ارزيابی آزمايشگاهی فعاليت ضد ميكربی سفپيم بر روي تعدادي از باكتريهاي بيماري زاي جدا شده از بيماران مراجعه كننده به بيمارستان كودكان تبريز

رضا قوطاسلو*[۱]

[۱]دانشكده پزشكي دانشگاه علوم پزشكي تبريز

تاريخ دريافت : ۸۳/۱۱/۱۰ ، تاريخ پذيرش :۸۳/۵/۸

Evaluation of the Invitro Antibacterial activity of Cefepime on a number of medically important bacteria in Tabriz Pediatrics Medical Center

Ghottaslou R.[1,*]

[1]School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences

Received: 2004/7/29 Accepted: 2005/1/29

Abstract: Cefepime is a semi-synthetic, broad spectrum, cephalosporin antibiotic for parenteral administration. Cefepime is a bactericidal agent that acts by inhibition of bacterial cell wall synthesis. It has a broad spectrum of In vitro activity against wide range of gram positive and gram-negative bacteria.In a prospective study 100 of bacterial species were studied by a susceptibility test by disk diffusion (Kirby–Bauer) in Tabriz Pediatric Medical Center. This study compares inhibitory effect of cefepime with that of Penicillin, Chloramphenicol, Ampicillin, Co-trimoxazol, Gentamycin, Cefotaxime, Vancomycin, Ciprofloxacin, Ceftriaxone, Amikacin and Erythromycin on Klebsiella pneumoniae, Staphylococci coagulase negative, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Serratia marcescens, Salmonella Sp, Enterobacter cloacae, Proteus mirabilis, Acinetobacter Sp and Streptococcus Sp. During 6 month in 100 bacterial strains (clinical isolated), the resistance to cefepime on Pseudomonas aeroginosa (100%), Klebsiella pneumoniae (46%), Staphylococcus aureus (40%), Staphylococci coagulase negative (40%), Enterobacter cloacae (40%), Acintobacter sp (30%), Proteus mirabilis (20%), E.coli (6%), Streptococcus non group A (0%) Seratia marcescens (0%), Salmonella non typhi (0%) were respectively. The In vitro inhibitory effect of cefepime on Pseudomonas aeroginosa was found to be less than other bacteria, Whereas Streptococcus SP, Seratia marcescens, Salmonella and E.coli was more sensitive to cefepime. The inhibitory effect of cefepime on bacterial isolations and it's comparison with other antibiotics demonstrate a broad spectrum of activity of cefepime. And the resistant bacterial strains were developed against this antibiotic in this area.

Key words: *Cefepime, Susceptibility test, Drug resistant, Cephalosporin.*

چكيده: سفالوسپورين ها مشتقات ۷-آمينو سفالوسپورين بوده و در ساختمانشان حلقه بتا لاكتام دارند .اين داروها بر اساس زمان ورود شان به كاربرد باليني به صورت نسل اول ,دوم , سوم و چهارم نام گذاري مي شوند. سفپيم يك سفالوسپورين نسل چهارم بوده كه مانند سفالوسپورين ها ي نسل اول عليه گرم مثبت ها فعال است و شبيه سفالوسپورين هاي نسل سوم فعاليت با طيف وسيعي,عليه گرم منفي ها دارد. اين دارو به تازگي وارد بازار دارويي ايران شده است. در اين مطالعه با روش سنجش حساسيت, اثرات ضد ميكربي سفپيم با اثرات داروهاي ديگر به طور آزمايشگاهي بر روي باكتري هاي استافيلوكوك او رئوس, استافيلوكوك كواگولاز منفي,پزودوموناس آئروژينوزا,كلبسيلا پنوموني, اشريشيا كولي, انتروباكتر كلواكه, سر اشيا مارسنس, سالمونلا غير تيفي, پروتئوس ميرابيليس, آسينتوباكتر و استريتوكوك غير A به روش ديسك ديفيوژن (كربي–بوئر) مقايسه گرديده است. طی شش ماه از ۱۰۰سوش باليني جدا شده در آزمايشگاه ميكروب شناسي مركز پزشكي كودكان تبريز, مقاومت باكتري ها نسبت به سفپيم به ترتيب زير مشخص گرديد: پزودوموناس آئروژينوزا (۱۰۰%), كلبسيلا پنوموني (۴۶ %) استافيلوكوك او رئوس (۴۰%), استافيلوكوك كواگولاز منفي(۴۰%), انتروباكتر كلواكه (۴۰%), آسينتوباكتر ها (۳۰%),پروتئوس ميرابيليس (۲۰%), اشريشيا كولي (۶%), سر اشيا مارسنس (۰ %), سالمونلا غير تيفي (۰%) استريتوكوك غير A (۰%). شايع‌ترين باكتري مقاوم به سفپيم در آزمايشگاه, پزودوموناس آئروژينوزا بوده و در درجات بعدي كلبسيلا پنوموني, انتروباكتر كلواكه, استافيلوكوك او رئوس, استافيلوكوك كواگولاز منفي و آسينتوباكتر ها قرار داشتند. با نگاهي به اثر مهاري سفپيم بر روي باكتري هاي ياد شده و مقايسه آن با ساير آنتي بيوتيك ها, نشان دهنده طيف گسترده مقاومت نسبت به اين دارو است. مقاومت بالاي باكتري ها نسبت به سفپيم, علي رغم عدم استفاده زياد اين دارو در ايران جاي بحث فراواني دارد. به منظور پيشگيری از شيوع سوش هاي مقاوم به سفپيم مطالعات گسترده در اين زمينه لازم است.

