تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و حداقل غلظت مهاری وانکومایسین در استافیلوکوک‌های اورئوس و کواگولاز منفی جداشده از نمونه‌های بالینی کودکان در تبریز

شهرام عبدلی اسکویی [۱]، محمد آهنگرزاده رضایی [۲]*، علی آژنگ [۱]، بابک عبدی‌نیا [۱]

[۱] گروه بیماری‌های کودکان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران [۲] مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری و گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۱۱ ۳۳۶۴۶۶۱ فاکس: ۰۴۱۱ ۳۳۶۴۶۶۱ E-mail: rezaee@tbzmed.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: گونه‌های استافیلوکوک از جمله عوامل شایع عفونت‌های بیمارستانی و اکتسابی از جامعه می‌باشند. در دهه اخیر مقاومت این باکتری‌ها بویژه در محیط‌های بیمارستانی نسبت به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله وانکومایسین به سرعت در حال افزایش است. هدف از این مطالعه بررسی میزان مقاومت ایزوله‌های بالینی *استافیلوکوک اورئوس* و استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی جدا شده از کودکان مراجعه کننده به بیمارستان کودکان تبریز نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج و تعیین MIC وانکومایسین می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه توصیفی و آینده‌نگر، طی یکسال از فروردین لغایت اسفندماه ۱۳۹۰ تعداد ۸۸ ایزوله استافیلوکوک شامل ۵۳ گونه *استافیلوکوک اورئوس* و ۳۵ گونه استافیلوکوک کواگولاز منفی از نمونه‌های بالینی بیماران جداسازی و وارد مطالعه شدند. الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها نسبت به ۱۵ داروی ضدمیکروبی رایج با روش انتشار دیسک در آگار مطابق توصیه‌های CLSI و میزان MIC وانکومایسین با روش استاندارد E-test اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: بر اساس نتایج تست آنتی‌بیوگرام، وانکومایسین و ریفامپین جزو مؤثرترین و کلیندامایسین به همراه پنی‌سیلین جزو کم اثرترین داروهای ضدمیکروبی بر روی ایزوله‌های *استافیلوکوک اورئوس* و استافیلوکوک کواگولاز منفی بودند. بر همین اساس میزان شیوع سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین *استافیلوکوک اورئوس* بیش از ۸۰٪ تعیین شد. با توجه به میزان MIC وانکومایسین بترتیب ۱۳/۲٪ و ۳/۳٪ ایزوله‌های *استافیلوکوک اورئوس* و استافیلوکوک کواگولاز منفی دارای مقاومت حدواسط به وانکومایسین بودند اما هیچ ایزوله مقاوم به وانکومایسین در این تحقیق شناسایی نشد.

نتیجه‌گیری: هرچند سویه‌های دارای مقاومت کامل به وانکومایسین در بین ایزوله‌ها یافت نشد، اما شناسایی سویه‌های VISA در جامعه مورد مطالعه بهمراه گزارش‌های متعدد از ظهور سویه‌های مقاوم به وانکومایسین در ایران و سایر کشورها، ضرورت دقت پزشکان در تجویز وانکومایسین بعنوان داروی اصلی در درمان عفونت‌های استافیلوکوکی را روشن می‌سازد. همچنین لزوم استفاده از روش MIC در تعیین حساسیت استافیلوکوک‌ها به وانکومایسین بیش از پیش آشکار می‌گردد.

کلمات کلیدی: *استافیلوکوک اورئوس*؛ استافیلوکوک کواگولاز منفی؛ مقاومت آنتی‌بیوتیکی؛ حداقل غلظت مهارکننده؛ وانکومایسین

دریافت: ۹۱/۳/۱۸ **پذیرش:** ۹۱/۵/۱۶

www.SID.ir

مقدمه

کوکسی‌های گرم مثبت و بویژه استافیلوکوک‌ها هنوز هم از جمله عوامل اصلی عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان و جامعه محسوب می‌شوند. در این میان *استافیلوکوکوس اورئوس* بعنوان مهم‌ترین گونه بیماری زای جنس، یکی از شایع‌ترین پاتوژنهای عامل عفونت‌های چرک‌زا و خطرناک در انسان و استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی از اصلی‌ترین عوامل ایجادکننده سپتی‌سمی‌های بیمارستانی بشمار می‌روند [۱،۲]. علاوه بر این، ایجاد و گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان ایزوله‌های بالینی استافیلوکوک بویژه ظهور سویه‌های MRSA یا مقاوم به متی‌سیلین *استافیلوکوکوس اورئوس*[1] از جمله مشکلات روزافزون جامعه جهانی در کنترل و درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌هاست که موجب افزایش مرگ و میر و هزینه‌های بیماران می‌شود [۳].

