعات مربوط به وفور مقاومت به متی سیلین در سایر کشورها و مطالعات قبلی داخل کشور به تعداد حداقل ۳۳۶ نمونه بر آورد شده بود.

 آزمون پیرسون (Pearson's R) برای تعیین وجود ارتباط بین مقاومت به اگزاسیلین با مقاومت به سایر آنتی بیوتیکها و معیار توافقی کاپا (Kappa) برای تعیین شدت همبستگی با نرمافزار SPSS به کار برده شد.

نتايج

مجموعاً ۳۶۹ سویه بالینی استافیلوکوکوس ارئوس از چهار بیمارستان شهر تهران (بیمارستان امام خمینی(ره)، مرکز طبعی کودکان، بیمارستان شفاء یحیائیان و بیمارستان سوانح و سوختگی توحید) در سال ۱۳۸۰ مورد آزمایش قرار گرفت.

نتایج حاصل از مطالعه در جدولهای ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ نشان داده شدهاند و جزئیات آن در قسمت بحث و نتیجه گیری مورد بحث قرار گرفته است.

دوماهنامه علمي - پژوهشي دانشور پزشكي / دانشگاه شاهد / اسفند ٨٠ / سال سيزدهم / شماره ٤٦

جدول ۱: توزیع فراوانی سویههای استافیلوکوکوس ارئوس جدا شده از نمونههای بالینی بیماران بستری در بیمارستانهای مورد مطالعه در شهر تهران (سال ۱۳۸۰)

لوكوس ارئوس	فراوانى استافيلوك	نام بیمارستان	
درصد	تعداد	. J	
44/4	154	امام خمینی	
44/8	174	مرکز طبی کودکان	
۲۰/۰	٧۴	سوانح و سوختگی توحید	
1/9	٧	شفاء يحيائيان	
1	464	مجموع	

بحث و نتیجهگیری

سویه های مقاوم به متی سیلین استافیلوکوکوس ارئوس یک مشکل مهم درمانی و عفونتهای بیمارستانی محسوب می شوند. پایش مستمر این سویه ها در جمعیتهای میکروبی خصوصاً در بیمارستانها، جایی که آنها می توانند بیماران و افراد مستعد عفونت را تحت تأثیر قرار داده و عفونتهای بیمارستانی مقاوم به درمان به صورت موردی یا اپیدمی به وجود بیاورند، اقدامی ضروری محسوب می شود.

هدف این تحقیق دردرجه اول، تعیین میزان وفور مقاومت به متی سیلین دربین سویه های استافیلو کو کوس

ارئوس جدا شده از نمونههای بالینی بیماران بستری در چهار بیمارستان دانشگاهی شهر تهران بود. در ایس بررسی در مجموع ۳۶۹ سویه بالینی استافیلوکوکوس ارئوس آزمایش شد. جدول ۱ تعداد سویههای بالینی مطالعه شده را به تفکیک بیمارستانها نشان می دهد. از آنجا که تعداد نمونه مورد نیاز برای برآورد میزان مقاومت با اعتماد ۹۵ درصد برای جمعیت کلی میکروبی محاسبه شده بود و با کاهش تعداد نمونه در بیمارستانها، اعتماد برآورد کاهش می یافت، لذا برای جبران افزایش خطا در تعمیم نسبتهای به دست آمده برای جامعه مورد مطالعه، فاصلههای اطمینان ۹۵ درصد برای هر یک از نسبتهای مقاومت به دست آمده می محاسبه و در جدول ۲ ارائه شده است.

نتایج مطالعه نشان داد که از مجموع ۳۶۹ سویه بالینی S.aureus، ۱۸۵ سویه (۵۰/۱ درصد) به متی سیلین بالینی S.aureus سویه (۵۰/۱ درصد) به متی سیلین مقاوم بودند (میروستان اسلاح). مقادیر مقاومت در بیمارستانها به این صورت بود: بیمارستان امام خمینی (۴۳/۹ درصد)، مرکز طبی کودکان (۴۸/۴ درصد) و بیمارستان سوانح و سوختگی توحید (۷۱/۶ درصد). تعداد نمونه برای برآورد قابل اعتماد میران مقاومت برای بیمارستان شفاء یحیائیان کافی نبود. برای

