

بررسی میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی آسینتوباکتر بومانی جدا شده از بیماران بستری شده در بیمارستان‌های قائم (عج) و امام رضا (ع) مشهد نسبت به کلیستین و ایمپنم به روش E-test

هادی صفدری^{۱*}، ابوالفضل مقرونی^۲، دکتر هادی فارسیانی^۳

۱. مربی گروه باکتری‌شناسی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۲. کارشناس علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۳. استادیار گروه باکتری‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۰۸

خلاصه

مقدمه: آسینتوباکتر بومانی، یکی از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی است. افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، نگرانی‌ها را درباره درمان این عفونت‌ها افزایش داده است. مطالعه حاضر با هدف تعیین حساسیت آسینتوباکتر بومانی نسبت به کلیستین و ایمپنم با استفاده از حداقل غلظت مهاری (MIC) انجام شد.

روش کار: در این مطالعه ۲۷۴۵ نمونه (۲۷۴۵ پلیت) از بیماران بخش‌های مختلف بیمارستان‌های قائم (عج) و امام رضا (ع) شهر مشهد در فاصله مهر ۱۳۹۵ تا مهر ۱۳۹۶ جمع‌آوری گردید. در صورتی که نمونه زخم بود، با استفاده از سواپ استریل پس از ضد عفونی کردن سطح زخم، از قسمت عمقی نمونه‌برداری انجام گرفت. در مورد ادرار، وسط ادرار در یک ظرف استریل جمع‌آوری شد و نمونه برنش توسط پزشک توسط سرنگ نمونه گرفته شد. ۱۰۰ آسینتوباکتر بومانی از نمونه‌ها با تست‌های بیوشیمیایی همچون محیط کلیگر، اوره، سیترات، تست اندول و لیزین شناسایی گردید. بررسی حساسیت به آنتی‌بیوتیک با دیسک دیفیوژن انجام گرفت و توسط MIC (نوارهای E-test) ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج دیسک دیفیوژن مقاومت کامل نمونه‌های جدا شده به ایمپنم را نشان داد که به وسیله نوارهای E-test این نتیجه تأیید گردید. تمامی نمونه‌ها به کلیستین حساس بودند. کمترین میزان MIC به دست آمده ۰/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بیشترین میزان MIC، ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که بر اساس استاندارد CLSI، این نمونه‌ها حساس در نظر گرفته شدند.

نتیجه‌گیری: مقاومت بالای آسینتوباکتر بومانی به ایمپنم، نشان‌دهنده تغییر الگوی مقاومت این باکتری و ناکارآمدی آنتی‌بیوتیک مذکور برای درمان است، اما کلیستین همچنان مؤثر می‌باشد. برای جلوگیری از گسترش گونه‌های مقاوم به کلیستین، باید از این دارو حدالمقدور کمتر استفاده شود تا مقاومت نسبت به این دارو در آینده ایجاد نگردد.

کلمات کلیدی: آسینتوباکتر بومانی، ایمپنم، کلیستین، MIC، E-test

* نویسنده مسئول مکاتبات: هادی صفدری؛ دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. تلفن: ۰۵۱-۳۸۸۴۶۷۱۱؛ پست الکترونیک:

SafdariH@mums.ac.ir

مقدمه

آسینتوباکتر بومانی پاتوژنی فرصت‌طلب متعلق به کلاس گاماپروتئوباکتر می‌باشد؛ این گونه در خاک و محیط‌های بیمارستانی فراوان است. آسینتوباکتر بومانی یک کوکوباسیل هوازی و گرم منفی است. این باکتری غیرمتحرک، غیرتخمیری و اکسیداز منفی است و بیشتر به صورت دوتایی یافت می‌شود (۱، ۲). این باکتری جزء فلور نرمال پوست نیز می‌باشد. به نظر می‌رسد که ۲۵٪ افراد سالم ناقل آسینتوباکتر بومانی می‌باشند (۳، ۴).