در سال ۱۹۶۰ اولین *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین از انگلستان گزارش گردید [٤]. پس از آن شیوع MRSA در نقاط مختلف دنیا سریعاً افزایش یافت، به طوری که مؤسسه ملی پایش مقاومت‌های بیمارستانی آمریکا مقاومت به متی‌سیلین را در سال ۱۹۹۲ به میزان ۳۵/۹ درصد و در سال ۲۰۰۳ به میزان ٦٤/٤ درصد گزارش کرد. این امر سبب گردید که آنتی‌بیوتیک‌های گلیکوپپتیدی نظیر وانکومایسین به طور گسترده برای درمان عفونت‌های استافیلوکوکی مورد استفاده قرار گیرند [۵]. اما بدنبال مصرف این آنتی‌بیوتیک‌ها، اولین سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* با کاهش حساسیت به وانکومایسین یا VISA[2] در سال ۱۹۹۷ از ژاپن [۶] و متعاقب آن از کشورهای آمریکا، فرانسه و کره گزارش گردید [۹-۷]. بالاخره در سال ۲۰۰۲ اولین سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به وانکومایسین (VRSA) از آمریکا گزارش گردید [۱۱،۱۰]. با توجه به اهمیت سویه‌های استافیلوکوک دارای مقاومت حدواسط یا کامل نسبت به وانکومایسین، ضرورت شناسایی دقیق این باکتری‌ها در آزمایشگاه برای اتخاذ روش‌های مناسب جهت کنترل و درمان مؤثر آنها بیش از پیش روشن می‌گردد. اما با توجه به بزرگ بودن مولکول این آنتی‌بیوتیک، روش آنتی‌بیوگرام یا انتشار دیسک در آگار یک تست مورد اعتماد جهت شناسایی سویه‌های مقاوم به وانکومایسین نمی‌باشد، لذا آزمایشگاههایی که از روش انتشار دیسک در آگار برای ارزیابی این ایزوله‌ها استفاده می‌کنند باید یک تست تأییدی دیگر مانند تعیین MIC وانکومایسین بروش رقیق‌سازی در آگار یا روش E-test جهت شناسایی سویه‌های VRSA و VISA به آزمایش‌های خود اضافه کنند [۱۲].

با توجه به اینکه در سال‌های اخیر مواردی از جداسازی سویه‌های استافیلوکوکی با حساسیت کاهش یافته نسبت به وانکومایسین از نقاط مختلف ایران گزارش شده و از سوی دیگر این آنتی‌بیوتیک بعنوان داروی انتخابی در درمان عفونت‌های *استافیلوکوک اورئوس* و استافیلوکوک‌های کواگولاز مطرح است. لذا پایش مداوم وضعیت ایزوله‌های کشور از این نظر برای اتخاذ استراتژی های مناسب درمانی بویژه در عفونت‌های کودکان اهمیت بالایی خواهد داشت. لذا این مطالعه بمنظور تعیین الگوی حساسیت *استافیلوکوک‌های اورئوس* و کواگولاز منفی ایزوله شده از عفونت‌های کودکان نسبت به وانکومایسین و سایر آنتی‌بیوتیک‌های رایج و تعیین حداقل غلظت مهارکننده وانکومایسین بروش E-test در شهر تبریز طراحی و انجام شد. بدیهی است نتایج حاصل از این تحقیق می‌تواند در ارزیابی وضعیت مقاومت به وانکومایسین در منطقه شمالغرب و نیز برنامه‌ریزی‌های نظام سلامت کشور جهت کاربرد

[1] Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*
[2] Vancomycin-Intermediate *S. aureus*

Archive of SID

www.SID.ir

صحیح این آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت‌ها، نقش مهمی را ایفاءِ نماید.

روش کار

در این مطالعه توصیفی و آینده‌نگر که طی یکسال از فروردین لغایت اسفند ماه ۱۳۹۰ در مرکز آموزشی- درمانی کودکان تبریز انجام شد، تعداد ۹۶٤۰ نمونه بالینی ارسالی به آزمایشگاه میکروبیولوژی شامل خون (۷۰/٤٪) ، ترشحات زخم (۶/۹٪)، ادرار (۵/۷٪)، مایع مغزی-نخاعی (۲٪) و سایر نمونه ها (۱۵٪) ابتدا بر روی محیط شکلات آگار یا آگار خوندار کشت داده شده و پس از ۲٤ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد مطابق روش‌های استاندارد میکروب‌شناسی مورد بررسی قرار گرفتند. بطوریکه ایزوله‌های مشکوک به استافیلوکوک با استفاده از تست‌های رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، کلامپینگ فاکتور، کواگولاز، رشد در محیط مانیتول سالت آگار، DNase و تست نوبیوسین بعنوان استافیلوکوک اورئوس یا استافیلوکوک کواگولاز منفی تعیین هویت شدند [۱۳].