گل واژه گان: سفپيم، آزمايش حساسيت، مقاومت دارويي، سفالوسپورين.

* نويسنده مسئول: دكتر رضا قوطاسلو، دانشكده پزشكي دانشگاه علوم پزشكي تبريز، تلفن: ۰۴۱۱۵۴۴۷۷۳۵؛ نمابر: ۰۴۱۱۳۳۶۴۶۶۱

*Corresponding Author: Dr. Reza Ghottaslou, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences.
Tel: 0411 5447735; Fax: 04113364661;
E-mail: rzgottaslo@yahoo.com

مقدمه

پني سيلين ها و سفالوسپورين ها, دو نوع آنتي بيوتيك عمده اي هستند كه سنتز ديواره سلولي را مهار مي كنند .اين دو كلاس بزرگ بتا لاكتام ها موثرترين دارو در درمان عفونت هاي ميكربي بوده و بسيار مورد استفاده قرار گرفته و به خوبي تحمل مي شود. توكسميت انتخابي اين دارو ها, عمدتا ناشي از اثر اختصاصي آن ها بر ساختمان سلولي است كه در باكتري ها منحصر به فرد است (۱). سفپيم يك سفالوسپورين نسل چهارم با طيف اثر وسيعی است. اين دارو به صورت تزريقی مصرف می شود. هيدروكلريد سفپيم پودر زرد كمرنگی است با وزن مولكولي۵۷۱.۵ و در آب محلول است. مصرف سفپيم در كودكان دو ماه تا ۱۲ سال در درمان عفونت های ادراری، پوست و ضمائم پوست، ذات الريه و بيماران تب دار نوتروپنيک توصيه شده است (۴-۲). سفپيم اثر باكتريساید داشته و سنتز ديواره سلول باكتری را مهار می كند. مولكول هدف برای اتصال دارو, پروتئين متصل شونده به پني سيلين (PBP) می باشد. اين دارو نسبت به هيدروليز بتالاكتاماز نسبتا مقاوم است, اين امر باعث می شود دارو به خوبی وارد سلول باكتری گرم منفی گردد (۵). اين دارو بر طيف وسيعی از باكتری های گرم مثبت و منفي موثر است (۶). پيدايش مقاومت ميكربي در جامعه نشان دهنده استفاده بيش از حد داروهاي ضد ميكربي است. مصرف نامناسب داروهای ضد ميكربی منجر به افزايش مرگ و مير, ناخوشي و همچنين افزايش مقاومت به آن دارو می گردد. قبل از تجويز يك آنتي بيوتيك جديد، پزشكان بايد از تفاوت های جغرافيائی, ژنتيكي و همچنين الگوی حساسيت و مقاومت ارگانيزم ها مطمئن شوند. اين تحقيق در راستاي اين امر در مركز پزشكي كودكان تبريز انجام شده است. هدف كلي طرح سنجش حساسيت و مقاومت سوش هاي جدا شده نسبت به داروی سفپيم و مقايسه آن با ساير داروها بود.

