Archive of SID

بررسی الگوی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی استافیلوکوکس اورئوس جدا شده از نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه مرکزی کاشان

دکتر غلامرضا شجری[1]، خانم دکتر رضوان منیری[2]

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به شیوع بالای عفونتهای استافیلوکوکی و اهمیت مقاومت داروئی ناشی از آنها، این مطالعه به منظور تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها استافیلوکوکوس اورئوس جداشده نمونه‌های کلینیکی ارسالی به آزمایشگاه مرکزی کاشان در نیمه اول سال ۱۳۷۷ انجام پذیرفت.

مواد و روشها: این مطالعه به روش توصیفی بر روی ۷۶ بیمار مراجعه‌کننده به آزمایشگاه مرکزی کاشان که در کشت ارسالی آنها استافیلوکوکوس اورئوس رشد کرده بود، انجام شد. نمونه‌های ارسالی بر روی محیطهای اختصاصی کشت داده شدند و تعیین هویت سویه‌ها، از طریق تست‌های اختصاصی انجام شد. سپس تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جدا شده، به روش انتشار دیسک در برابر آنتی‌بیوتیکهای مربوطه در محیط مخصوص آنتی‌بیوگرام انجام گرفت و اطلاعات به دست آمده به روش آمار توصیفی ارائه شد.

یافته‌ها: از ۷۶ نمونه بررسی، بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی به ترتیب نسبت به اگزاسیلین (۹۶/۱٪)، کلوگزاسیلین (۶۳/۲٪)، سفالوتین(۲۳/۷٪) و انکومایسین (۱۸/٤٪) به دست آمد.

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: میزان مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به اگزاسیلین و کلوگزاسیلین در کاشان بالاست. مطالعات تحلیلی برای تعیین ارتباط دقیق هریک از داروها و قضاوت آماری در مورد آنها با توجه به نقش عوامل درمانی قبلی، سن، جنس و نوع رژیم داروئی توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: مقاومت آنتی‌بیوتیکی، استافیلوکوکوس اروئوس

---

[1] گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس (*S.aureus*) مهمترین پاتوژن انسانی جنس استافیلوکوکوس است که به علت قدرت تخریب بالا و مقاومت روزافزون آنها در برابر انواع داروهای ضدباکتریایی، به صورت یکی از نگرانی‌های عمده سلامت عمومی درآمده است. این ارگانیسم سردسته عوامل به‌وجودآورندهٔ باکتریمی، عفونت زخمهای جراحی، پروتزهای حیاتی و نیز شایعترین عامل پدیده‌آورنده عفونت پوست و بافتهای نرم است؛ به علاوه از نظر ایجاد عفونتهای بیمارستانی نیز در درجه دوم اهمیت قرار دارد(۱).

گسترش شدید و بی‌رویه مقاومت آنتی‌بیوتیکی *S.aureus* یکی از مشکلات عمده در علم پزشکی است بطوری که ۵تا۲۰ درصد استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از زخمها و عفونتها، نسبت به انواع آنتی‌بیوتیکهای معمول در درمان این عفونتها، مانند اریترومایسین، کلیندامایسین و لینکومایسین مقاوم شده‌اند. مقاومت در برابر کلرامفنیکل، آمینوگلیکوزیدها، متی‌سیلین و... نیز در حال افزایش است(۲)؛ بطوری که میزان مقاوت سویه‌های *S.aureus* در برابر متی‌سیلین امروزه در برخی از مؤسسات مراقبتهای پزشکی بیش از ۴۰٪ گزارش شده است(۱). مقاومت استافیلوکوک‌ها نسبت به پنی‌سلین نیز به علت تولید آنزیم بتا ـ لاکتاماز در حال افزایش است به طوری که در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۸ در دانمارک انجام شد میزان مقاومت *S.aureus* نسبت به پنی‌سیلین بیش از ۹۰٪ گزارش شد(۳). در مطالعه دیگری که در سال ۱۹۹۸ در سنگاپور بر روی عفونتهای باکتریایی پوست صورت گرفت، میزان مقاومت *S.atreus* نسبت به پنی‌سلین و آمپی‌سیلین ۸۹/۵٪ گزارش شد(٤).