جدول ۲: فراوانی مقاومت به متی سیلین در سویه های بالینی استافیلو کو کوس ارئوس در بیمارستان های مورد مطالعه (سال ۱۳۸۰)

فاصلههای اطمینان ۹۵ درصد برای نسبتهای مقاومت به متیسیلین		فراوانی مقاومت به متیسیلین				
حد بالا	حد پایین	مقاوم b		حساس a		نام بیما <i>ر</i> ستان
	O:::4	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
7.01/4	'/ . ٣۶/٣	44/9	Y Y	08/1	97	امام خمینی
'/. ۵ V/ \	7.49/8	41/4	۶۰	۵۱/۶	94	مرکز طبیکودکان
/.A1/A	7.81/4	٧١/۶	۵۳	Y A/ F	71	سوانح وسوختگی توحید
-	_	* , *	*	١٠٠	٧	شفاءيحيائيان
'/.۵۵/ Y	7.44/9	۵۰/۱	۱۸۵	49/9	۱۸۴	مجموع

⁼MIC≤2μg/ml :a حساس به اگزاسیلین

MIC≥4μg/ml :b = مقاوم به اگزاسیلین

جدول ۳: توزیع فراوانی سویههای بالینی استافیلو کو کوس ارئوس بر حسب مقادیر MIC اگزاسیلین (متی سیلین)

	3 · U J	<i>J</i>	J. U J J	
لوکوکوس ا <i>ر</i> ئوس	فراوانى استافيا	مقادیر MIC		
درصد	تعداد	μg/m	ıl	
V /•	48	•/•۶۲		
۲1 /۴	v9	•/170		
1٧/٣	84	•/40	4	
Y/V	١٠	٠/۵	حساس	
1/1	۴	١		
•/٣	1	۲		
٠/۵	۲	۴	{	
1/9	٧	٨		
* . *	•	18	:3	
* . *	•	47	مقاوم	
٠/٣	١	54		
4V/48(44/8)×	140	>1 47		
49/9	114	حساس		
۵۱/۱	1/0	مقاوم	جمع	
1	464	کل		

* فراوانی نسبی سویههایی که MIC> ۱ ۲۸ μ g/ml دارند، نسبت به کل سویهها (۴۷/۴ درصد) و نسبت به سویههای مقاوم به تنهایی (۹۴/۶ درصد) است.

مشخص شدن وضعیت مقاومت به متی سیلین در جامعه مورد مطالعه می توان نسبتهای به دست آمده در ایس مطالعه را در مقایسه با تعدادی از مطالعات وسیع مورد توجه قرار داد. به عنوان نمونه در مطالعه سال ۲۰۰۳ استفانی (Stefani) و همکارانش [۱] در اروپا، میزان شیوع MRSA کم تر از ۲ درصد در بیمارستانهای کشورهای اسکاندیناوی و بسیش از ۴۰ درصد در بیمارستانهای بیمارستانهای کشورهای مدیترانهای با روند تقریباً بیمارستانهای کشورهای مدیترانهای با روند تقریباً ثابت در طی ده سال گذشته گزارش شده است. ایس پژوهشگران همچنین گسترش وسیع جغرافیایی MRSA را ناشی از انتشار چند کلون به شدت اپیدمیک دارای بخورده اصلی: لیبریین (Liberian)، برازیلیین (Brazilian)، برازیلیین (Hungarian)، پاندمیک کودکان توصیف کردهاند. نسبت کلی به دست پاندمیک کودکان توصیف کردهاند. نسبت کلی به دست

آمده در تحقیق ما (۵۰/۱ درصد) سازگاری زیادی با یافته های این تحقیق گسترده دارد، بخصوص از این جهت که از نظر جغرافیایی کشور ما نزدیک منطقه مدیترانه ای واقع شده است، هر چند که مشخص شدن کلونهای منتشرکننده مقاومت نیاز به مطالعات در سطح ژنو تیپی دارد.

مطالعات متعددی شیوع MRSA در بخشهای خاص مثل سوختگی و مراقبتهای ویـژه را تـا بـیش از ۷۰ درصد گزارش کردهاند که بهعنوان مثال مـی تـوان بـه مطالعه اروپایی شیوع عفونت در بخشهای مراقبتهای ویژه توسط وینسن (Vincen) در سال ۲۰۰۰ اشاره کـرد [۱۲و۲۱]. در این مطالعه بیش ترین میزان شـیوع MRSA در ایتالیا (۸۱ درصـد) و فرانسـه (۷۸ درصـد) معلوم گردید. نسبت بهدست آمده برای بیمارسـتان سـوانح و سوختگی توحید (۷۰/۱ درصد) با در نظرگـرفتن حـد بالای فاصله اطمینان (۸۱/۱ درصد) نزدیک به یافتههای بژوهش ذکر شده است.