مواد و روش

اين مطالعه آينده نگر از بهمن ماه سال ۱۳۸۲ لغايت تير ماه ۱۳۸۳ شامل ۱۰۰ نمونه كشت مثبت از بيماران بخش هاي مختلفي است كه در آزمايشگاه ميكرو ب شناسي مركز پزشكي كودكان بدست آمد. اين بيمارستان ۲۰۰ تخت فعال و دارای بخش های داخلی, جراحی,گوش و حلق و بينی, هماتولوژی, عفونی, نوزادان, ICU و اورژانس می باشد. نمونه های مختلفی كه به آزمايشگاه فرستاده می شد در محيطهای آزمايشگاهی مناسب به روش استاندارد كشت داده شد (۷). براي تعيين حساسيت ارگانيزمهای جدا شده نسبت به سفپيم و آنتی بيوتيك های ديگر از روش ديسك ديفيوژن (كربي بوئر) استفاده شد (۷ و ۸). ديسك هاي مورد استفاده از شركت هاي ايران دارو, پادتن طب و بريستول- ما ير تهيه شد. از محيط كشت مولر هينتون آگار جهت سنجش اثرات ضد ميكربي مواد مورد آزمايش استفاده شد. پليت ها در گرم خانه ۳۵ درجه به مدت ۲۰ ساعت قرار گرفتند. بعد از طي اين مدت هر يك از پليت ها از لحاظ رشد و عدم رشد ميكرو ارگانيزم هاي مورد نظر بررسي شدند. باكتريهاي مورد بررسي عبارت بودند از: استافيلوكوك اورئوس, استافيلوكوك كواگولاز منفي, پزودوموناس آئروژينوزا, كلبسيلا پنوموني, آسينتوباكتر, اشريشيا كولي, انتروباكتر كلواكه, سر اشيا مارسنس, سالمونلا غير تيفي, پروتئوس ميرابيليس, استرپتوكوك غير A.

اطلاعات مربوط به سن، جنس، علل بستري و مدت بستری مورد ارزيابی قرار گرفت. نتايج مطالعه در پرسشنامه ای وارد شده و در خاتمه وارد برنامه آماری SPSS و كاي اسكوار گرديد بدين ترتيب نتايج آنتی بيوگرام سفپيم با داروهای ديگر مورد مقايسه قرار گرفت.

نتايج

۵۳/۳ درصد از ۱۰۰ بيمار مذكر و بقيه مونث بودند. ميانگين سني جمعيت مورد مطالعه ۶/۵ سال بود. طول مدت بستری در ۱۰درصد موارد يك روز و ۶ درصد موارد كمتر از يك روز، ۳۵ درصد دو روز، ۱۳ درصد سه روز و ۳۶ درصد چهار روز و يا بيشتر بود. تعيين حساسيت باكتريهاي مورد آزمايش نسبت به سفپيم در مقايسه با ساير آنتي

بيوتيك ها و مقايسه آن بـا جـداول اسـتاندارد (۲), نـشانگر اثرات ضد ميكربي قابل ملاحظه سفپيم عليه باكتريهاي مورد آزمايش به غير از پزودوموناس مي باشد. همه پزودوموناس آئروژينـوزا هـا نـسبت بـه سـفپيم مقـاوم بودنـد. در بـين ميكروبهاي مورد اسـتفاده, سـفپيم بيـشترين اثـر را بـر روي استرپتوكوك غيرA, سر اشيا مارسنس, گونه هاي سـالمونلا نشان داد. همچنين سفپيم اثرات قابـل ملاحظـه اي بـر روي اشريشيا كولي, پروتئوس و آسينتوباكتر داشت. نتايج مربوطه بر روي ميكروب هاي مورد اشـاره در جـدول ۱ و ۲ آورده شده است.