در ادامه، الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها با روش انتشار دیسک در آگار (disc diffusion) بر روی محیط مولر هینتون آگار مطابق استاندارد توصیه شده CLSI با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی پنی‌سیلین (۱۰ U)، اگزاسیلین (۱ µg)، جنتامیسین (۳۰ µg)، آمیکاسین (۳۰ µg)، وانکومایسین (۳۰ µg)، سیپروفلوکساسین (۵ µg)، اریترومایسین (۱۵ µg)، کلیندامایسین (۲ µg)، کوتریموکسازول (۲۵ µg)، سفالکسین (۳۰ µg)، سفتی‌زوکسیم (۳۰ µg)، سفتریاکسون (۳۰ µg)، سفوتاکسیم (۳۰ µg)، ریفامپین (۵ µg) و کلرامفنیکل (۳۰ µg) تهیه شده از شرکت پادتن طب ایران تعیین و مطابق جدول استاندارد CLSI تفسیر گردید [۱٤]. در این مرحله ایزوله‌هایی که حداقل به سه دارو از خانواده‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی مقاوم بودند به‌عنوان سویه‌های دارای مقاومت دارویی چندگانه یا Multi-drug resistant انتخاب می‌شدند. علاوه بر این، حداقل غلظت مهارکننده از رشد (MIC) آنتی‌بیوتیک وانکومایسین با استفاده از روش E-test تعیین گردید [۱۵]. برای این منظور از نوارهای E-test وانکومایسین خریداری شده از شرکت AB BioDisk سوئد استفاده گردید. جهت تعیین MIC ابتدا سوسپانسیونی از کشت تازه باکتری مورد نظر با کدورتی معادل لوله ۰/۵ مک‌فارلند تهیه و بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. پس از قرار دادن نوار حاوی گرادیان غلظت وانکومایسین بر روی محیط، آن را بمدت ۲٤ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری کرده و نهایتاً با بررسی پلیت‌ها عددی که در مقابل محل تلاقی هاله عدم رشد با نوار E-test قرار داشت، بعنوان مقدار کمّی MIC در نظر گرفته شد [۱۵].

بر اساس توصیه CLSI در صورتیکه مقدار عددی MIC برای ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* ۲ ≤ ، ۸-٤ و ۱۶ ≥ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌شد، باکتری بترتیب حساس، دارای مقاومت حدواسط و مقاوم به وانکومایسین در نظر گرفته می‌شد. این مقادیر برای استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی بترتیب ٤ ≤ ، ۱۶-۸ و ۳۲ ≥ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود [۱٤]. لازم به ذکر است در این مطالعه از باکتری *استافیلوکوک اورئوس* ATCC 25923 بعنوان سویه استاندارد جهت کنترل کیفی آزمایش‌ها استفاده شد.

در نهایت داده‌های حاصل از مطالعه با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (ویرایش ۱۶) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای این منظور از روش‌های آماری توصیفی (تعیین فراوانی، درصد و میانگین) استفاده شد. همچنین آزمون آماری کای دو برای مقایسه یافته‌های کیفی و تست t مستقل برای مقایسه یافته‌های کمّی مورد استفاده قرار گرفتند. در این مطالعه مقدار $p<$ ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

Archive of SID

www.SID.ir

یافته‌ها

در طی مدت مطالعه مجموعاً ۸۸ مورد کشت مثبت و غیرتکراری استافیلوکوک به دست آمد که از این میان ۴۵ مورد (۵۱/۱٪) مربوط به بیماران مؤنث و ۴۳ مورد (۴۸/۹٪) مربوط به بیماران مذکر بود. محدوده سنی بیماران بین یک روز تا ۱۵۲ ماه و میانگین سنی آنها ۳/۴۳ ± ۱۵/۵ ماه بود. از کل نمونه‌ها، ۸۰ مورد (۹۱٪) از بیماران بستری و ۸ مورد (۹٪) از بیماران سرپایی ایزوله شد. از مجموع ۸۸ استافیلوکوک جدا شده، ۶۲ مورد (۷۰/۴٪) از کشت خون، ۶ مورد (۶/۹٪) از کشت زخم، ۵ مورد (۵/۷٪) از کشت ادرار، ۱ مورد (۱/۱٪) از کشت مایع مغزی-نخاعی و ۱۴ مورد (۱۵/۹٪) از کشت سایر ترشحات بالینی بدست آمد.

در این مطالعه ۵۳ ایزوله (۶۰/۲٪) بعنوان *استافیلوکوکوس اورئوس* و ۳۵ ایزوله (۳۹/۸٪) بعنوان استافیلوکوک کواگولاز منفی (CoNS) شناسایی شدند. همانگونه که در جدول ۱ نشان داده شده است بر اساس نتایج تست تعیین حساسیت به روش انتشار دیسک در آگار، مؤثرترین آنتی‌بیوتیک‌های آزمایش شده بر روی ایزوله‌های *استافیلوکوک اورئوس* بترتیب شامل وانکومایسین، ریفامپین، کوتریموکسازول، کلرامفنیکل، سفالکسین، آمیکاسین، جنتامیسین، سیپروفلوکساسین، سفتی‌زوکسیم، اریترومایسین، سفتریاکسون، سفوتاکسیم، اگزاسیلین، کلیندامایسین و پنی‌سیلین بودند. همچنین با احتساب سویه‌های دارای مقاومت حدواسط، بیش از ۸۰٪ ایزوله‌های *استافیلوکوک اورئوس* بعنوان مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) شناسایی شدند. بر اساس نتایج آنتی‌بیوگرام (جدول ۱)، دو آنتی‌بیوتیک وانکومایسین و ریفامپین دارای بیشترین اثر بر روی استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی بودند. اما این ایزوله‌ها بالاترین مقاومت را نسبت به سفتریاکسون، کلیندامایسین، اگزاسیلین و پنی‌سیلین از خود نشان دادند. ضمناً ۱۰۰٪ ایزوله‌های CoNS مطالعه شده نسبت به اگزاسیلین مقاوم بودند.