مرور تعداد ۱۱ مطالعه از داخل کشور از سال ۱۳۶۶ تا سال ۱۳۸۱ مقادیر مقاومت به متیسیلین در سویه های استافیلو کو کوس ارئوس را از حداقل ۱۱ درصد تا حداکثر ۱۰۰ درصد در گـزارشهـای منتشـر شده نشان می دهد [۱۸،۱۷،۱۶،۱۵،۱۴،۱۳]. مقادیر ۱۰۰ درصد مربوط به دو مطالعه و از بخسهای سوختگی بودهاند. میزان شیوع مقاومت به متی سیلین در سویه های استافیلو کو کوس ارئوس در مطالعه ما (۵۰/۱ درصد) با مقادیر گزارش شده در مطالعات داخل کشور تشابهات و اختلافاتی را نشان میدهد. عمدهترین مزیتی که این بررسی نسبت به تعداد زیادی از مطالعات داخل کشور دارد، بیش تر بودن تعداد نمونه در تحقیق ما است، به طوری که ما در مجموع ۳۶۹ نمونه را مورد آزمایش قرار دادیم، در حالی که تعداد نمونهها در اکثر مطالعات داخلی کمتر از ۱۰۰ نمونه بود. تفاوت دیگـر در طول زمان مطالعه است، بهطوری که بررسی ما در طول مدت یکسال (۱۳۸۰) صورت گرفت، در صورتی که در اکثر مطالعات داخلی ارائه شده این مدت زمان

دوماهنامه علمي - پژوهشي دانشور پزشكي / دانشگاه شاهد / اسفند ۱۸۴ سال سيزدهم / شماره ۶۱

جدول ٤: فراوانی مقاومت به ۲۲ نوع آنتی بیوتیک در سویه های بالینی استافیلوکوکوس ارئوس (شامل سویه های حساس به متی سیلین – MSSA – و مقاوم به متی سیلین – MRSA) × جدا شده از بیماران بستری در چهار بیمارستان منتخب شهر تهران (سال ۱۳۸۰)

مقاوم		Intermediate		حساس		نام آنتیبیوتیک
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	يعداد	عم التيبيونيت
٩٨/٣٧	454	*.*	٠	7.1788	۶	پنىسىلىن G
٩٨/٣٧	454	• . •	٠	/.1/84	۶	آمپىسىلىن
۵۰/۱	110	• , •	٠	/.49/9	114	كلوگزاسيلين
۵۰/۱	۱۸۵	• . •	٠	7.49/9	114	اگزاسیلین
47/71	108	• . •	٠	7.0٧/٧٢	714	آمو كسى سيلين /كلاو لانيك اسيد
48/9	174	•//1	٣	7.04/1	190	سفالو تين
44/	1.4	/.A/ ۱۳	٣.	/.F Y /AV	747	سفاماندول
49/0	141	/.•/٨١	٣	7.0 • / 14	110	سفتيزو كسيم
01/49	19.	7.1748	۵	7.44/10	174	جنتامايسين
49/09	١٨٣	/·/ ^ 1	٣	7.49/09	١٨٣	توبرامايسين
44/17	184	/•.•	٠	7.00/14	4.5	آميكاسين
۵۲/۸۵	190	/.1/49	۵	/. ۴ ۵/ ۸ •	189	اريترومايسين
8N/D8	704	/•/ YV	١	/41/17	110	تتراسيكلين
44/84	181	/.·/ ۵ ۴	۲	7.00/14	4.5	سيپروفلوكساسين
4./80	10.	/.•/•	٠	7.09/04	719	ایمنی پنم
٠,٠	•	/•/ YV	١	/.٩٩/٧٣	364	وانكومايسين
١/•٨	۴	/.·/ ۵ ۴	۲	/.٩٨/٣٧	454	تئى كوپلانين
۴/۸۸	١٨	/.·/ ۵ ۴	۲	7.94/DA	449	كلرامفنيكل
10/14	۵۶	/·/ YV	١	7.14/00	414	كليندامايسين
49/9	114	/	٠	7.0 • / 1	110	تری متوپریم/سولفامتوکسازول
۸/۱۳	٣٠	/·/ YV	١	7.91/8	٣٣٨	ريفامپين
4/44	٩	/•.•	٠	7.97/08	46.	نيتروفورانتوئين
Y/1V	٨	/4/40	17	/94/01	444	فوسيديك اسيد

× مجموع سویههای (MSSA و MRSA) تست شده، شامل ۳۶۹ سویه است.