جدول ۱: فراوانی باكتريهاي مقاوم به سفپيم به طور Invitro در اين تحقيق

نوع ميكروب	تعداد در ۱۰۰ باكتري	تعداد باكتري مقاوم به سفپيم (در صد)
استافيلوكوك كواگولاز منفي	۱۰	۴ (۴۰ %)
پزودوموناس آئروژينوزا	۱۰	۱۰ (۱۰۰ %)
كلبسيلا پنومونيا	۱۵	۷ (۴۶ %)
اشريشيا كولي	۱۵	۱(۶%)
استافيلوكوك او رئوس	۱۵	۶ (۴۰ %)
سر اشيا مارسنس	۵	۰ (۰ %)
سالمونلا غير تيفي	۵	۰ (۰ %)
انتروباكتر كلواكه	۵	۲ (۴۰ %)
پروتئوس ميرابيليس	۱۰	۲(۲۰ %)
آسينتوباكتر	۶	۲ (۳۰ %)
استرپتوكوك غير A	۴	۰ (۰ %)
جمع	۱۰۰	۳۴(۳۴ %)

جدول ۲ نتايج مقاومت باكتريها نسبت به سفپيم و مقايسه آن با ساير داروها (به روش ديسك ديفيوژن)

	N:	FEP	SXT	GM	Am	CTX	V	CP	CRO	AN	E	C	P
STCN	10	4	NT	4	8	3	1	2	5	1	6	2	9
P.aeruginosa	10	10	10	4	10	9	NT	5	9	5	NT	5	NT
K.pneumoniae	15	7	12	13	15	10	NT	1	10	6	NT	9	NT
E.coli	15	1	3	3	14	0	NT	0	3	0	NT	0	NT
S.aureus	15	6	NT	6	15	6	۰	3	6	3	6	6	15
S.marscence	5	0	4	0	5	0	NT	0	0	0	NT	0	5
Salmonella Sp	5	0	0	0	5	0	NT	0	0	0	NT	0	NT
E.aglomerance	5	2	5	5	5	2	NT	4	2	0	NT	2	NT
Proteus mirabilis	10	2	2	1	4	0	NT	0	1	0	NT	0	NT
Acinetobacter Sp	6	2	5	5	4	0	NT	0	0	0	NT	5	NT
Streptococci non A	4	0	NT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	100	34		41	85	30		17	36	15		29	

N: Number of bacteria, NT = Not Tested, FEP (30µg) = Cefepime, SXT (25µg) = Co-trimoxazol, GM (10µg) =Gentamycin, Am (10µg)=Ampicillin, CTX (30µg)=Cefotaxime, V (30mcg)=Vancomycin, CP (5µg)=Ciprofloxacin, CRO (30µg)=Ceftriaxone, AN (30µg) = Amikacin, E (15mcg) = Erythromycin, C (30µg) = Chloramphenicol, P (10u) = Penicillin

بحث و نتيجه‌گيری

سفالوسپورين ها به پروتئين متصل شـونده بـه پنـي سـيلين (PBPs) متصل شده و از سنتز ديواره سلول در بـاكتري هـا جـلوگـيـري مي كند (۶ و۹). تفاوت هـاي سـاختماني ايـن داروها با پني سيلين ها سبب مي شود كه سفالوسپورين هـا حساسيت كمتري به پنـي سـيلينا‌ز داشـته باشـند. مقاومـت ميتواند بر اثر كاهش نفوذ پذيري غشايي سفالوسپورين ها و تغيير در PBPs نيز رخ دهد. سفپيم نسبت بـه بتالاكتامهـاي توليـد شـده توسـط ارگـانيزم هـاي گـرم منفـي از جملـه انتروباكتر, هموفيلـوس و نيـسريا مقـاوم تـر اسـت (۷ و۹). بصورت بالينی و آزمايـشگاهي نـشان داده شـده اسـت كـه سفپيم بر عليه باكتريهاي زير موثر می باشد: الـف- بـاكتري هاي گرم منفـی هـوازی ماننـد انتروبـاكتر, اشريـشيا كـولی,

کلبسیلا پنومونی, پروتئوس میرابیلیس, پزودوموناس آئروژینوزا .ب - باکتري هاي گرم مثبت هوازی مانند استافیلوکوک اورئوس حساس به متی سیلین, پنوموکوک, استرپتوکوک گروه A (۵، ۶، ۱۰و ۱۱). در این مطالعه سفپیم به طور آزمایشگاهي, کلا بر علیه پزودوموناس آئروژینوزا موثر نبود و همچنین بر علیه کلبسیلا پنومونی, استافیلوکوک اورئوس, انتروباکتر تاثیر نسبتا خوبي نداشت و این امر مطابق با نتایج مراجع فوق الذکر و ادعاي کارخانه سازنده نمي باشد. این دارو بر علیه سالمونلا و استرپتوکوکها تاثیر عالي, و نیز بر علیه اشریشیا کولي و پروتئوس تأثیر خوبي داشت که مطابق با منابع فوق میباشد.

