

شیوع مقاومت به وانکومایسین در انتروکوکهای جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان کودکان مفید

صدیقه رفیعی طباطبایی^۱، زهرا وثوقیان^۲، معصومه نویدی نیا^۳، آرزو مرادی^۴، عبدالمکریمی^{۵*}

۱. متخصص بیماریهای کودکان، استادیار دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۲. پزشک عمومی
۳. کارشناس ارشد میکروبیولوژی
۴. متخصص بیماریهای کودکان
۵. فوق تخصص بیماریهای عفونی کودکان، استاد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

* نشانی برای مکاتبه: تهران، خیابان دکتر شریعتی، روبروی حسینییه ارشاد، بیمارستان کودکان مفید، مرکز تحقیقات عفونی اطفال، تلفن و نمابر ۰۲۲۲۶۹۴۱،
pediatric_center@yahoo.com ، info@pedirc.org

دریافت مقاله: مهر هشتاد و هفت پذیرش برای چاپ: آذر هشتاد و هفت

چکیده

سابقه و هدف: به دلیل نقشی که انتروکوک در عفونت زخمهای جراحی، عفونت مجاری ادراری اکتسابی از بیمارستان و باکتری می دارد، امروزه این باکتری به مشکل قابل توجهی تبدیل شده است. از سوی دیگر مقاومت انتروکوک به وانکومایسین (*Vancomycin Resistant Enterococcus* یا *VRE*) روز به روز به افزایش است و داروهای مناسب برای درمان در این موارد محدود به *quinupristin-dalfopristin*، *linezolid*، *oxazolidione* و چند آنتی بیوتیک دیگر شده است. در این مطالعه ما شیوع *VRE* در بیماران بستری در بخش عفونی بیمارستان کودکان مفید را در مدت شش ماه مورد بررسی قرار داده، ارتباط شیوع آن را با سن، جنس و مصرف قبلی آنتی بیوتیک در بیماران ارزیابی کرده و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی انتروکوک را تعیین کردیم.

روش کار: در طول مدت شش ماه از بیماران بستری در بخش عفونی بیمارستان، در عرض ۴۸ ساعت پس از بستری نمونه مدفوع گرفته شد. میزان حساسیت انتروکوکهای جدا شده به وانکومایسین و سایر آنتی بیوتیکها به روش آگار دیسک دیفیوژن مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: از مجموع ۱۶۱ نمونه مدفوع جمع آوری شده، ۱۵/۵٪ انتروکوکهای جدا شده به وانکومایسین مقاوم بودند. در این مطالعه رابطه ای بین شیوع *VRE* با سن، جنس و مصرف قبلی آنتی بیوتیک مشاهده نشد. اکثریت انتروکوکهای جدا شده به آنتی بیوتیکهایی نظیر نورفلوگزاسین، اگزاسیلین، سفوتاکسیم، سفالوتین، سفپیم، سفتری زوکسیم، کلیندامایسین، پنی سیلین، آمپی سیلین، آموکسی سیلین کلاوونات، کلاریترومایسین و آزیترومایسین مقاوم بودند.

نتیجه گیری: توصیه می شود که کمیته های عفونت های بیمارستانی فعال تر عمل نموده و با کنترل عفونت های بیمارستانی از جمله انتروکوک که امروزه به یک معضل تبدیل شده است و ارائه راهکارهای مناسب جهت استفاده از آنتی بیوتیک ها، از پیدایش و انتقال آنها جلوگیری شود. همچنین با توجه به شیوع قابل توجه انتروکوک مقاوم به وانکومایسین، انجام مطالعات بیشتر برای بررسی مقاومت انتروکوک به آنتی بیوتیکهایی که در حال حاضر در درمان *VRE* به کار می روند، شامل *Linezolid*، *Oxazolidione* و *Quinupristin-dalfopristin* پیشنهاد می گردد.