جدول ۱. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوک‌های اورئوس و کواگولاز منفی ایزوله شده از نمونه‌های بالینی کودکان به روش انتشار دیسک در آگار (Disc Diffusion)

آنتی‌بیوتیک	تعداد (درصد) سویه مقاوم		تعداد (درصد) سویه با مقاومت حدواسط		تعداد (درصد) سویه حساس	
	CoNS	*S. aureus*	CoNS	*S. aureus*	CoNS	*S. aureus*
سفالکسین	۲۴ (۶۸/۵)	۲۱ (۳۹/۷)	۳ (۸/۶)	۱۱ (۲۰/۶)	۸ (۲۲/۹)	۲۱ (۳۹/۷)
سفتریاکسون	۳۳ (۹۴/۲)	۳۶ (۶۷/۹)	۲ (۵/۸)	۷ (۱۳/۲)	۰/۰	۱۰ (۱۸/۹)
سفوتاکسیم	۲۹ (۸۲/۹)	۳۳ (۶۲/۴)	۴ (۱۱/۳)	۱۱ (۲۰/۶)	۲ (۵/۸)	۹ (۱۷)
سفتی‌زوکسیم	۲۹ (۸۲/۹)	۳۴ (۶۴/۱)	۱ (۲/۹)	۲ (۳/۸)	۵ (۱۴/۲)	۱۷ (۳۲/۱)
وانکومایسین	۶ (۱۷/۱)	۱۳ (۲۴/۶)	۰/۰	۰/۰	۲۹ (۸۲/۹)	۴۰ (۷۵/۴)
اگزاسیلین	۳۵ (۱۰۰)	۴۲ (۷۹/۲)	۰/۰	۳ (۵/۸)	۰/۰	۸ (۱۵)
پنی‌سیلین	۳۵ (۱۰۰)	۵۲ (۹۸/۱)	۰/۰	۱ (۱/۹)	۰/۰	۰/۰
اریترومایسین	۳۲ (۹۱/۳)	۳۸ (۷۱/۷)	۱ (۲/۹)	۴ (۷/۷)	۲ (۵/۸)	۱۱ (۲۰/۶)
ریفامپین	۱۰ (۲۹/۶)	۱۶ (۳۰/۱)	۱ (۲/۹)	۳ (۵/۸)	۲۴ (۶۸/۵)	۳۴ (۶۴/۱)
کلیندامایسین	۳۵ (۱۰۰)	۵۱ (۹۶/۲)	۰/۰	۱ (۱/۹)	۰/۰	۱ (۱/۹)
کلرامفنیکل	۸ (۲۲/۹)	۱۵ (۲۸/۳)	۹ (۲۵/۷)	۱۳ (۲۴/۶)	۱۸ (۵۱/۴)	۲۵ (۴۷/۱)
کوتریموکسازول	۲۶ (۷۴/۲)	۲۰ (۳۷/۶)	۰/۰	۳ (۵/۸)	۹ (۲۵/۸)	۳۰ (۵۶/۶)
سیپروفلوکساسین	۱۸ (۵۱/۴)	۲۷ (۵۱)	۳ (۸/۶)	۸ (۱۵)	۱۴ (۴۰)	۱۸ (۳۴)
آمیکاسین	۱۹ (۵۴/۲)	۲۷ (۵۱)	۳ (۸/۶)	۶ (۱۱/۴)	۱۳ (۳۷/۲)	۲۰ (۳۷/۶)
جنتامیسین	۲۶ (۷۴/۲)	۳۰ (۵۶/۶)	۰/۰	۴ (۷/۷)	۹ (۲۵/۸)	۱۹ (۳۵/۷)