از یک ماه تا ۶ ماه متغیر و غالباً کم تر از سه ماه است. مزیت مهم دیگر این بررسی در روش کار است، به طوری که ما برای افزایش حساسیت و دقت در شناسایی سویههای مقاوم به متی سیلین در کنار استفاده از روش متداول دیسک دیفیوژن استاندارد، از تعیین MIC سویه ها برای متی سیلین استفاده کردیم، در حالی که در اکثر مطالعات داخلی دیگر، تنها از روش دیسک دیفیوژن استفاده شده و فقط در تعداد معدودی MIC

اندازه گیری شده است. صرف نظر از تعداد نمونه، طول زمان مطالعه و روشهای به کار رفته می توانند دقت نتایج به دست آمده در مطالعات مختلف را تحت تأثیر قرار داده، موجب اختلاف در مقادیر گزارش شده شوند. تشابهات و اختلافات در مقادیر مقاومت عمدتاً می توانند حاکی از اختلاف در ناحیه جغرافیایی، زمان مطالعه، مراکز، بیمارستانها و بخشهای مورد مطالعه، وضعیت بیماران (بستری یا سرپایی) و نوع عفونت

جدول ۵: مقایسه فراوانی مقاومت به ۲۲ نوع آنتی بیوتیک در سویه های بالینی حساس به متی سیلین (MSSA) و مقاوم به متی سیلین (MRSA) استافیلو کوکوس ارئوس و تعیین همبستگی بین مقاومت به متی سیلین با مقاومت به سایر آنتی بیوتیک ها

ھمبستگی		فراوانی مقاومت در سویههای **MRSA		فراوانی مقاومت در سویههای *MSSA		نام آنتیبیوتیک
شدت ^ه	P-value ^a	درصد	تعداد	درصد	تعداد	. 75
•/•٣٣	•/•1٣	7.1 • • / •	۱۸۵	'/. ٩٧/ •	١٧٨	پنىسىلىن G
•/•٣٣	./.1٣	/. \ • • / •	۱۸۵	'/. ٩٧/ •	١٧٨	آمپ <i>ى</i> سىلىن
_	_	/. \ • • / •	۱۸۵	'/. * / *	•	كلو گزاسيلين
•/٨٣٢	•/••1	/ . /.\	100	7.•/۵	١	آمو کسی سیلین /کلاو لانیک اسید
1/940	•/••1	% 9 7/0	۱۷۳	'/. • /•	•	سفالو تين
•/۵۶٧	•/••1	·/.۵V/ ٣	1.5	7.•/۵	١	سفاماندول
•/٨۴٨	•/••1	% 91 /A	189	7.8/0	17	سفتيزو كسيم
•/٨٩٧	•/••1	7.98/1	۱۷۸	7.8/0	17	جنتامايسين
٠/٩٠٢	•/••1	7.94/0	۱۷۵	·/.۴/۵	٨	توبرامايسين
•/٨٧•	•/••1	'/.AV/F	184	'/.•/ ۵	١	آميكاسين
•/٨۴٨	•/••1	7.90/0	148	% ١٠/٣	19	اريترومايسين
•/ ۵ ٧٧	•/••1	'/. ٩ ٧/ ٢	14.	·/.٣٩/A	٧٣	تتراسيكلين
٠/٨٧٥	•/••1	'/.AV/F	184	′/.•/•	•	سيپروفلوكساسين
٠/٨١٠	•/••1	/. \\\\	10.	′/.•/•	•	ایمی پنم
_	_	'/. • / •	•	'/.•/•	•	وانكومايسين
•/• * *	./.40	·/. ٢ / ٢	۴	'/.•/•	•	تئى كوپلانين
•/•٨۶	•/••1	'/. ٩ /۴	17	7.•/ ۵	١	كلرامفنيكل
•/४٨•	•/••1	% Y 9/Y	۵۴	7.1/1	*	كليندامايسين
•/٨۶۴	•/••1	7.97/9	177	7.8/0	17	تری متوپریم/سولفامتوکسازول
•/184	•/••1	7.18/0	٣.	'/. • / •	•	ريفامپين
•/•٣٨	٠/٠١٩	'/ . ۴/ ٣	٨	%·√∆	١	نيتروفورانتوئين
•/•۴٣	•/••۴	·/. ۴ /٣	٨	′/.•/•	•	فوسيديك اسيد