واژگان کلیدی: آگار دیسک دیفیوژن، انتروکوک مقاوم به وانکومایسین

مقدمه

انتروکوک باکتری گرم مثبت، کاتالاز منفی و بیهوازی اختیاری است که به طور طبیعی در دستگاه گوارش انسان و حیوانات ساکن است (۱). به دلیل نقشی که این باکتری در بروز عفونت زخمهای جراحی، عفونت مجاری ادراری اکتسابی از بیمارستان و باکتری می دارد، به یک مشکل قابل توجه تبدیل شده است (۲). مشکلی که در مورد انتروکوک وجود دارد مقاومت آنتی بیوتیکی آن است. انتروکوک به میزان زیاد به سفالوسپورین ها ، پنی سیلین های نیمه صنایعی مانند نفسیلین، آگزاسیلین ومتی سیلین مقاوم است. همچنین مقاومت نسبی به پنی سیلین های با طیف گسترده (extended spectrum β -lactamase) مانند تیکارسیلین و کاربونی سیلین دارد. برای درمان عفونت های انتروکوکی جدی در انسان آمپی سیلین و آمینوگلیکوزیدها داروهای انتخابی هستند. در گونه های مقاوم به آمپی سیلین و آمینوگلیکوزید می توان از درمان با گلیکوپپتیدها مانند وانکومایسین استفاده کرد. وانکومایسین از گذشته بر روی گونه های مقاوم به چند دارو موثر بوده است، ولی مقاومت به وانکومایسین و سایر گلیکوپپتیدها (شامل تیکوپلانتین و داپتومایسین) به طور روزافزون شایع شده است (۱). انتروکوک مقاوم به وانکومایسین (VRE) نخستین بار در دهه ۱۹۸۰ گزارش شد و شیوع آن در سراسر جهان تا سال ۱۹۸۸ افزایش یافت (۲). در این موارد داروهای مناسب برای درمان محدود به چند آنتی بیوتیک دیگر است.

با مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها و ظهور باکتری های مقاوم، در آینده شاهد مشکلات عمده ای در امر مهار عفونت های ایجاد شده توسط این باکتری ها خواهیم بود. بنابراین مطالعه بر روی مقاومت آنتی بیوتیکی و نتایج بدست آمده هشدار در جهت بهبود وضع بهداشت عمومی در جامعه کنونی خواهد بود. هدف ما از این مطالعه تعیین شیوع VRE در بیمارستان بستری در بخش عفونی بیمارستان کودکان مفید در فاصله ۶ ماه و بررسی ارتباط شیوع VRE با سن، جنس، مصرف قبلی آنتی بیوتیک ومدت مصرف آن توسط بیماران می باشد. هدف دیگر ارزیابی حساسیت انتروکوکهای جدا شده به سایر آنتی بیوتیک ها و به دست آوردن الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آنهاست.

روش کار

در طی مدت ۶ ماه (از مهرماه ۸۵ تا فروردین ماه ۸۶) از بیماران بستری در بخش عفونی بیمارستان مفید در عرض ۴۸ ساعت پس از بستری نمونه مدفوع گرفته شد. تمام بیمارانی که به دلیل هر نوع بیماری در طی مدت مطالعه در بخش عفونی بستری شده بودند، وارد مطالعه شدند. تعدادی از این بیماران به دلیل عدم همکاری در جمع آوری نمونه مدفوع یا ترک بیمارستان پیش از نمونه گیری، از مطالعه خارج شدند. محدودیتی در مورد سن، جنس و علت بستری بیماران برای ورود به طرح وجود نداشت. نمونه گیری با در اختیار قراردادن ظرف مناسب به بیماران انجام و بلافاصله به آزمایشگاه میکروبیولوژی انتقال داده شد. نمونه ها پس

از انتقال به آزمایشگاه در محیط انتروکوکوسل آگار کشت داده شده و محیط کشت پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون با انجام تستهای کاتالاز، اکسیداز و رنگ آمیزی گرم جهت شناسایی رشد انتروکوک مورد بررسی قرار گرفت. جهت تأیید انتروکوک از تست های بایل اسکولین آگار NACL ۶/۵ درصد، رشد در ۱۰ درجه و رشد در ۴۵ درجه استفاده شد. سپس درجه حساسیت انتروکوکهای جدا شده به وانکومایسین با استفاده از روش آگار دیسک دیفیوژن بررسی شد. پس از ۲۴-۲۰ ساعت انکوباسیون، هاله عدم رشد اطراف دیسک اندازه گیری و بر اساس استاندارد NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) به صورت حساس برای قطر هاله عدم رشد ≥ 17 میلی متر، اینترمدیت برای هاله عدم رشد ۱۶-۱۵ میلی متر و مقاوم برای هاله عدم رشد ≤ 14 میلی متر تعیین گردید.