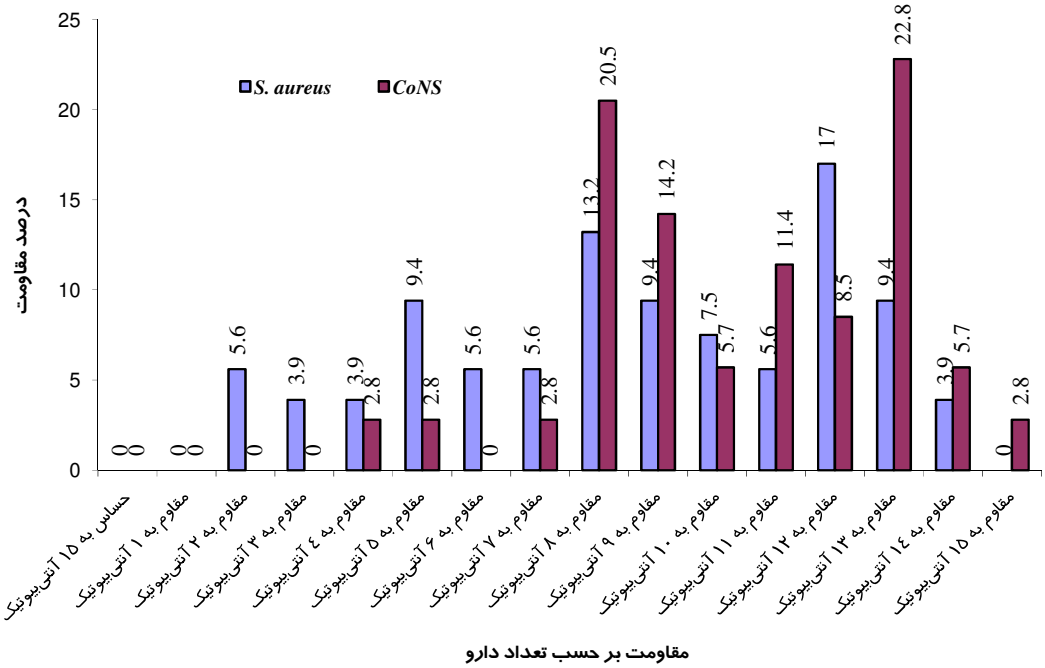
Archive of SID

www.SID.ir

بر اساس نتایج آزمایش تعیین حداقل غلظت مهارکننده از رشد (MIC) وانکومایسین، هیچکدام از ایزوله‌های *استافیلوکوک اورئوس* و استافیلوکوک کواگولاز منفی بعنوان مقاوم شناخته نشدند. با اینحال ۷ ایزوله (۱۳/۲٪) *استافیلوکوک اورئوس* دارای MIC= ٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده و بعنوان سویه VISA تشخیص داده شد. همچنین یک ایزوله‌ی (۳/۳٪) استافیلوکوک کواگولاز منفی با داشتن MIC= ۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای مقاومت حد واسط نسبت به وانکومایسین بود. همانگونه که در جدول شماره ۲ نشان داده شده حداقل و حداکثر میزان MIC وانکومایسین برای ایزوله‌های *استافیلوکوک اورئوس* بین ٤-۰/۵ µg/ml و در مورد استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی بین ۶-۰/۷۵ µg/ml بود.

جدول ۲. حداقل غلظت‌های مهاری وانکومایسین در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی

میزان MIC (µg/ml)	تعداد (درصد) ایزوله‌های *S. aureus*	تعداد (درصد) ایزوله‌های CoNS
۰/۳۸	-	-
۰/۵	۲ (۳/۷)	-
۰/۷۵	۳ (۵/۷)	۳ (۸/۵)
۱	۳ (۵/۷)	۵ (۱٤/۲)
۱/۵	۱۲ (۲۲/۷)	۷ (۲۰)
۲	۹ (۱۷)	۱۲ (۳٤/۲)
۳	۱۷ (۳۲)	٤ (۱۱/۳)
٤	۷ (۱۳/۲)	۳ (۸/۵)
۶	-	۱ (۳/۳)
۶ <	-	-
کل	۵۳ (۱۰۰)	۳۵ (۱۰۰)



نمودار ۱. فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های *استافیلوکوک اورئوس* و استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی بر حسب تعداد آنتی‌بیوتیک مطالعه شده

Archive of SID

www.SID.ir

ضمناً ٤٥ (٨٤/٩٪) مورد از ایزوله‌های *استافیلوکوک اورئوس* و ۳۱ (۸۸/۵٪) مورد از ایزوله‌های استافیلوکوک کواگولاز منفی بررسی شده در این تحقیق دارای مقاومت دارویی چندگانه بوده و بعنوان سویه MDR شناخته شدند. فراوانی مقاومت ایزوله‌های مطالعه شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در نمودار ۱ نشان داده شده است.

بحث

ایجاد و گسترش مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در سویه‌های استافیلوکوکوس مشکلات فراوانی در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها ایجاد کرده است. بدیهی است یکی از نیازهای اساسی برای درمان مناسب و کنترل عفونت‌های بیمارستانی این سویه‌ها، دانستن الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها می‌باشد. از این رو هدف اصلی تحقیق حاضر، تعیین میزان مقاومت *استافیلوکوک‌های اورئوس* و کواگولاز منفی ایزوله شده از نمونه‌های بالینی به آنتی‌بیوتیک‌های رایج در بیمارستان کودکان تبریز به منظور ارایه راهکاری جهت درمان مؤثر بیماری‌های استافیلوکوکی و جلوگیری از گسترش سویه‌های مقاوم در جامعه می‌باشد.

بر اساس نتایج این پژوهش آنتی‌بیوتیک‌های وانکومایسین و ریفامپین بالاترین اثر ضدمیکروبی را در شرایط آزمایشگاهی بر روی سویه‌های *استافیلوکوک اورئوس* و کواگولاز منفی از خود نشان دادند. این امر در مورد ایزوله‌های *استافیلوکوک اورئوس* با نتایج سایر مطالعات قبلی نیز مطابقت دارد. برای مثال، در مطالعه علیقلی (۱۳۸۵) و احمدی‌شعار (۱۳۸۷) که بر روی نمونه‌های *استافیلوکوک اورئوس* انجام شده بود بیشترین میزان حساسیت ایزوله‌ها نسبت به وانکومایسین و ریفامپین گزارش شده است [۱۷، ۱۶]. علاوه بر این متأسفانه همانند برخی مطالعات گذشته [۱۶، ۱۲] سویه‌های استافیلوکوک بررسی شده در این تحقیق مقاومت بالایی در برابر پنی‌سیلین و داروهای آمینوگلیکوزیدی و سیپروفلوکساسین نشان دادند. برای مثال، بترتیب ۹۸/۱ و ۱۰۰ درصد *استافیلوکوک‌های اورئوس* و کواگولاز منفی ایزوله شده در این تحقیق نسبت به پنی‌سیلین مقاوم بودند. همچنین بترتیب ۵۷ و ۷۵ درصد ایزوله‌های *استافیلوکوک اورئوس* و کواگولاز منفی نسبت به جنتامیسین مقاومت داشتند. در سال‌های اخیر یکی از عمده‌ترین مشکلات درمان عفونت‌های *استافیلوکوک اورئوس* گسترش سویه‌های MRSA می‌باشد. در این پژوهش میزان این سویه‌ها حدود ۸۰ درصد تعیین شد. علاوه بر این، ۱۰۰ درصد ایزوله‌های CoNS مطالعه شده نسبت به اگزاسیلین (متی‌سیلین) مقاوم بودند. البته در نقاط مختلف جهان گزارش‌های متفاوتی از میزان شیوع MRSA منتشر شده است. برای مثال اوگوری[1] و همکاران در سال ۲۰۰۰ میزان شیوع MRSA را در ژاپن ۶۱/۹ درصد گزارش نمودند [۱۸]. علاوه بر این، بر اساس مطالعه لی[2] و همکاران در سال ۲۰۰۷ شیوع سویه‌های MRSA در چین ۸۲/۵ درصد [۱۹] و بر اساس تحقیق دیگری در آرژانتین میزان شیوع این سویه‌ها ۵۲ درصد گزارش شده است [۲۰]. در مطالعات مختلفی که در ایران صورت گرفته است میزان شیوع سویه‌های MRSA از حدود ٤۲ تا ۶۲ درصد گزارش شده است [۲۱،۱۷،۱۶]. در این باره، هرچند نتایج ما با برخی