با توجه به میزان مقاومت بالای استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، جهت تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده، این تحقیق برروی نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه مرکزی کاشان در نیمه اول سال ۱۳۷۷ انجام شد.

مواد و روشها

در این پژوهش توصیفی، بیمارانی که به بخش میکروب شناسی ارجاع شده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. که ۷٦نفر از این بیماران مبتلا به استافیلوکوکوس اورئوس بودند.

مواد و وسایل لازم:

ـ سواب استریل، سوزن کشت،شعله گاز، لام، محلول‌های رنگ آمیزی گرم، روغن سدر، میکروسکوپ،...

ـ پلیت های حاوی انواع محیط های کشت انوزین متیلین بلور (*EMB*)، ژلوز حاوی ۵-۳ درصد خون گوسفند (*BA*)، ژلوز شکلاتی(*CA*) و محیط مولر هینتون آگار (*MH*).

ـ لوله‌ای در پیچ دار استریل حاوی ۵ سی‌سی محیط کشت مایع تریپتیکازسوی براث (*TSB*).ـ لوله شیشه‌ای حاوی سولفات باریم ۰/۵٪ درصد استاندارد مک فارلند.

ـ آب اکسیژنه ۳ درصد برای انجام تست کاتالاز.

www.SID.ir

Archive of SID

ـ لوله حاوی پلاسمای سیتراته رقیق شده خرگوش به نسبت ۱ به ۵ برای انجام تست کوآگولاز.

ـ انواع دیکس های آنتی بیوتیکی تاریخ مصرف‌دار تهیه شده از شرکت‌های معتبر.

تمام محلول‌ها و محیط‌های کشت مصرفی نیز دیسک نتی بیوتیکی تا قبل از مصرف در یخچال و در دمای
C °٤نگهداری شدند. لولهٔ حاوی ۰٫۵ درصد استاندارد مک فارلند قلع پیچی شده در یک محل دور از نور، در حرارت معمولی آزمایشگاه نگهداری شد و قبل از مقایسه آن با کدورت حاصل از رشد میکروبی در محیط *TSB*، *Shker* کاملاً یکنواخت می‌شد.

روش انجام کار:

از کلیه افراد مورد مطالعه باتوجه به محل ضایعه به وسیله یک سواپ یا سوزن و سرنگ استریل از زخم یا محل عفونت یک گسترش تهیه نموده به روش گرم رنگ‌آمیزی شد. نمونه دیگری نیز جهت کشت در محیط‌های اختصاصی، ژلوز خون‌دار(*BA*)، ژلوز شکلاتی (*CA*) و *EMB* گرفته شد. کشت ها به مدت ٢٤ تا ٤٨ ساعت در انکوباتور$37^{\circ}C$ نگهداری شدند، پس از این مدت ویژگی‌های ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک کلنی‌های رشد کرده روی محیط‌های کشت بررسی شده همراه با انجام تست‌های بیوشیمیایی اختصاصی کاتالاز و کواگولاز، تعیین هویت شدند. کلیه نمونه‌هایی که دارای پیگمان زرد طلایی و همراه با همولیز بتا در محیط ژلوز خون‌دار بودند و در رنگ‌آمیزی گرم ظاهر خوشه‌ای و گرم مثبت داشتند و تست‌های کاتالاز و کواگولاز آنها (به روش لوله‌ای) مثبت می‌شد به عنوان *S.aureus* در نظر گرفته می‌شدند. سپس به وسیله لوپ استریل ۳ تا ٤ کلنی از باکتری مورد نظر برداشته به محیط *TSB* انتقال داده به مدت ۳ تا ٤ ساعت در انکوباتور$37^{\circ}C$ قرار داده می‌شدند تا کدورتی معادل۰٫۵ استاندارد مک‌فارلند حاصل شود؛ سپس به وسیله سواب استریل آغشته شده با سوسپانسیون میکروبی در محیط *TSB*، تمام سطح یک پلیت حاوی محیط مولر هینتون آگار را در مقابل شعله گاز در تمام جهات استریک زده پس از دیسک‌گذاری و انکوباسیون به مدت ۱۸ تا ٢٤ ساعت، قطر هاله عدم رشد به وسیله یک خط‌کش پلاستیکی نازک اندازه‌گیری نموده (روش استاندارد *Kirby - Bauer*) پس از مقایسه با اندازه‌های استاندارد شرکت سازنده بیومرفرانسه (*France–iomerx*)، مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جدا شده تعیین گردید(۵).