آسینتوباکتر بومانی یکی از عوامل عفونت‌های بیمارستانی به همراه پseudomonas آئروژینوزا^۱، استافیلوکوکوس اورئوس^۲، انتروکوکوس فکالیس^۳ و اشریشیا کلی^۴ می‌باشد. آسینتوباکتر بومانی می‌تواند باعث عفونت‌های بیمارستانی شدید از جمله پنومونی مرتبط ونتیلیاتور (VAP)^۵ سپتی سمی، مننژیت ثانویه، عفونت‌های پوست و بافت‌های نرم و عفونت مجاری ادراری به‌خصوص در بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) شود (۱۱-۸). عوارض ناشی ونتیلیاتور و سپتی سمی در میان مهم‌ترین عفونت‌های ذکر شده با بیشترین میزان مرگ‌ومیر هستند (۱۲).

آسینتوباکتر بومانی در محیط پراکنده است و می‌تواند در شرایط سخت زنده باقی بماند و به طیف وسیعی از آنتی بیوتیک‌ها مقاومت نشان می‌دهد (۵). آسینتوباکتر بومانی توسط مؤسسه ملی آلرژی و بیماری‌های عفونی (NIAID)^۶ به‌عنوان یکی از شش میکروارگانیسم مقاوم به چند دارو (MDR)^۷ در بیمارستان‌ها شناخته می‌شود (۶). آسینتوباکتر بومانی می‌تواند سبب عفونت‌های اکتسابی شود. این باکتری باعث عفونت‌های متوسط تا شدید می‌شود که شدت این عفونت با توجه به بافت درگیر، مقاومت بدن بیمار و بیماری‌های زمینه‌ای بیمار متفاوت است (۷). افراد با سیستم ایمنی سرکوب شده، نوتروپنی، سیستم ایمنی سرکوب شده و یا سیستم ایمنی معیوب، در خطر بیشتری برای ابتلاء به

عفونت‌های مذکور هستند. با این وجود، افراد با بیماری‌های زمینه‌ای یا بستری شده در بیمارستان به‌علت ورود راحت‌تر باکتری به‌وسیله زخم، کاتتر و یا ونتیلیاتور مستعدتر به ایجاد عفونت هستند (۳، ۴).

مقاومت‌های آنتی‌باکتریال در نتیجه استفاده نابجا یا استفاده بیش از حد آنتی‌بیوتیک‌ها ایجاد می‌شود. مقاومت آسینتوباکتر بومانی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها از سال ۱۹۷۰ به‌صورت فزاینده‌ای افزایش یافته است (۱۳). تا پیش از سال ۲۰۰۷، بیشتر گونه‌های آسینتوباکتر نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها حساس بودند. در سال ۲۰۰۷ بیشتر از ۷۰٪ آسینتوباکترهای جدا شده (از منابع مختلف) به چندین دارو مقاومت نشان دادند؛ از جمله کاربامپنم‌ها که داروهای مؤثری در درمان عفونت‌های حاصل از آسینتوباکتر بودند (۱۴). چندین مکانیسم برای توضیح مقاومت آسینتوباکتر بومانی نسبت به کاربامپنم‌ها ارائه شده است که می‌توان به تولید کاربامپناز شبه اکساسیلیناز^۵، کاهش نفوذپذیری غشای خارجی توسط کاهش یا حذف بیان پورین‌های 29 KDa و 33 KDa و تغییرات در پروتئین متصل شونده به پنی‌سیلین اشاره کرد (۱۷-۱۵).

به‌نظر می‌رسد که کلیستین، مؤثرترین آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت‌های حاصل از آسینتوباکتر بومانی باشد، اما استفاده از کلیستین عوارض متعددی دارد (۱۸). با این وجود، گونه‌های مقاوم به کلیستین از سراسر دنیا گزارش شده‌اند. مقاوم‌ترین گونه‌ها در آسیا و اروپا پیدا شده‌اند. پیشنهاد شده است که به‌منظور جلوگیری از ایجاد گونه‌های مقاوم جدید از مونوتراپی با کلیستین خودداری شود و کلیستین همزمان با دیگر داروهایی که نتایج بهتری در درمان نشان می‌دهند، استفاده شود (۱۹).

مقاومت به کلیستین می‌تواند توسط جهش در یکی از سه ژنی که دخیل در سنتز لیپید A (lpx A)، lpx C، lpx D، یا جابه‌جایی در توالی داخلی 1sAba11 هستند، رخ دهد. این جهش‌ها می‌توانند ژن‌های دخیل در سنتز لیپید A را غیر فعال کنند و منجر به ساخت

⁶ National Institute of Allergy and Infectious Diseases

⁷ OXA enzyme

⁸ Multi-drug-resistant

¹Pseudomonas aeruginosa

²Staphylococcus aureus

³Enterococcus faecalis

⁴Escherichia coli

⁵ ventilator

ناقص لیپو پلی ساکاریدهای باکتریایی شوند. مکانیسم مذکور در نهایت به مقاومت به کلیستین ختم می شود (۲۰، ۲۱).