[1] Oguri
[2] Li

Archive of SID

www.SID.ir

مطالعات قبلی [۱۸] همخوانی دارد اما بالا بودن میزان MRSA در تحقیق حاضر احتمالاً بدلیل عدم استفاده از روش PCR در شناسایی سویه‌های مذکور باشد، چرا که روش استاندارد در شناسایی سویه‌های MRSA روش مولکولی مبتنی بر جستجوی ژن *mecA* با استفاده از PCR می‌باشد [۱۶]. در این پژوهش همانند مطالعات دیگر ارتباط معنی‌داری ($p< ۰/۰۵$) بین سویه‌های MRSA و سپتی‌سمی استافیلوکوکی مشاهده شد [۲۲]. این مسأله شاید بدلیل مقاومت بیشتر سویه‌های MRSA در مقایسه با سایر سویه‌ها و در نتیجه پتانسیل بالاتر برای ورود به خون و ایجاد سپتی‌سمی مربوط باشد.

بر اساس نتایج تعیین MIC، هیچکدام از ایزوله‌های *استافیلوکوک اورئوس* و CoNS مطالعه شده در این پژوهش نسبت به وانکومایسین مقاوم نبودند. البته ۱۳ (۲٤/۶ درصد) ایزوله *استافیلوکوک اورئوس* در تست آنتی‌بیوگرام (انتشار دیسک در آگار) بعنوان سویه VRSA شناسایی شدند اما هیچکدام از این ایزوله‌ها با روش تعیین MIC بعنوان سویه VRSA تأیید نشدند. در عوض ۷ (۱۳/۲ درصد) ایزوله با روش تعیین MIC بعنوان سویه دارای مقاومت حدواسط (VISA) تعیین شدند. نکته قابل توجه آن است که در روش آنتی‌بیوگرام، از ۷ ایزوله مذکور، ٤ (۵۷/۱ درصد) ایزوله بعنوان سویه‌ی حساس و ۳ (٤۲/۹ درصد) ایزوله بعنوان سویه‌ی مقاوم به وانکومایسین تعیین شده بودند. همچنین علیرغم اینکه بر اساس نتایج تست آنتی‌بیوگرام ۶ (۱۷/۱ درصد) ایزوله‌ی CoNS مقاوم به وانکومایسین شناخته شده بودند اما هیچکدام از این ایزوله‌ها در تست تعیین MIC بعنوان سویه‌ی مقاوم به وانکومایسین تأیید نشدند. حتی یک ایزوله‌ی (۲/۸ درصد) CoNS که با داشتن MIC= ۶ µg/ml بعنوان سویه‌ی دارای مقاومت حدواسط به وانکومایسین تشخیص داده شد، در تست آنتی‌بیوگرام با ایجاد هاله عدم رشد معادل ۱۷ میلی‌متر بعنوان سویه حساس شناخته شده بود. بنابراین، همانگونه که در توصیه‌های CLSI و یک مطالعه قبلی تأکید شده است نتایج تحقیق حاضر نیز مؤید آن است که روش آنتی‌بیوگرام (انتشار دیسک در آگار) برای شناسایی مقاومت به وانکومایسین بویژه تشخیص سویه‌های VISA روش مطمئن و قابل اعتمادی نمی‌باشد [۱۷،۱٤] و لازم است در کنار انجام آنتی‌بیوگرام، با یک شیوه استاندارد میزان MIC وانکومایسین نیز سنجیده شود.