در این مطالعه، از دیسک‌های آنتی بیوتیکی معمول در درمان عفونتهای استافیلوکوکی مانند اگزاسیلین ($1\mu g$)،کلوکزاسیلین ($5\mu g$)، و انکومایسین ($30\mu g$) و سفالوتین ($30\mu g$) تهیه شده از شرکت‌های (پادتن طب) استفاده شد و از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی پنی‌سیلین ($10\mu g$) و جنتامایسین ($10\mu g$)، تنها جهت مقایسه استفاده شد.

داده های به دست آمده به روش آمار توصیفی به صورت جدول و نمودار ارائه شده است .

یافته‌ها

الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۷٦ سویه استافیلوکوکوس ارئوس جداشده از نمونه‌های کلینیکی، با توجه به محل ضایعه نوع آنتی بیوتیک در جدول و نمودار مربوطه ارائه شده

www.SID.ir

www.SID.ir

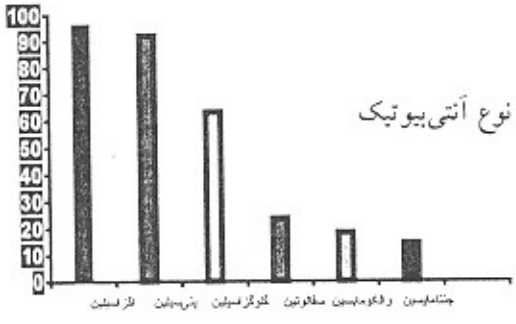
است. همانطور که ملاحظه می شود در بین ۷٦ نمونه مورد بررسی، بیشترین مقاومت آنتی پلیسین نسبت به اگزاسیلین به مقدار ۹٦/۱٪ و کنترین آن نسبت به وانکومایسنی به میزان ۱/٦٪ مشاهده شد.

جدول ۱: توزیع فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های کلینیکی ارسالی به آزمایشگاه مرکزی کاشان برحسب نوع آنتی‌بیوتیک و محل ضایعه

نوع آنتی بیوتیک / محل ضایعه	وانکومایسین	سفالوتین	کلوکزاسیلین	اگزاسیلین	چندامایسین	پنیسیلین
زخمهای سروگردن (۲۳نمونه)	۳۰/۵*	۲٦/۱	٦۰/۸	۹۵/٦	۱۳/۱	۹۵/٦
نمونه خلط (۲۱نمونه)	۱٤/۳	۲٤	٦٦/٦	۱۰۰	۱۵/٤	۸٤/٦
زخم چشم (۱۳نمونه)	۱۵/٤	۱۵/٤	٤٦/۲	۱۰۰	۱۵/٤	۸٤/٦
نمونه خلط (۸نمونه)	۱۲/۵	۳۷/۵	٦۲/۵	۸۷/۵	۱۲/۵	۸۷/۵

* اعداد به صورت درصد بیان شده است

نمودار ۱: توزیع ۱۳۷٦ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس برحسب درصد مقاومت و به تفکیک نوع آنتی‌بیوتیک، کاشان



در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۸ در دانمارک بر روی عفونت پوست و بافت‌های نرم ناشی از *S.aureus* انجام شد، میزان مقاومت نسبت به پنی‌سیلین بیش از ۹۰٪ گزارش شد(۳). در مطالعه دیگری که در همین سال در سنگاپور انجام شد این میزان ۹۸/۵٪ گزارش شد(٤)؛ در مطالعه میزان مقاومت نسبت به پنی‌سیلین ۹۲/۱ درصد به دست آمد که با مطالعات انجام شده توسط این محققین کاملاً مطابقت دارد.