^{*} تعداد کل سویههای MSSA، ۱۸۴ سویه است.

(خون، سوختگی، عفونتهای پوستی و ...) باشند. این عوامل تأثیرگذار بر میزان شیوع مقاومت را استفانی و همکارانش [۱] در سال ۲۰۰۳ در مطالعه وسیع اپیدمیولوژی، مراقبت و پایش MRS در اروپا، دیکما (D.J. Diekema) و همکارانش [۶] در سال ۱۹۹۹–۱۹۹۷ در برنامه وسیع مراقبت و پایش MRS در ایالات متحده، کانادا، امریکای لاتین، اروپا و کشورهای جنوب شرقی

آسیا و پژوهشگران متعدد در سایر کشورها توصیف کرده و مورد تأکید قرار دادهاند. بنابراین با وجود اختلافهای موجود در مقادیر مقاومت در گزارشهای داخلی، می توان نتیجه گیری کرد که مقاومت به متی سیلین در مناطق مختلف جغرافیایی کشور گسترش یافته است.

^{**} تعداد كل سويه هاى MRSA، ۱۸۵ سويه است.

Pearson's R, Approx. Sig. :a

 $Measure\ of\ Agreement,\ Kappa\ \ \textbf{:}b$

ماهنامه علمي - پژوهشي دانشور پزشكي / دانشگاه شاهد / اسفند ٨٠ / سال سيزدهم / شماره ١٦

میزان شیوع MRSA از جنبه کنتـرل عفونـتهای بیمارستانی نیز حائز اهمیت بوده، می تواند مورد توجه قرار گیرد. بهطوری که نتایج نشان داد میازان شیوع MRSA در بیمارستان های مطالعه شد - با رعایت حداقل نسبت بهدست آمده برای فاصله اطمینان ۹۵ درصد - از ۳۵ درصد بیش تر بود. این وضعیت را می توان با یک شرایط آندمیک که وجود بیش از ده درصد MRSA در كل ايزولههاى باليني استافيلوكوكوس از یک بیمارستان تعریف می شود [۲۱و۲۱] مقایسه کرد. چنین شرایطی می تواند هزینه های زیادی را به بيمارستان از طريق افزايش متوسط طول مدت اقامت بیماران، گسترش عفونتهای بیمارستانی، تأمین دارو و وسایل پزشکی و احیاناً افزایش موارد مرگ و میر، و به خود بیمار و خانواده او از طریق تحمیل هزینه های زیاد درمان و باز ماندن از کار و کسب معاش تحمیل کند. به عنوان نمونه، در کشور انگلستان یک رویداد ایدمی MRSA دربرگیرنده بیش از ۴۰۰ بیمار، هزینهای بالغ بـر ۴۰۰/۰۰۰ پوند ایجاد کرد [۴]. ما به مطالعه مشابهی در داخل کشور که هزینه های عفونت های بیمارستانی MRSA را بهطور دقیق ارزیابی کند دسترسی پیدا نكرديم، ولى به استناد مطالعه ذكر شده مى توان فهميد که وفور بالای MRSA هزینه های زیادی را به بيمارستانها و بيماران تحميل مي كند. توصيه شده است که در شرایط آندمیک، پروسیجرهای حذف و پاکسازی MRSA به کار گرفته شود [۲۲]. ولی این روش در جوامع با شاخص های بهداشتی بالا که اقدامات احتياطي اوليه كنترل عفونت و اقدامات خاص مربوط به بخشهای یر خطر را به کار گرفته اند و به ندرت با شرایط آندمیک مواجه می شوند (کشورهایی که شیوع MRSA در بیمارستانهای آنها معمولاً زیر ۱۰ درصد است) مى تواند كارساز و مثمر باشد. ضمن اين كه هزینه های روش فوق بسیار بالا است [۲۱]. در حالی که رعايت معيارهاى حداقل كنترل عفونتهاى بيمارستانى