هر چند نتایج مطالعه حاضر از نظر عدم شناسایی استافیلوکوک‌های مقاوم به وانکومایسین با بسیاری از مطالعات قبلی سازگار است [۱۷،۲۱،۲۲] اما برخلاف نتایج چند پژوهش قبلی، شیوع نسبتاً قابل توجه (۱۳/۲ درصد) استافیلوکوک‌های دارای مقاومت حدواسط به وانکومایسین و افزایش مقادیر MIC این آنتی‌بیوتیک در تحقیق حاضر، نشان دهنده‌ی انتشار نگران‌کننده این سویه‌ها در جامعه مورد مطالعه است. همانگونه که قبلاً در بخش نتایج اشاره شده است در این تحقیق دامنه MIC وانکومایسین برای ایزوله‌های *استافیلوکوک اورئوس* بین µg/ml ٤-۰/۵ و در مورد استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی بین µg/ml ۶-۰/۷۵ اندازه‌گیری شد. این در حالی است که در مطالعه Leonard و همکاران که در سال ۲۰۰۷ در آمریکا انجام شد نه تنها هیچ سویه VISA شناسایی نشد بلکه دامنه‌ی MIC وانکومایسین حدود µg/ml ۲-۰/۲۵ گزارش گردید [۲۳]. علاوه بر این، در مطالعه احمدی‌شعار و همکاران نیز که در سال ۱۳۸۷ در تبریز انجام شده بود فقط ۲ درصد

Archive of SID

www.SID.ir

استافیلوکوک‌های بررسی شده دارای مقاومت حدواسط نسبت به وانکومایسین بوده و دامنه‌ی MIC وانکومایسین µg/ml ۳-۱/۵ گزارش شده بود [۱۷]. البته برخلاف نتایج تحقیق حاضر، برخی مطالعات قبلی وجود سویه‌های مقاوم به وانکومایسین را در بین ایزوله‌های استافیلوکوک گزارش نموده‌اند. برای مثال، در مطالعه‌ای که توسط تیواری[1] و همکاران در سال ۲۰۰۶ در هند انجام شد، از ۷۸۳ نمونه *استافیلوکوک اورئوس*، ۶ مورد سویه VISA و ۲ مورد سویه VRSA گزارش گردید [۲٤]. همچنین در مطالعه نادری‌نسب و همکاران در سال ۲۰۰٤ اولین بار جداسازی *استافیلوکوک اورئوس* مقاوم به وانکومایسین با MIC ۱۲/۵ µg/ml از ایران گزارش شد [۲۵] که نتایج فوق با مطالعه حاضر متفاوت می‌باشند.

در این تحقیق شیوع مقاومت دارویی چندگانه (MDR) در بین ایزوله‌های *استافیلوکوک اورئوس* و استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی بترتیب ۸٤/۹ و ۸۸/۵ درصد تعیین شد که نشان دهنده افزایش هشدار دهنده مقاومت این باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در جامعه مورد مطالعه است. چرا که در دو مطالعه قبلی از ایران میزان شیوع سویه‌های استافیلوکوک MDR بترتیب ۳۹/۶ [۲۶] و ۷۵/۳ درصد [۱۲] گزارش شده بود.

به هر حال نکته‌ای که باید از آن بعنوان یکی از محدودیت های پژوهش حاضر یاد کرد، عدم امکان استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی با استاندارد بالا و جهانی در آزمایش آنتی‌بیوگرام بود. امری که به احتمال قوی می‌توان بالا بودن میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های مورد بررسی و اختلاف نتایج آنتی‌بیوگرام و MIC را تاحدی به آن نسبت داد.

نتیجه‌گیری

با توجه به شیوع بالای ایزوله‌های MRSA و مقاومت قابل توجه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی از جمله اگزاسیلین، بنظر می‌رسد استفاده از این داروها نمی‌تواند جایگاهی در درمان تجربی عفونت‌های استافیلوکوکی داشته باشد. علاوه بر این، هرچند سویه‌های دارای مقاومت کامل به وانکومایسین در بین ایزوله‌های بررسی شده یافت نشد، اما شناسایی حدود ۱٤ درصدی سویه‌های VISA در جامعه مورد مطالعه از یک سو و محدود بودن تعداد سویه‌های مورد مطالعه از سوی دیگر در کنار گزارش‌های متعدد از شناسایی سویه‌های VRSA در ایران و سایر کشورها می‌تواند بعنوان زنگ‌خطری در جهت گسترش مقاومت نسبت به این داروی کلیدی در درمان عفونت‌های استافیلوکوکی تلقی شود. همچنین ضرورت بازنگری در روش‌های مرسوم تعیین حساسیت ایزوله‌ها نسبت به وانکومایسین و لزوم استفاده از روش‌های مبتنی بر تعیین MIC بیش از پیش روشن می‌شود.

تشکر و قدردانی

از مساعدت کارکنان و پرستاران محترم شاغل در بخش‌های مختلف مرکز آموزشی درمانی کودکان بویژه سرکار خانم رسولی و آقای افغان کارشناسان آزمایشگاه میکروب‌شناسی که در جمع‌آوری نمونه‌ها و ایزوله‌ها با ما همکاری نمودند و جناب آقای دکتر اکبر حسنی که در تهیه کیت‌های E-test ما را یاری نمودند، صمیمانه سپاسگزاری و قدردانی می‌گردد.

[1] Tiwari

Archive of SID

www.SID.ir

لازم به یادآوری است، مقاله حاضر حاصل بخشی از نتایج پایاننامه دکتر علی آژنگ دستیار تخصصی کودکان دانشگاه علوم پزشکی تبریز می‌باشد.

References

1- Aligholi M, Emaneini M, Jabalameli F, Shahsavan S, Abdolmaleki Z, Sedaghat H, et al. Antibiotic susceptibility pattern of Gram-positive cocci cultured from patients in three university hospitals in Tehran, Iran during 2001-2005, Acta Medica Iranica. 2009 Nov; 47(4): 329-334.

