Archive of SID

مقاومت آنتی بیوتیکی اسینتوباکتر و فراوانی سویه‌های تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف در بیماران بخش‌های مراقبت ویژه بیمارستان نمازی شیراز (۸۷ - ۱۳۸٦)

زهرا هاشمی زاده* دکتر عبدالله بازرگانی** امیر امامی* محمدجواد رحیمی*

*کارشناس ارشد باکتری شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز

**استادیار گروه باکتری‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز

آدرس مکاتبه: شیراز، میدان امام حسین، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده پزشکی، بخش باکتری‌شناسی و ویروس شناسی

تلفن: ۰۹۱۷۷۰۳۴۶۹۷ Email:afsoon432@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۸/۴/۷ تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۱/۲۷

***چکیده**

زمینه: آسینتوباکترها از جمله باکتری‌های گرم منفی شایع در عفونت‌های بیمارستانی هستند. از این میان اسینتوباکتربومانی از مهم‌ترین پاتوژن‌های فرصت طلب در بیماران دارای ضعف سیستم ایمنی است. با توجه به افزایش کاربرد آنتی بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌های باکتریایی و افزایش شیوع گونه‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBL)، مقاومت آنتی بیوتیکی در این گروه، مشکل اساسی درمان در بخش‌های مراقبت ویژه، محسوب می‌شود.

هدف: مطالعه به منظور تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی اسینتوباکتر و فراوانی سویه‌های مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف در بیماران بستری در بخش‌های مراقبت ویژه بیمارستان نمازی شیراز انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مقطعی از آبان ماه ۱۳۸۶ تا دی ماه ۱۳۸۷ در بیمارستان نمازی شیراز انجام شد. مقاومت آنتی بیوتیکی، در ۱۴۷ نمونه کشت مثبت با استفاده از روش انتشار دیسک، تعیین شد. جهت شناسایی سویه‌های مولد ESBL روش سینرژی دابل دیسک به کار گرفته شد. داده‌ها با آزمون آماری مجذور کای تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: در میان ۱۴۷ سویه اسینتوباکتربومانی، بیش‌ترین مقاومت به آنتی بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، آمیکاسین و جنتامایسین مشاهده شد. با توجه به نتایج غربال گری اولیه، ٪۴۴ از کل نمونه‌ها مولد آنزیم ESBL بودند.

نتیجه‌گیری: علت مهم پیدایش انواع گونه‌های ESBL، مصرف بی‌رویه و خودسرانه سفالوسپورین وسیع الطیف است. به منظور درمان صحیح و ممانعت از انتشار عفونت‌های ناشی از این ارگانیسم، انجام دقیق آزمون آنتی‌بیوگرام پیش از تجویز آنتی‌بیوتیک و به کارگیری آزمون‌های تأییدی ضروری است.

کلیدواژه‌ها: اسینتوباکتر، مقاومت آنتی بیوتیکی، بخش مراقبت‌های ویژه

***مقدمه:**

گونه‌های اسینتوباکتر، باکتری‌های گرم منفی هوازی هستند که به طور وسیعی در خاک و آب وجود دارند و گاهی از کشت پوست، غشاءهای مخاطی، ترشحات و محیط بیمارستان به دست می‌آیند.[۱] اسینتوباکتربومانی (A.baumannii) شایع‌ترین گونه است که از خون، خلط، پوست، مایع جنب و ادرار قابل جداسازی است.[۲و۳] در بیماران مبتلا به باکتریمی اسینتوباکتر، کاتترهای داخل وریدی منشاء اصلی عفونت هستند.[۴] در بیماران دچار سوختگی با ضعف سیستم ایمنی، اسینتوباکترها به عنوان پاتوژن فرصت طلب عمل می‌کنند و می‌توانند عفونت خون ایجاد نمایند.[۵]

از طرفی عفونت‌های بیمارستانی، امروزه از مشکلات عمده در کل بیمارستان‌ها هستند و این مشکل بیش از همه در بخش‌های مراقبت ویژه حائز اهمیت است. بیماران بستری در بخش‌های مراقبت ویژه به دلیل پیچیدگی مراقبت، شرایط خاص بیماران و استفاده از تجهیزات مختلف پزشکی در طول درمان، در معرض عفونت با ارگانیسم‌هایی همچون اسینتوباکتر هستند.