اثر این دارو برعلیه باکتری های زیر تنها بصورت Invitro اثبات شده و اثرات آن در عفونتهای بالینی ناشناخته است:

الف- میکرو ارگانیزم های گرم منفی هوازی مانند آسینتوباکتر, سیتروباکتر, انتروباکتر آگلومرانس, هموفیلوس انفلوانزا, کلبسیلا اوکسیتوکا, مورگانلا مورگانی, موراگزلا کاتارالیس، پروتئوس ولگاریس, سراشیا, پرووبدانسیا.

ب- میکرو ارگانیزم های گرم مثبت هوازی مانند استافیلوکوک اپیدرمیس حساس به متی سیلین, استافیلوکوک ساپروفیتیکوس, استرپتوکوک گروه B, استرپتوکوک گروه ویریدانس پ- میکروارگانیزمهای بی هوازی (۶-۵، ۳-۱۲).

در این تحقیق سفپیم بر علیه سر اشیا, آسینتوباکتر, استافیلوکوك کواگولاز منفي,استرپتوکوك غیر A تاثیر خوبي داشت که با نتایج اعلام شده کارخانه سازنده منطبق مي باشد. سفپیم برعلیه باکتری های زیر غیر فعال است: کلستریدیوم دیفیسیل, استنوتروفوموناس, استافیلوکوك هاي مقاوم به متي سیلین, پزودوموناس مالتوفیلا, انترکوك فکالیس استاندارد کردن شرایط مورد آزمایش سبب افزایش کفایت آزمون سنجش حساسیت به روش دیسك دیفیوژن مي گردد. زیرا ترکیبات و اجزاي محیط کشت, اندازه تلقیح میکروب, مدت زمان انکوباسیون در نتایج آزمایشات مداخله مي کند (۷). براي از بین بردن این عوامل مداخله گر ما طبق روش استاندارد عمل مي کردیم (۸). به طور کلی در این مطالعه مقاومت به سفپیم بیشتر از آمارهای کارخانه سازنده و رفرانس ها بود (۶-۵، ۱۳-۱۰). اما اگر هر کدام از عوامل دارويي را جداگانه در نظر بگیریم, سفپیم داروي نسبتا موثري بر اکثر سوش هاي مورد مطالعه بود. در مطالعه ما ۸۵% سوش ها نسبت به آمپي سیلین مقاوم بودند و از این نظر در صدر قرار داشت. در ردیف هاي بعدي به ترتیب جنتامایسین (۴۱ %), سفتریاکسون (۳۶ %), سفوتاکسیم (۳۰ %), کلرامفنیکل (۲۹ %) و سیپروفلوگزاسین (۷ ۱%) و آمیکاسین(۱۵%) قرار داشتند. سفپیم در مقایسه با دو داروي سفتریاکسون و سفوتاکسیم (نسل سوم سفالوسپورین), نتایج تقریبا متشابهي داشت و با توجه به اینکه سفپیم داروي گران قیمتي است, برتري خاصي نسبت به آن دو نداشت. سفپیم هنوز به صورت وسیعي در ایران مورد استفاده قرار نگرفته است و مقاومت در سطح نسبتا بالا به سفپیم (۳۴ %) جاي بحث فراواني دارد.