2- Merlino J, Watson J, Rose B, Beard-Pegler M, Gottlieb T, Bradbury R, et al. Detection and expression of methicillin/oxacillin resistance in multidrug-resistant and non-multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in central Sydney, Australia. J Antimicrob Chemother. 2002 May; 49(5): 793-801.

3- Rice LB. Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria. Am J Infect Control. 2006 June; 34(5 Suppl 1): S11-9.

4- Barber M. Methicillin-resistant Staphylococci. J Clin Pathol. 1961; 14: 385-93.

5- National Nosocomial infection surveillance system. National Nosocomial infection surveillance system report, data summary from January 1992 through June 2004. Am J Infect Control. 2004; 32: 470-85.

6- Hirmatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J Antimicrob Chemother. 1997; 40(7): 135-6.

7- Centers for Disease control and prevention. *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin. United States. Morb Mortal Wkly Rep. 1997; 46: 765-6.

8- Poly CM, Grelaud C, Martin C, Lumley L, Denis F. First clinical isolate of vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* in a French hospital. Lancet. 1998; 351(9110): 1212.

9- Kim MN, Pai CH, Woo JH, Ryu JS, Hirmastu K. Vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* in Korea. J Clin Microbial. 2000; 38(10): 3879- 81.

10- Center for Disease control and prevention. *Staphylococcus aureus* resistance to vancomycin in United States. Morb Mortal Wkly Rep. 2002; 51: 565-7.

11- Center for Disease control and prevention. Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus, Pensylvania. *Morb* Mortal Wkly Rep. 2002; 51: 902.

12- Saffari M, Jokar M, Shajary GR, Piroozmand A, Mousavi GA. Minimum inhibitory concentration of vancomycin in *Staphylococcus aureus* isolates collected from clinical samples of Shahid Beheshti hospital, Kashan during 2009. Feyz J Kashan Uni Med Sci. 2010; 14(3): 234-241. (Full text in Persian)

13- Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology, 3rd edn. St. Louis: W.B. Saunders Elsevier, 2007.

14- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twentieth informational supplement, CLSI document M100-S20. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, USA, 2010.

15- Brown DFJ. Evaluation of the E-test, a novel metod of quantifying antimicrobial activity. J Antimicrob Chemother. 1991; 27: 185-190.

16- Aligholi M, Emaneini M, Hashemi FB, Shahsavan S, Jebelameli F, Kazemi B. Determination of antimicrobial resistance pattern of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens. Tehran Uni Med J. 2006; 64(9): 26-32. (Full text in Persian)

17- Ahmadishoar SH, Nahaei MR, Amirmozafari N. Sensitivity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens against vancomycin using E-test in Tabriz. J Tabriz Uni Med Sci. 2008; 30(2): 17-23. (Full text in Persian)

18- Oguri T, Igari J, Hirmatsu K, Watanabe A, Inoue M, Abe M, et al. Beta-lactamase-producing activity and antimicrobial susceptibility of major pathogenic bacteria isolated from clinical samples. Japan beta-lactamase Reserch Group. Jpn J Antibiot. 2002; 55 Suppl A: 1-28.

19- Li M, Zhang GA, Liu Y. Analysis of predominant bacteria of burn infection and their resistance to antibiotics in recent years. Zhonghua Shao Shang Za Zhi. 2007; 23(2): 91-3.

Archive of SID

www.SID.ir

20- Sola C, Gribaudo G, Vindel A, Patrito L, Bacco JL. Identification of a novel methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* apidemic clone in Cordoba, Argentina, involved in nosocomial infections. J Clin Microbiol. 2002; 40(4): 1427-35.
21- Maleki Z, Anjarani S. Comparision of disk diffusion and E-test methods for oxacillin and vancomycin. Azad Uni Med J. 2007; 16(4): 211-215. (Full text in Persian)
22- Hadadi A, Moradi-Tabriz H, Aghabagher BM, Moslehi B, Esmaielzadeh P. Determining the prevalence of methicillin- and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* by MIC and E-Test. Teh Uni Med J. 2011; 69(6): 344-351. (Full text in Persian)
23- Leonard SN, Cheung CM, Rabak MJ. Activities of ceftobiprole, linzolid, vancomycin and daptomycin against community-associated and hospital-associated methicillin-resistant *Staphylococcus areus*. Antimicrob Agents Chemother. 2008; 52(8): 2974-76.
24- Tiwari HK, Sen MR. Emergence of vancomycin resistance *Staphylococcus aureus* from a tertiary care hospital from northern part of India. BMC Infect Dis. 2006 Oct; 6: 156.
25- Naderi nasab M, Fateh Manesh P, Shahnevazi B. *Staphylococcus aureus* resistant against vancomycin. Rahavard Danesh, J Arak Univ Sci. 2004; 6(25): 51-5. (Full text in Persian)
26- Qurbanalizadgan M, Ranjbar R, Esmaili D. Prevalence of multidrog resistant *Staphylococcus aureus* in patients admitted to baqiyatallah hospital (2005). J Qazvin Uni of Med Sci. 2007; 11(4): 92-3. (Full text in Persian)

Archive of SID

www.SID.ir