در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۹ در هنگ‌کنگ بر روی الگوی حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوک‌های عامل باکتریمی انجام شد، از ۲۰۳ نمونه استافیلوکوک، ۱۸ مورد آن نسبت به وانکومایسین مقاوم بودند(۹٪) (٦)؛ همچنین در مطالعه‌ای که در ایران در سال ۱۳۷۹ توسط دکتر رهبر و همکارانش بر روی ۹۲ نفر از پرسنل بیمارستانی که ناقل *S.aureus* در بینی خود بودند انجام شد، ۲/٦٪ سویه‌ها نسبت به وانکومایسین مقاوم بودند(۷)؛ در مطالعه دیگری که توسط دکتر ستاری و همکاران در دانشگاه علوم پزشکی تربیت مدرس در سال ۱۳۷۸ بر روی استافیلوکوک‌های کواگولاز مثبت و کواگولاز منفی جدا شده از مواد لبنی انجام شد، ۲۲/٤٪ نمونه نسبت به وانکومایسین مقاوم بودند(۸). در مطالعه ما میزان مقاومت نسبت به وانکومایسین ۱۸/٤٪ به دست آمد که با میزان مقاومت به دست آمده توسط محققین فوق همخوانی دارد.

در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۸ در سنگاپور انجام شد میزان مقاومت *S.aureus* نسبت به سفالکین و گلوکزاسیلین ۷٪ گزارش شد(٤). در مطالعه‌ای که در ایران توسط دکتر ستاری و همکاران انجام شد میزان مقاومت *S.aureus* نسبت به سفالوتین ۲۸٦٪ به دست آمد (۸)، همچنین در مطالعه دیگری که توسط خانم فاطمه زندی و همکاران در سال ۱۳۷۷ بر روی سویه‌های *S.aureus* جدا شده از نمونه ادرار بیماران بستری در بیمارستان انجام شد، میزان مقاومت نسبت به سفالوتین، سفالکسین و

Archive of SID

Archive of SID

سفازولین ۳۳/۳٪ به دست آمد (۹) که با میزان مقاومت به دست آمده در این مطالعه (۲۳/۷٪) تقریباً افزایش نشان می‌دهد.

در مطالعه زندی و همکاران در سال ۱۳۷۷، میزان مقاومت نسبت به کلوکزاسیلین ۶۱٪ (۹) و در مطالعه انجام شده توسط دکتر زرگری‌زاده و همکار در دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، ۷۹/۱٪ (۱۰) گزارش شده میزان مقاومت نسبت به گلوکزاسیلین در این مطالعه ۶۳/۲٪ به دست آمد.

در مطالعه ای که در سال ۱۹۹۹ در آمریکا بر روی عفونت پوست و بافت‌های نرم ناشی از *S.aureus* انجام شد، میزان مقاومت نسبت به اگزاسیلین ۲۴٪ گزارش شد (۱۱) که با میزان مقاومت به دست آمده در ایران مطالعه (۹۶/۱٪)، کاملاً متفاوت است.

علت مقاومت بالای *S.aureus* نسبت به دو آنتی‌بیوتیک اگزاسیلین و گلوکزاسیلین در ایران، احتمالاً می‌تواند ناشی از تفاوت در پروتکل درمانی در ایران و خارج از کشور باشد؛ بدین معنی که وانکومایسین در ایران دیرتر از کشورهای پیشرفته (آمریکا) و یا در حال پیشرفت (سنگاپور) وارد بازار مصرف شده در نتیجه آنتی‌بیوتیک‌های قبلی، که از جمله آنها اگزاسیلین و گلوکزاسیلین است، برای زمانهای طولانی‌تری در درمان عفونت‌های استافیلوکی استفاده شده است از نتیجه مقاومت باکتری نیز نسبت به این دو آنتی‌بیوتیک افزایش یافته است که البته مطالعات تحلیلی بیشتری را برای تعیین ارتباط دقیق هریک از این آنتی‌بیوتیک ها، در میزان بروز این مقاومت‌ها، با توجه به نوع رژیم داروئی و نقش عوامل درمانی قبلی در ایران را طلب می کند .