www.SID.ir

Archive of SID

مقاومت آنتی بیوتیکی یک مشکل اساسی در درمان و کنترل عفونت‌ها به ویژه در این دسته از بیماران محسوب می شود.[۶و۸-۱۰]

در سال‌های اخیر باکتری‌های تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف در سراسر جهان شایع شده‌اند؛ به طوری که کاربرد داروهای ضد میکروبی با وجود این آنزیم‌ها مورد تحلیل قرار گرفته و باکتری های مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف، به واسطه توانایی هیدرولیز اکثر آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام، به عنوان یک مشکل اساسی در جوامع پزشکی مطرح هستند.[۱۱] امروزه گزارش‌های متعددی مبنی بر شیوع گسترده این ارگانیسم‌ها در بخش‌های مراقبت ویژه وجود دارند. شرایط خاص بیماران، بستری طولانی مدت آنها و راهکارهای درمانی سریع و تهاجمی مانند کاتترهای ادراری، کاتترهای داخل عروقی و لوله تراشه، از دیگر عوامل افزایش این الگوی مقاومت دارویی در این بخش‌ها هستند.[۱۲و۱۳] با توجه به این که داشتن اطلاعات کافی از همه گیرشناسی ارگانیسم‌ها و الگوی مقاومت آنها جهت انتخاب نوع و مقدار مناسب داروها در مراحل خاص ضروری است، لذا این مطالعه به منظور تعیین شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی در اسینتوباکترها و فراوانی سویه‌های تولیدکننده آنزیم بتالاکتاماز با طیف گسترده در بیماران بخش‌های مراقبت ویژه بیمارستان نمازی شیراز انجام شد.

*مواد و روش‌ها:

این مطالعه مقطعی از آبان ماه ۱۳۸۶ تا دی ماه ۱۳۸۷ در بیمارستان نمازی شهر شیراز انجام شد. از بیماران مشکوک به عفونت و بستری در بخش‌های مراقبت ویژه این بیمارستان ۱۳۵۰ نمونه ادرار، خون، زخم، آبسه، خلط یا تراشه تهیه و به آزمایشگاه ارسال شد که ۲۹۷ سویه اسینتوباکتر جدا شدند. در صورتی که از هر بیمار بیش از یک بار، گونه اسینتوباکتر از هر نوع جدا شد، هر نمونه تنها یک بار در مطالعه دخالت داده شد. در آزمایشگاه، تمام نمونه‌ها پس از انجام آزمون‌های بیوشیمیایی و تعیین هویت دقیق، در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگه داری شدند. باسیل یا کوکوباسیل‌های گرم منفی، اکسیداز منفی و غیر متحرک که قادر به رشد در ۴۲ درجه سانتی-گراد بودند، بر روی آگار مک کانکی منتقل شدند. پس از آن کلنی‌های رشد یافته با مشخصات باسیل‌های گرم منفی غیر تخمیر کننده لاکتوز به عنوان ارگانیزم اسینتوباکتر جمع آوری شدند. جهت افتراق سویه اسینتوباکتر بومانی از سایر سویه‌های اسینتوباکتر از آزمون هیدرولیز آرژنین و OF گلوکز استفاده شد.[۱۴]

مقاومت تمام سویه‌های اسینتوباکتر بومانی به آنتی بیوتیک های بتالاکتام وسیع الطیف و سایر آنتی بیوتیک‌های غیر بتالاکتام نیز به روش انتشار دیسک بر روی آگار و طبق دستورالعمل مؤسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) انجام شد.[۱۵] سویه استاندارد E.coli ATCC 25922 جهت کنترل کیفیت آنتی بیوگرام استفاده شد. دیسک‌های آنتی بیوتیکی از شرکت راین (ایران – مارک Mast انگلیس) خریداری شدند.

به منظور تعیین حداقل غلظت آنتی بیوتیکی که مانع رشد باکتری می‌شود، آزمون تعیین حداقل غلظت بازدارندگی دارو (MIC) با استفاده از نوارهای E-test (strip AB Biodisk, Selona Sweden) آنتی بیوتیک‌های سفتازیدیم و ایمی پنم طبق دستور CLSI انجام شد. طبق توصیه CLSI، سویه‌های مقاوم به سفتازیدیم، سفتریاکسون و سفوتاکسیم از نظر وجود ESBL غربال شدند.[۱۵]

جهت شناسایی سویه‌های تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف از روش غربال گری سینرژی دابل دیسک (DDST) استفاده شد. بدین ترتیب با استفاده از چهار دیسک سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون و سفپیم که در اطراف دیسک آموکسی سیلین- کلاولانیک اسید با فاصله ۱۵ میلی‌متر قرار داده شده بودند، ارگانیسم‌های تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع الطیف مشخص شدند. پلیت

www.SID.ir

Archive of SID

حاوی دیسک‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد آنکویه شدند. در صورت افزایش قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک حاوی کلاولانیک اسید به اندازه ۵ میلی‌متر یا بیش‌تر، ارگانیسم به عنوان تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف و در غیر این صورت از نظر تولید بتالاکتاماز وسیع الطیف منفی گزارش شد.