علاوه بر وانکومایسین، میزان حساسیت انتروکوکهای جدا شده به نورفلوکساسین، آگزاسیلین، آمپی سیلین، کوآموکسی کلاو، پنی سیلین، کلاریترومایسین، آزیترومایسین، سفوتاکسیم، سفتری زوکسیم، سفالوتین، سفپیهم و کلیندامایسین نیز با روش آگار دیسک دیفیوژن ارزیابی شد. بطورهمزمان اطلاعات هر بیمار شامل جنس، سن، علت بستری، مصرف قبلی آنتی بیوتیک، نوع آنتی بیوتیک مصرفی ومدت زمان مصرف ثبت شد. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۱/۵ و با استفاده از آزمون های مربع کای و تی تجزیه و تحلیل شد و $P < 0.05$ معنی دار تلقی گردید.

یافته ها

در مدت شش ماه از مهرماه ۱۳۸۵ تا فروردین ماه ۱۳۸۶ نمونه مدفوع ۱۶۱ بیمار بستری در بخش عفونی بیمارستان کودکان مفید جمع آوری شد. ۶۰٪ بیماران پسر بودند. محدوده سنی بیماران بین ۱ ماه تا ۱۸۵ ماه (۱۵/۴ سال) با میانگین سنی ۳۸/۵۹ ماه و میانه ۱۹ ماه بود.

۳۱/۷٪ از بیماران مصرف اخیر آنتی بیوتیک نداشتند. در بیمارانی که مصرف قبلی آنتی بیوتیک داشتند، کمترین مدت مصرف ۱ روز و بیشترین مدت ۱۸۰ روز بود. میانگین مصرف قبلی آنتی بیوتیک در این گروه ۵/۹۸ روز و میانه آن ۳ روز بود.

۲۷/۳٪ نمونه ها از نظر انتروکوک منفی و ۷۲/۷٪ از نظر انتروکوک مثبت بودند. در بررسی آنتی بیوگرام، ۶۹/۸٪ انتروکوکها به وانکومایسین حساس و ۱۴/۷٪ اینترمدیت بودند. ۱۵/۵٪ انتروکوکهای جدا شده به وانکومایسین مقاوم بودند.

بین شیوع VRE با سن، جنس بیماران و مصرف قبلی آنتی بیوتیک و مدت مصرف قبلی آنتی بیوتیک بر حسب روز در آنان مشاهده نشد.

در صد بالایی از انتروکوکهای جدا شده در این مطالعه به سایر آنتی بیوتیکهای مورد استفاده در آنتی بیوگرام شامل نورفلوکسازین، آگزاسیلین، سفوتاکسیم، سفالوتین، سفپیهم، سفتری زوکسیم، کلیندامایسین، پنی سیلین، آمپی سیلین، آموکسی کلاوونان، کلاریترومایسین و آزیترومایسین نیز مقاوم بودند.

جدول ۱. نتایج بررسی آنتی بیوگرام نمونه های مثبت از نظر انتروکوک در بیماران بستری در بخش عفونی بیمارستان کودکان مفید از مهرماه ۸۵ تا فروردین ماه ۸۶

نام آنتی بیوتیک	حساس %	اینترمدیت %	مقاوم %
کلیندامایسین	۰	۱/۳	۹۸/۷
کلاریترومایسین	۶/۷	۰	۹۳/۳
اگزاسیلین	۴/۹	۳/۷	۹۱/۴
سفتی زوکسیم	۰	۱۶/۷	۸۳/۳
آزیترومایسین	۱۷	۴/۳	۷۸/۷
سفوناکسیم	۲۰/۳	۲/۷	۷۷
نورفلوکسازین	۱۲/۷	۱۲/۷	۷۴/۷
پنی سیلین	۲۲/۲	۴/۲	۷۳/۶
سفپییم	۲۹	۰	۷۱
سفالوتین	۱۷/۳	۱۲/۳	۷۰/۴
آمپی سیلین	۳۰/۷	۰	۶۹/۳
آموکسی کلاونوات	۴۲/۹	۰	۵۷/۱
وانکومایسین	۶۹/۸	۱۴/۷	۱۵/۵