MRSA شامل آموزش تمام پرسنل، رعایت دقیق

استانداردهای بهداشتی خصوصاً شستشو و ضدعفونی

کردن دستها در موقع مناسب، رعایت استانداردهای لازم در پاکیزه کردن و استفاده صحیح از خدعفونی کننده ها، بدون ایجاد هزینه های اضافی، به نحو چشمگیر می تواند موجب کاهش عفونتهای MRSA نحو چشمگیر می تواند موجب کاهش عفونتهای MRSA در آنها زیر ۱۰ درصد گزارش شده است موفقیت در کنترل و پایین نگه داشتن میزان MRSA را مرهون اقدامات فوقالذکر، و همچنین اجرای مرتب برنامههای پایش ضدمیکروبی و عفونتهای بیمارستانی در کنار اجرای خطمشی های مصرف کنترل شده آنتی بیوتیکها می دانند خطمشی های مصرف کنترل شده آنتی بیوتیکها می دانند و حتی یک مرکز بیمارستانی منفرد نیز توانسته است و حتی یک مرکز بیمارستانی منفرد نیز توانسته است نتایج چشم گیری در کاهش وفورعفونت با MRSA را

فراوانی مقاومت به ۲۲ نوع آنتی بیوتیک در سویه های بالینی استافیلو کو کوس ارئوس در جدول ۴ ارائه شده است. همچنان که نتایج نشان می دهد متجاوز از ۹۸ درصد سویه ها به پنی سیلین و آمپی سیلین مقاوم بودند و در واقع این گروه از آنتی بیوتیک ها برای درمان عفونتهای ناشی از استافیلوکوکوس ارئوس تقریباً به طور کامل غیرمؤثر شده اند. در مقابل بیش از ۹۰ درصد سویههای MRSA به وانکومایسین، تئی کوپلانین، فوسیدیک اسید و کلرامفنیکل حساس بودند که می توانند در رژیم های درمانی مورد توجه قرار گیرند. در این تحقیق همچنین رابطه میان مقاومت به متی سیلین با مقاومت به ۲۱ نوع آنتی بیوتیک دیگر در سویه های حساس و مقاوم به متىسيلين استافيلوكوكوس ارئــوس (MRSA و MRSA) با آزمون پیرسون مورد بررسی قرار گرفت و شدت همبستگی با معیار توافقی کاپا تعیمین گردید. نتایج مقایسه در جدول ۵ نشان داده شده است. مقادیر مقاومت به اغلب آنتی بیوتیک ها در سویه های MRSA بهطور معنادار و با اختلاف فاحشى نسبت بـه سویه های MSSA بیش تر است. به طور مشال، مقادیر مقاومت به اریترومایسین در سویههای MSSA و MRSA به ترتیب ۱۰/۳ و ۹۵/۵ درصد، بـه جنتامایسـین ۶/۵ و