جهت کنترل کیفی در این آزمون از سویه اشرشیاکلی استاندارد (ATCC 25922) به عنوان کنترل منفی ESBL استفاده شد. داده‌ها با آزمون آماری مجذور کای تجزیه و تحلیل شدند.

***یافته‌ها:**

از مجموع ۲۹۷ نمونه اسینتوباکتر جمع آوری شده از بخش‌های مراقبت ویژه، ۱۴۷ سویهٔ اسینتوباکتربومانی شناسایی شدند که ۲۲ نمونه (۱۴/۹ درصد) از کشت ادرار و کاتتر ادراری، ۶۵ نمونه (۴۴/۲ درصد) از کشت خلط یا تراشه، ۳۷ نمونه (۲۵/۱ درصد) از کشت خون و ۲۳ نمونه (۱۵/۶ درصد) از زخم جدا شدند.

۸۷ درصد از سویه‌ها به سیپروفلوکساسین، ۸۱ درصد به آمیکاسین، ۷۸ درصد به جنتاماسین، ۷۲ درصد به سفتازیدیم، ۶۵ درصد به سفتریاکسون، ۵۹ درصد به سفوتاکسیم، ۲۴ درصد به سفپیم، ۱۳درصد به ایمی‌پنم و ۱۰ درصد به پیپراسیلین مقاوم بودند.

در بین ۱۰۶ نمونه مقاوم به سفتازیدیم، ۶۴/۱ درصد (۶۸ نمونه) مربوط به نمونه خلط، ۱۹/۸ درصد (۲۱ نمونه) مربوط به نمونه زخم و۱۶/۱ درصد (۱۷ نمونه) مربوط به نمونهٔ خون بودند. در بین ۸۷ نمونه مقاوم به سفوتاکسیم، ۵۹/۷ درصد (۵۲ نمونه) مربوط به نمونه خلط، ۲۰/۸ درصد (۱۸ نمونه) مربوط به نمونه زخم و ۱۹/۵ درصد (۱۷ نمونه) مربوط به نمونهٔ خون بودند.

مقادیر MIC سفتازیدیم و ایمی پنم ۱۴۷ نمونه اسینتوباکتربومانی تعیین شد (جدول شماره ۱).

جدول ۱- حداقل غلظت بازدارندگی آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم و سفتازیدیم در نمونه‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی

آنتی بیوتیک / حداقل غلظت بازدارندگی	ایمی‌پنم		سفتازیدیم	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
<۲	۸	۵/۴۴	۱۰	۶/۸
۲	۰	۰	۱۴	۹/۵۲
۴	۱۶	۱۰/۸۸	۱۶	۱۰/۸۸
۸	۰	۰	۸۵	۵۷/۸۲
۱۶	۰	۰	۱۲	۸/۱۶
۳۲	۰	۰	۸	۵/۴۴
۶۴	۰	۰	۰	۰
۱۲۸	۱۲	۸/۱۶	۲	۱/۳۶
۲۵۶	۴۰	۲۷/۲۱	۰	۰
۵۱۲	۷۱	۴۸/۲۹	۰	۰

بر اساس آزمون غربالگری اولیه به روش دیسک دیفیوژن، ۸۲ نمونه از سویه‌های مورد مطالعه (۵۶ درصد) تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف بودند و بر اساس نتایج آزمون تأییدی DDST، ۶۵ نمونه غربالی (۷۹/۲ درصد) و به عبارتی ۴۴ درصد از کل نمونه‌ها، تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف بودند.

*بحث و نتیجه‌گیری:

این مطالعه نشان داد که مقاومت آنتی بیوتیکی اسینتوباکتر در سویه‌های جدا شده از نمونه‌های بالینی بیماران بستری در بخش‌های مراقبت ویژه مرکز آموزشی- درمانی نمازی شیراز بالا بود.

درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مطالعه‌های انجام شده در بیمارستان‌های لس آنجلس کالیفرنیا، در مورد ایمی‌پنم ۱۰ درصد و در مورد سفوتاکسیم، سفپیم، پیپراسیلین، سفتازیدیم و سفتریاکسون به ترتیب ۴۰، ۱۶، ۸، ۵۶ و ۴۷ درصد گزارش شده است.[۱۹] در مورد ایمی پنم که در ایران یک آنتی‌بیوتیک بیمارستانی بوده و بدون تجویز پزشک مصرف نمی‌شود، مقاومت دارویی نسبت به سایر کشورها بالاتر است.[۲۰]

www.SID.ir

Archive of SID

عوامل خطر مختلفی در انتخاب و پخش سویه‌های تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف دخالت دارند که عبارتند از: توقف طولانی مدت در بخش‌های مراقبت ویژه، مصرف قبلی آنتی بیوتیک‌ها (از جمله سفالوسپورین نسل سوم)، شدت بیماری، استفاده از کاتترهای داخل عروقی و سابقه جراحی.[۱۶و۱۷] در بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های جدا شده، باکتری‌های مولد بتالاکتاماز به طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به آنتی بیوتیک‌های غیر بتالاکتاماز مقاومت نشان دادند، به طوری که سویه‌های اسینتوباکتر نسبت به آمیکاسین ۸۱ درصد و جنتامایسین ۷۸ درصد مقاوم بودند که این یافته با نتایج حاصل از کشور هند تقریباً مشابه بودند اما با نتایج مطالعه‌ای که در لس آنجلس کالیفرنیا انجام شد، (مقاومت ۷۵ درصدی به آمیکاسین و ۱۰۰ درصدی به جنتامایسین) تطابق نداشت.[۱۸و۱۹]

در مطالعه حاضر، میزان MIC سویه‌های اسینتوباکتر بومانی نسبت به دو آنتی بیوتیک سفتازیدیم و ایمی پنم به روش E.Test به ترتیب ۸۵ و ۱۶/۳ درصد گزارش شد که با مقادیر به دست آمده در کشور تایوان (۹۷ درصد و ۸/۴ درصد) و ژاپن (۷۵ درصد و ۹ درصد) مطابقت داشت.[۸و۲۲]

در غربال‌گری سویه‌های مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف در میان سویه‌های اسینتوباکتر، ۴۴ درصد به عنوان سویه‌های مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف شناخته شدند که با نتایج مطالعه‌های انجام شده در فرانسه (۴۶ درصد) و کره (۵۴/۶ درصد) همخوانی دارد، در حالی که نتایج مطالعه حاضر با نتایج حاصل از مطالعه های انجام شده در کشورهایی مثل هند در سال ۲۰۰۷ متفاوت است.[۱۸و۲۱و۲۲]

امروزه وجود بتالاکتامازهای وسیع الطیف در باکتری‌های جدا شده از بیماران بستری که مقاومت چندگانه دارویی را بیان می‌کنند، یک مسأله مهم بهداشتی در اکثر کشورها محسوب می‌شود. در مطالعه حاضر بیش‌تر موارد اسینتوباکتر از نمونه‌های خلط و تراشه جدا شدند و مقاومت چند گانه به دلیل مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها بسیار بالا بود. میزان بالای مقاومت دارویی جدا شده در یک بیمارستان، اهمیت انجام یک بررسی در سطح کشور را خاطر نشان می‌سازد. از طرفی علت مهم پیدایش انواع سویه‌های مقاوم تولید کننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف، مصرف بیش از حد و طولانی مدت سفالوسپورین وسیع‌الطیف است که بر اساس بسیاری از گزارش‌ها، شیوع این ارگانیسم از طریق روش‌های کنترل عفونت و استفاده صحیح از سفالوسپورین‌ها می‌تواند به عنوان یک راهکار برای پزشکان جهت استفاده مناسب از سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف در درمان عفونت‌ها به کار رود.

*سپاس‌گزاری:

از همکاری کارکنان آزمایشگاه بیمارستان نمازی شیراز و کارکنان بخش باکتری و ویروس شناسی دانشکده پزشکی شیراز قدردانی می‌شود.