بحث

به دلیل افزایش شیوع و توانایی بقای طولانی مدت در محیط، وانکومایسین مقاوم به درمان به یک تهدید مهم تبدیل شده است. شیوع VRE جدا شده از نمونه مدفوع بیماران بستری در مطالعه حاضر ۱۵/۵٪ است. در مطالعه ای در سال ۱۳۸۳ میزان شیوع کلونیزاسیون مدفوعی VRE براساس دیسک دیفیوژن در بیمارستان نمازی شیراز ۱۴٪ گزارش شد (۳). در مطالعه Fridkin میزان VRE در واحدهای ICU در ایالات متحده ۱۳٪ گزارش شد (۴). در مطالعه Gambartotto در سال ۲۰۰۰ بر روی VRE براساس دیسک دیفیوژن، ۲۴۳ نمونه مدفوع جدا شده از ۷۰ بیمار ۸۶-۱۶ ساله بستری در بخش هماتولوژی و ۱۶۹ بیمار ۷۷-۱۵ ساله سرپایی بعنوان گروه کنترل، ۳۷٪ بیماران بستری و ۱۱/۸٪ بیماران غیر بستری دارای انتروکوک مقاوم به وانکومایسین بودند (۵). میزان شیوع VRE در مطالعه Stephen ۲۸٪، در مطالعه Fluit ۱۰٪ و در مطالعه Nilson و Hanbergor کمتر از ۱٪ بوده است. در مطالعه Mathai در سال ۱۹۹۹ در گونه های انتروکوک جمع آوری شده هیچ مقاومتی نسبت به وانکومایسین مشاهده نشد (۴). عفونت با VRE معمولاً به دنبال کلونیزاسیون با انتروکوک بویژه در دستگاه گوارش رخ می دهد. کلونیزاسیون وابسته به تماس با VRE و وضعیت جسمانی میزبان است و تماس نزدیک و طولانی مدت با بیماران حامل VRE در کلونیزاسیون بیماران مستعد حائز اهمیت است. بیماران مستعد شامل افرادی هستند که به شدت بیمار بوده یا برای دوره های متعدد و طولانی مدت آنتی بیوتیک مصرف می کنند. بیمارانی که پیوند دریافت کرده اند و بیماران هماتولوژی نیز در خطر بالای کلونیزاسیون با VRE هستند. کلونیزاسیون معمولاً در محیطی که درصد بالایی از بیماران با VRE کلونیزه هستند، مانند ICU و واحدهای انکولوژی رخ می دهد (۶). بنابراین اختلاف در آمارهای بدست آمده میتواند ناشی از روش های متفاوت تحقیق، گروه های سنی مختلف و بخش های مختلف تحقیق باشد در مطالعه ما ارتباطی بین مصرف قبلی آنتی بیوتیک با شیوع VRE مشاهده نشد. همچنین ارتباطی بین مدت مصرف آنتی بیوتیک و شیوع VRE یافت نشد. در مطالعه ای که توسط Tokar و همکاران در ۱۹۹۹ انجام شده است، تعداد کل روزهایی که بیماران در معرض مصرف آنتی

بیوتیک بوده اند با شیوع VRE ارتباط داشته است (۷). چندین مطالعه رابطه مصرف قبلی وانکومایسین، سفالوسپورینهای نسل سوم، کینولونها و لینکوزامید را با افزایش شیوع VRE تایید کرده اند (۲،۴). گرچه عدم وجود ارتباط بین شیوع VRE و مصرف قبلی آنتی بیوتیک مورد انتظار ما نبود، در مطالعه ای که Fisgin در سال ۲۰۰۶ انجام داده است نیز علی رغم اینکه ۷۹٪ بیماران مصرف قبلی آنتی بیوتیک داشتند موردی از VRE مشاهده نشده است (۸). در مطالعه ما ارتباطی بین سن بیماران با شیوع VRE به دست نیامد. در مطالعه ای که از سال ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۲ در مراکز هماتولوژی و انکولوژی آمریکای شمالی صورت گرفت، مقاومت در گروه سنی ۱۴ سال و کوچکتر وجود نداشت در حالی که در گروه بالغین ۱۸-۲۴٪ مقاومت به وانکومایسین وجود داشت که نشان دهنده افزایش مقاومت انتروکوک به وانکومایسین با افزایش سن است (۹). در حالی که در مطالعه سال ۱۳۸۳ در بیمارستان نمازی شیراز بر روی بیماران بستری بخش های مختلف بیمارستان، بیشترین میزان شیوع VRE در گروه سنی ۱-۱۶ سال و کمترین میزان در گروه سنی زیر یکسال بود (۳). در این مطالعه ارتباطی بین سن و جنس بیماران با شیوع VRE به دست نیامد که با مطالعه انجام شده در بیمارستان نمازی شیراز همخوانی داشت (۳). گرچه روش کلاسیک دیسک دیفیوژن آگار که در بررسی مقاومت انتروکوک در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت روشی ساده و مقرون به صرفه است ولی محدودیتهایی نیز دارد. تقسیم بندی مقاوم، اینترمدیت و حساس فقط یک میلی متر باهم تفاوت دارند که در محدوده خطای طبیعی آزمایشگاهی است. همچنین در مورد برخی کشت ها ممکن است هاله عدم رشدی مشاهده شود که از روزی به روز دیگر و از آزمایشگاهی به آزمایشگاه دیگر تغییر کند. البته چنین کشت هایی ندارند ولی وجود نتایج متفاوت در زمانهای مختلف سبب کاهش ارزش این روش می شود. از سوی دیگر برخی از آنتی بیوتیکهای مورد استفاده در حال حاضر در جدول هاله عدم رشد NCCLS آورده نشده اند. ارزیابی مقاومت آنتی بیوتیکی در این موارد باید با توجه به تشکیل یا عدم تشکیل منطقه عدم رشد صورت گیرد و فقط به عنوان نتیجه ای کیفی در نظر گرفته شود (۱۰). اما با در نظر گرفتن دسترسی آسان و به صرفه بودن روش دیسک دیفیوژن آگار می توان جهت بررسی مقاومت ارگانسیم ها به آنتی بیوتیک ها از این روش استفاده کرد. کاربرد صحیح و دقیق این روش برای بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی نقش بسیار مهمی دارد.