۹۶/۱ درصد، به آموکسی سیلین / کلاولانیک اسید ۰/۵ و ۸۳/۸ درصد، به تتراسیکلین ۹۷/۸، ۹۷/۲ درصد، به سیپروفلوکساسین ۰/۰، ۸۷/۶ درصد، به ایمی پنم ۰/۰، ۸۱/۱ درصد و به سفالوتین ۰/۰، ۹۶/۱ درصد بـود. در مورد آنتی بیو تیکهایی مانند پنی سیلین G و آمیی سیلین، هر چند که آنالیز آماری شدت همبستگی پایینی را بین دو گروه MSSA و MRSA نشان می دهد این حالت به علت نست بالای مقاومت به آنتی بیوتیک های فوق الذکر در گروه MSSA است. به همین علت، سویههای MRSA باید به داروهای فوق مقاوم در نظر گرفته شوند. حالت برعکس، در مورد آنتی بیوتیک هایی مثل تئی کوپلانین وجود دارد که باید مورد توجه قرار گیرد. بررسی همبستگی بین مقاومت به متی سیلین با مقاومت به سایر آنتی بیو تیکها در حقیقت خصوصیت مقاومت به چند دارو را که یک صفت بسیار شایع در سویه های MRSA است نمایان میسازد. نتایج مقایسه نشان داد که بیش از ۹۵ درصد سویههای MRSA مولتی رزیستانت بودند و البته به غير از پني سيلين، سفالوتين و اگزاسيلين به تعداد متعددی از آنتی بیوتیک های گروه های دیگر مقاومت داشتند. با توجه به نتایج به دست آمده می توان پیش بینی کرد که یک سویه استافیلو کو کوس ارئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA) تقریباً به بسیاری از آنتى بيو تيكها شامل بتالاكتامها (پنى سيلين و مشتقات آن، سفالوسیورین و تعداد دیگری از سفمها)، پنی سیلین های مقاوم به پنی سیلیناز (مانند کلوگزاسیلین و نافسيلين)، آموكسي سيلين / كلاولانيك اسيد، آمينو گليكوزيدها (شامل جنتامايسين، توبرامايسين، آمیکاسین)، اریترومایسین، تتراسیکلین، کوئینولونها (نظیر سیپروفلوکساسین) و ایمنی پنم مقاوم خواهد بـود. مقاومت چندگانه (Multiresistance) در سویه های MRSA بسيار متداول است و پژوهشگران متعددي آن را گزارش کردهاند [۲،۱و۲۳] که یافته های ما با آن ها سازگار است. از این یافته ها می توان نتیجه گرفت که مقاومت به متىسيلين مى تواند بـ معنـ وان يـ ك نشانگر بالینی برای مقاومت به تعداد دیگری از آنتی بیوتیک ها

در استفاده درمانی از آنها مورد توجه قرار گیرد. ایس نتیجهگیری توسط پژوهشگران زیبادی مورد تأکید و توجه قرار گرفته است [۱۶].

نتیجه ارزشمند دیگر در ایس تحقیق، وضعیت مقاومت آنتیبیوتیکی در سویههای MSSA است. همچنان که نتایج نشان می دهد، این سویهها که حدود نیمی از کل سویههای استافیلو کوکوس ارئوس را تشکیل می دادند، غیر از پنی سیلین G و آمپی سیلین، به بسیاری از آنتیبیوتیکهای از جمله سفالوتین، بسیاری از آنتیبیوتیکهای از جمله سفالوتین، کلوگزاسیلین، آموکسی سیلین / کلاولانیک اسید، آمینوگلیکوزیدها، سیپروفلوکساسین به میزان ۱۰۰ درصد یا با نسبت بسیار بالا حساس بودند. بنابراین برای اجتناب از مصرف زیاد آنتیبیوتیکی می توانند امیدوار وانکومایسین، پزشکان محترم با اتکا به آزمایشهای دقیق سنجش حساسیت آنتیبیوتیکی می توانند امیدوار باشند و می توانند حدود نیمی از عفونتهای ناشی از سامتفاده از داروهای ساده تری با موفقیت درمان کنند.

این تحقیق در محدوده خود توانست وضعیت مقاومت به متی سیلین را در سویههای استافیلو کو کوس ارئوس و فراوانی مقاومت چندگانه در این سویهها را مشخص کند. امید است که پیاده کردن برنامههای کنترلی بتواند موجب کاهش آن در آینده شده، پژوهشهای بعدی بتواند منابع MRSA، انواع سویههای اپیدمیک شایع و نحوه گسترش آن، راههای کنترل و جنبههای ملکولی بیش تری از مقاومت چندگانه در سویههای MRSA را روشن تر کند.

تشكر

از همکاریهای بسیار ارزشمند جناب آقای صادق منصوری، جناب آقای بهادر، جناب آقای رجبی، سرکار خانم مکی، سرکار خانم عابدینی و سرکار خانم فریبا رویشعلیپور در این تحقیق سپاسگزاری می کنیم.