از موارد فوق چنین برمی‌آید که میزان مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به اگزاسیلین (۹۶/۱٪) و گلوکزاسیلین (۶۳/۲٪) بالاست ولی میزان مقاومت نسبت به وانکومایسین ونسبتاً پایین است (۱۸/۴٪). البته بروز نشانه‌های مقاومت نسبت به وانکومایسین هشدار جدی برای دست‌اندرکاران کادر درمانی است تا از استفاده بی‌رویه از این آنتی‌بیوتیک خودداری نموده در صورت عدم پاسخ بیمار نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های دیگر از وانکومایسین استفاده شود.

پیشنهادات:

به منظور جلوگیری از افزایش بروز مقاومت داروئی، جهت درمان هرنوع عفونت استافیلوکوکی، ابتدا تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی مناسب (آنتی‌بیوگرام) به روش استاندارد انجام شود. مطالعات تحلیلی بیشتر برای تعیین ارتباط دقیق هر یک از این آنتی‌بیوتیک‌ها و قضاوت آماری در مورد آنها توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات پرسنل محترم آزمایشاه مرکزی کاشان جهت همکاری در اجرای تحقیق، صمیمانه تشکر و قدردانی می شود.

Referece

1- *Fouci, Issilbacher; "erHarrison's Principler of Internal Medicine, Mc Graw Hill Pubication ,14th Edition ,1998: 611-7*

www.SID.ir

Archive of SID

2- Jawetz. Melnick. Adelberg Medical Microbiology .California , 21 edition, 1998: 197 202
3- Espersenf. Resistance to antibiotics used in dermatoligical practice. Br J Dermatol 1998; Suppl. 4 - 8
4- Tan - HH,Tay - YK; Cah - CI . Bacterial skin infections at a tertiary dermatological center . J. Aug. 1998; 39(8); 353 - 56
5 - Ellen Jo. Baron , Sydney M . Finegold ; Diagnostic Microbiology ; Methods for Testing Antimicrobial ffective ness. 8 th ed 1990 ; 171 – 194.
6 - Wonf - SS;Ho PL . Bacteremia caused by staphylococci with inducible vancomycine heteroresistance. Clin Infect Dis 1999; 29(4):260 – 67.

۷- دکتر محمد رهبر و همکاران. « بررسی فراوانی استافیلکوکوس مقاوم به متی سیلین در کارکنان مرکز آموزشی_ درمانی بیمارستان امام خمینی ارومیه در خرداد وتیرماه ۱۳۷۹. چهارمین کنگره میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی. دانشگاه شاهد، ۱۵ تا ۱۷ آبان ۱۳۸۰، صفحه ۱۷۱ و ۱۷۲.

۸ ـ دکتر مرتضی ستاری و همکاران. « بررسی آلودگی استافیلوکوکوس مواد لبنی و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها در تهران. فصلنامه علوم پزشکی مدرس، ۱۳۷۸ دوره دوم، شماره ۲، صفحه ۶۸_۶۳.

۹ ـ فاطمه زندی و همکاران. ردیابی مقاومت بتا ـ لاکتامازی در بین سویه‌ها استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از عفونت ادراری در عفونت‌های بیمارستانی. چهارمین کنگرهٔ میکروب‌شناسی، دانشکده دانشگاه شاهد، ۱۵ تا ۱۷ آبانماه ۱۳۸۰. صفحات۹۹_۸۸

۱۰ـ دکتر احد زرگری‌زاده، بابک شمالی. بررسی مقاومت دارویی استافیلوکوکهای کوآگولا منفی جداشده از ادرار بیماران، در چهارمین کنگره میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشکده شاهد، ۱۵ تا ۱۷ آبانماه ۱۳۸۰ صفحه ۹۰و۹۱.

11 – Doern. GT, jone S-RN Bacterial pathogens isolated from patients with skin and soft tossie infections agn Microbial Infect Dis 1999 May; 34(1): 65 – 72.

www.SID.ir