نتیجه گیری

در نهایت با توجه به شیوع روز افزون انتروکوک مقاوم به وانکومایسین، انجام مطالعات بیشتر برای بررسی مقاومت انتروکوک به آنتی بیوتیک هایی که در حال حاضر در درمان VRE به کار می روند، شامل Oxazolidione، Linezolid و Quinupristin/dalfopristin توصیه می گردد. همچنین پیشنهاد می گردد که کمیته های عفونت های بیمارستانی فعال تر عمل نموده و با کنترل عفونت های بیمارستانی از جمله انتروکوک که امروزه به یک مشکل قابل توجه تبدیل شده است و ارائه راهکارهای استفاده مناسب جهت استفاده از آنتی بیوتیک ها از انتقال آن پیشگیری شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کارکنان محترم بخش میکروبیولوژی مرکز تحقیقات بیماریها ی عفونی اطفال که صمیمانه با ما همکاری کردند، کارکنان بخش عفونی بیمارستان کودکان مفید که در جمع آوری نمونه ها ما را یاری کردند و از مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی اطفال به جهت پشتیبانی مالی و تامین منابع، قدردانی می شود.

REFERENCES

1. Haslam David B., Enterococcus. In: Behrman RM , Kliegman RM., Jenson HB. Nelson textbook of pediatrics, 18th ed, Saunders. 2007; PP: 1151-3
2. Kolar, M., and et al, The influence of antibiotic use on the occurrence of vancomycin-resistant enterococci. Journal of clinical pharmacy and therapeutics, 2006, 31, 67-68
3. عسکریان م، افخم زاده ع، منبیتی ا، بررسی شیوع کلونیزاسیون روده ای انتروکوک مقاوم به وانکومايسين در بیماران بستری بیمارستان نمازی شیراز در سال ۱۳۸۳. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، ۱۳۸۴ (۱۰) ۵۱-۵۸.
4. Hanberger, H., Enterococci . In: Gould, M., Van der Meer, M., Antibiotic policies theory and practice, Kluwer Academic/Plenum Publisher, U.S.A, 2005, p 270
5. Gambaratto, K., Marie-Cécile Ploy, Pascal Turlure, Carole Grélaud, Christian Martin, Dominique Bordessoule and et al , Prevalence of vancomycin resistant enterococci in fecal samples from hospitalized controls in a cattle rearing area of France. Journal of clinical microbiology , 2000, 38(2), 620-624
6. Zirakzadeh, A., Patel, R., Vancomycin-Resistant Enterococci: Colonization, Infection, Detection and Treatment. Mayo clinic college of medicine, 2006, 81(4), 529-536
7. White ,L., Relationships based on patient-specific data. In: Antibiotic policies theory and practice , Kluwer Academic/Plenum Publisher, U.S.A, 2005 , p 92
8. Fisgin, NT., and et al . (2006) Surveillance study of vancomycin-resistant enterococci in pediatric hematology and oncology patient, Turkey, Mikrobiyol Bul, 2006, 40(3), 245-50
9. Kirby, JT., and et al. Influence of patient age on the frequency of occurrence and antimicrobial resistance patterns of isolates from hematology/oncology patients: report from the chemotherapy Alliance for Neutropenics and the control of emerging resistance program (North America). Diag Microbiol Infect Dis, 2006, 5691, 75-82.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved standard M2-A8. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test, 8th ed, NCCLS, Wayne, Pa, 2003.