- 20. Mylotte J M. Control of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Infect Control Hosp Epidemiol 1994:15:73-77.
- 22. Wenzel RP, Reagan DR, Bertmo JS, et al. Methicillinresistant Staphylococcus aureus outbreak: a consensus panel's definition and management guidelines. Am J Infect Control 1998:26:102-110.
- 23. Ayliffe GAJ, Cookson BD. Ducel G. et al. Recommendations for the control of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). World Health Scientific Working Group report on the global control of MRSA. Geneva: World Health Organization, 1996. WHO/EMC/LTS/96.1.
- ۱۳. محجـوب، مجیـد؛ مقایسـه SC و TC در اسـتافیلوککهای حساس و مقاوم به متیسـیلین،۱۳۶۶، دانشکده دارورسـازی تهران، پایاننامه شماره ۲۵۴۶
- ۱۴. تازیکی، مریم: بررسی فراوانی سویههای مقاوم به متیسیلین استافیلوکوکوس و جستجوی آنتی بیوتیک مناسب در درمان آنها، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۷۶، یایاننامه شماره ۱۶۵۹۴.
- ۱۵. توکلی اکبر، یزدانی ر.، بکائیان م.، بررسی مقایسهای مقاومت استافیلوکوکوسهای کوآگولاز مثبت به آنتی بیوتیکهای بتالاکتام. مجله طبیب شرق، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان، بهار ۱۳۸۰، سال سوم، شماره ۱۰، ص ۵-۱.
- 18. کریمی پریسا. بررسی الگوی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی استافیلو کوکوس ارئوس جدا شده از نمونه های کلینیکی ارسالی به آزمایشگاه مرکزی کاشان. دانشگاه علوم پزشکی کاشان، بهار ۱۳۷۹. پایاننامه دکترا.
- ۱۷. سلامی فرزانه. بررسی سپتی سمی استافیلوکوکوسهای کوآگولاز مثبت در بیماران بستری در بیمارستان و تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی، پایاننامه کارشناسی ارشد رشته میکروبشناسی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، سال ۱۳۷۰-۷۱
- ۱۸. تقی پور عبدالله. بررسی الگوی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی استاف ارئوس ارسالی به آزمایشگاه بیمارستان نقوی کاشان، پایان نامه دکترا، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، بهار ۱۳۸۱.
- ۱۹. کارآگاه، نقی؛ بررسی عفونتهای استافیلوککی کوآگولاز مثبت مقاوم به متی سیلین در سوختگی ها، سال ۱۳۶۹، دانشکده داروسازی تهران، یایاننامه شماره ۲۸۰۳.

منابع

- 1. Stefani S. and Varaldo P.E.; Update Epidemiology of Methicillin-resistant Staphylococci in Europe. Clin Microbiol Infect. Dec 2003, Vol.9 (12):1179.
- Fluit AC, Wielders CLC, Verhoef J, Schmitz FJ. Epidemiology and susceptibility of 3051 Staphylococcus aureus isolates from 25 university hospitals participating in the Europian SENTRY study. J Clin Microbiol. 2001; 39:3727-32.
- Kesah C., Redjeb S. Ben and et al. Prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in eight African hospitals and Malta. Clin Microbiol Infect 2003; 9:153-156.
- 6. Diekema D.J., Pfaller M.A., Schmitz F.J. and et al.: Survey of Infections Due to Staphylococcus species: Frequency of occurance and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific Region for the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997-1999. Clin Infect. Dis. 2001; 32(suppl 2): S114-32.
- 7. Weinstein Robert A. Controlling Antimicrobial Resistance in Hospitals: Infection Control and Use of Antibiotics. Emerging Infectious Disease (2001)Vol.7, No.2:188-199.
- 8. Weinstein Robert A. Nosocomial Infection Update. Emerging Infectious Disease(1998) Vol. 4, No. 3:416-420.
- 24. Chambers Henry F. The Changing Epidemiology of Staphylococcus aureus? Emerging Infectious Disease (2001) Vol.7,No.2
- 4. Casewell MW. New threats to the control of methicillinresistant Staphylococcus aureus. J Hosp Infect 1995: 30 [Suppl]:465-471.
- 9. NCCLS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. Approved Standards Fifth Edition NCCLS document M7-A5. Wayne, Pennsylvania 2000
- 10. NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standards- seventh Edition NCCLS document M2-A7,Vol. 20 No.1 Wayne, Pennsylvania 2000
- 11. Vincen JL. Microbial resistance: lessons from EPIC study. European prevalance of infection. Intensive Care Med 2000; 26(Suppl 1): S3-8.
- 12. Boycojohn M. et al; Burns units as a source of meticillin resistant Staphylococcus aureus infections; JAMA; (1983) Vol. 249. No. 20
- 21. Rahman M, Sanderson PJ, Bentley AH, et al. Revised guidelines for control of MRSA in hospitals: finding the most useful point. J Hosp Infect 1999:42:71-72.