لذا برای کاهش عوارض مالي و افزایش مقاومت دارويي در منطقه, نکات زیر پیشنهاد می‌گردد:

۱. انجام تست آنتي بیوگرام به روش E.test در ادامه این تحقیق .
۲. انجام مطالعاتي در سطح وسیعتر با سوش هاي استاندارد و سوش هاي بالیني و مقایسه آنها.
۳. مهار رشد در اطراف دیسك نمي تواند نمایشگر دقیقي براي تعیین میزان حساسیت میکروارگانیزم ها در برابر سفپیم در بدن موجود زنده باشد, انجام کارآزمایي بالیني با سفپیم در سطح دانشگاهي توصیه مي شود.
۴. بهتر است پزشکان از تجویز بیش از حد سفپیم اجتناب نمایند.
۵. استراتژي هاي بکار گرفته شده در کشور هاي غربي براي مقابله با مقاومت میکربي شامل تجویز صحیح داروها, استفاده درست و منطقي, سود جستن از درمان ترکیبي, ساخت مشتقات شیمیایي جدید, برآورد مستمر

ميزان حساسيت و مقاومت ميكرو ارگانيزمها بـه آنتـي بيوتيك ها در آزمايشگاههاي مرجع مي باشد كه بهتـر است در ايران نيز اين نكات كليدي بكار گرفته شود.

۶. ايجاد مركز كنترل مقاومت هاي دارويي در هر استان به طوری که پزشـکان و کـادر بهداشـتی درمـانی, اطلاعات لازم را بتوانند سريعا كسب كنند.

تقدير و تشكر

بدينوسيله از خانم رسولي (تكنسين آزمايشگاه), خانم دكتـر ناجي (نماينده علمي شركت بريـستول-مـايرز), آقـاي دكتـر قريشي (استاديار كودكان) و خانم دكتـر نيكـوش (دكتـراي علوم آزمايشگاهي) كه همكاري صميمانه اي در انجـام ايـن تحقيق نمودند ابراز مي دارم.

References:

1.Trevor A J, Katzung BG, Masters SB. Katzung& Trevor Pharmacology .6th edition. 2002.

2.Sweetman SC. Martindale: The complete drug reference .33rd edition. London, Pharmaceutical press.2002; pp165-166.

3.Feigin RD, Cherry JD, Demmler GJ, and Kaplan SL: Textbook of Pediatric Infectious diseases. 5th edition. London, Saunders Company, 2004; pp: 2998-9.

4.Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB: Nelson Textbook of Pediatrics. 17th edition. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 2004; P 2486.

5.Badaro R, Molinar F, Seas C, Stamboulian D, Mendonca J, Massud Joao, et al .A multicenter comparative study of Cefepime versus Broad spectrum antibacterial therapy in moderate and severe bacterial infections. The Brazilian journal of Infectious diseases .2002; 6 (5): 206-18.

6.Toitzis P, Dul M, Oriordan MN, Salvator A, Rosolowski B, Toltzis H, et al. Cefepime use in a pediatric intensive care unit reduces colonization with resistant bacilli .The Pediatr Infect Dis J.2003; 22 (2): 109-14.

7.Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS: Bailey and Scott' s: Diagnostic Microbiology .11th edition 2004.USA.Mosby Inc. Pp250-81.

۸.منصوري ش, يـزدي زاده خ: بررسـي طيـف ضـد ميكربـي سـفتي زوكـسيم و مقايـسه آن بـا كلرامفنيكـل, سفالكـسين و سفازولين. مجلـه دانـشگاه علـوم پزشـكي كرمـان, دوره اول, شماره ۴, ۱۳۷۳,صفحه ۱۷۱-۱۷۶

۹.شهر از س,غازيان ط: درس نامه دارويي ايـران, نـشر طيـب– تيمور زاده: ۱۳۸۱، ص ۱۲۵-۱۱۴.

10.Van Ogtrop ML, Mattie H, Guiot HF, Van Strijen E, Hazekamp-vav Dokkum AM, Van Furth R.Comparative study of the effects of four cephalosporins against Escherichia coli in vitro and in vivo. Antimicrob Agents Chemother 1990; 34(10): 1932-37.

11.Garau J. The clinical potential of fourth generation cephalosporins. Diagn Microbiol Infect Dis1998; 31:479-480.

12.Sanders CC: Cefepime: the next generation? Clin Infect Dis 1993; 17(3): 369-79.

13.Ambrose PG, Owens RC, Garvey MJ, Jons RN, Pharmacodynamic consideration in the treatment of moderate to severe pseudomonal infections with cefepime. JAC 2002; 49: 445-453.