*مراجع:

1. Ramphal R, Ambrose PG. Extended-spectrum β-lactamases and clinical outcomes: current data. Clin Infect Dis 2006 Apr 15; 42(Suppl 4): s164-72

2. Yu WL, Chuang YC, Walther-Rasmussen J. Extended-spectrum beta-lactamases in Taiwan: epidemiology, detection, treatment and infection control. J Microbiol Immunol Infect 2006 Aug; 39(4): 264-77

3. Carbonne A, Naas T, Blanckaert K, et al. Investigation of a nosocomial outbreak of extended-spectrum beta-lactamaseVEB-1-producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a hospital setting. J Hosp Infect 2005 May; 60(1): 14-8

4. Yagi T, Kurokawa H, Shibata N, et al. A preliminary survey of extended-spectrum

www.SID.ir

Archive of SID

beta-lactamases (ESBLs) in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and Escherichia coli in Japan. FEMS Microbiol Lett 2000 Mar 1; 184(1): 53-6

5. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrob Agents Chemother 2004 Jan; 48(1): 1-14

6. Naas T, Bogaerts P, Bauraing C, et al. Emergence of PER and VEB extended-spectrum beta-lactamases in *Acinetobacter baumannii* in Belgium. J Antimicrob Chemother 2006 Jul; 58(1): 178-82

7. Bureau-Chalot F, Drieux L, Pierrat-Solans C, et al. Blood pressure cuffs as potential reservoirs of extended-spectrum beta-lactamase VEB-1- producing isolates of *Acinetobacter baumannii*. J Hosp Infect 2004 Sep 58(1): 91-2

8. Huang LY, Chen TL, Lu PL, et al. Dissemination of multidrug-resistant, class 1 integron-carrying *Acinetobacter baumannii* isolates in Taiwan. Clin Microbiol Infect 2008 Nov; 14(11): 1010-9

9. Bonomo RA, Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa.* Clin Infect Dis 2006 Sep 1; 43(Suppl 2): s49-56

10. Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Fernandez-Hinojosa E, et al. *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia: epidemiological and clinical findings. Intensive Care Med 2005 May; 31(5): 649-55

11. Cisneros JM, Rodriguez-Bano J. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment. Clin Microbiol Infect 2002 Nov; 8(11): 687-93

12. Young LS, Sabel AL, Price CS. Epidemiologic, clinical, and economic evaluation of an outbreak of clonal multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection in a surgical intensive care unit. Infect Control Hosp Epidemiol 2007 Nov; 28(11): 1247-54

13. Karageorgopoulos DE, Falagas ME. Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. Lancet Infect Dis 2008 Dec; 8(12): 751-62

14. Baron E, Finegold S. Baily & scot's diagnostic microbiology. 11th ed. USA: Mosby Co; 2002. 354-61

15. Swenson JM, Killgore GE, Tenover FC. Antimicrobial susceptibility testing of Acinetobacter spp. by NCCLS broth microdilution and disk diffusion methods. J Clin Microbiol 2004 Nov; 42(11): 5102-8

16. Kendirli T, Aydín HI, Hacíhamdioglu D, Gulgun M, et al. Meningitis with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* treated with ampicillin/sulbactam. J Hosp Infect 2004 Apr; 56(4): 328

17. Bassetti M, Righi E, Esposito S, et al. Drug treatment for multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. Future Microbiol 2008 Dec; 3(6): 649-60

18. Sinha M, Srinivasa H, Macaden R. Antibiotic resistance profile & extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production in Acinetobacter species. Indian J Med Res 2007 Jul; 126(1): 63-7

19. Valentine SC, Contreras D, Tan S, et al. Phenotypic and molecular characterization of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from nosocomial outbreaks in Los Angeles County, California. J Clin Microbiol 2008 Aug; 46(8): 2499-507

20. Feizabadi MM, Fathollahzadeh B, Taherikalani M, et al. Antimicrobial susceptibility patterns and distribution of blaOXA genes among Acinetobacter spp.

www.SID.ir

Archive of SID

Isolated from patients at Tehran hospitals. Jpn J Infect Dis 2008; 61: 274-8

21. Poirel L, Menuteau O, Agoli N, et al. Outbreak of extended-spectrum beta-lactamase VEB-1-producing isolates of Acinetobacter baumannii in a French hospital. J Clin Microbiol 2003; 41: 3542-7

22. Yong D, Shin JH, Kim S, et al. High prevalence of PER-1 extended-spectrum beta-lactamase-producing Acinetobacter spp. in Korea. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 1749-51

www.SID.ir