به منظور تعیین اپیدمیولوژی مقاومت دارویی آسینتوباکتر بومانی، به چندین مطالعه در مناطق مختلف دنیا نیاز است. مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان مقاومت آسینتوباکتر بومانی های جدا شده از نمونه های بالینی در شهر مشهد (شمال شرق ایران) نسبت به کلیستین و ایمپینم به وسیله MIC انجام شد.

روش کار

در این مطالعه ۲۷۴۵ نمونه (۲۷۴۵ پلیت) از بیمارستان های قائم (عج) و امام رضا (ع) شهر مشهد در فاصله مهر ۱۳۹۵ تا مهر ۱۳۹۶ جمع آوری گردید. نمونه های ادرار، زخم و مایعات بدن بیماران بستری از بخش های مختلف داخلی، سوختگی، اعصاب، جراحی و اورژانس به صورت استریل جمع آوری شد و سپس نمونه ها در محیط انوژین متیلن بلو (EMB) به صورت ایزوله در سطح محیط کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. در نهایت جهت تشخیص آسینتوباکتر بومانی از رنگ آمیزی گرم و تست های تشخیصی بیوشیمیایی استفاده شد. ویژگی های آسینتوباکتر بومانی به شرح زیر می باشد.

۱- کوکوباسیل گرم منفی ۲- غیر تخمیری ۳- سیترات منفی ۴- اندول منفی ۵- الکان/ الکان در محیط کلیگلایرون آگار ۶- غیرمتحرک ۷- H_2S منفی ۸- اوره آز منفی ۹- کاتالاز مثبت ۱۰- اکسیداز منفی ۱۱- فلوئورسنت منفی ۱۲- زیلوز مثبت ۱۳- نیترات منفی در این مطالعه تعداد ۱۰۰ آسینتوباکتر بومانی جدا گردید (۳/۶۴٪). باکتری های تأیید شده توسط تست های فوق تا زمان انجام بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

از ۱۰۰ آسینتوباکتر جدا شده از نمونه بیماران در بخش های مختلف به ترتیب ۶۰ نمونه (۶۰٪) از ترشحات برونش، ۲۵ نمونه (۲۵٪) از زخم بیماران بستری شده در بخش ICU، ۱۰ نمونه (۱۰٪) از ترشحات زخم بیماران در بخش سوختگی و در نهایت ۵ نمونه (۵٪) از ادرار

بیماران بستری شده در بخش داخلی جدا گردید و نسبت به آنها تست حساسیت آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن^۱ ارزیابی گردید. همچنین MIC به وسیله نوارهای E-test (Italy Liofilchem) طبق دستورالعمل شرکت سازنده تعیین شد. به منظور انجام تست حساسیت آنتی بیوتیکی، غلظت نیم مک فارلند نمونه ها تهیه شد. گونه ها بر روی محیط مولر- هینتون (Merck, Germany) آگار به وسیله سواب استریل طبق توصیه های شرکت سازنده کشت داده شدند. در مرحله بعد دیسک دیفیوژن و نوارهای E-test ایمپینم به طور مناسبی بر روی آگار قرار داده شدند. فرآیند مشابهی برای دیسک دیفیوژن و نوارهای E-test مربوط به کلیستین صورت گرفت. سپس پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند و متعاقباً نتایج بر اساس دستورالعمل مؤسسه استاندارد آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) تفسیر شدند.

یافته ها

تعداد ۱۰۰ آسینتوباکتر جدا شده با استفاده از روش دیسک دیفیوژن به ایمپینم مقاومت نشان دادند که نوارهای E-test نیز همین نتیجه را تأیید کردند. تمام نمونه ها MIC بیشتر از ۳۲ میکروگرم بر میلی لیتر را نشان دادند. تمامی نمونه ها با استفاده از روش دیسک دیفیوژن و نوارهای E-test به کلیستین حساس بودند. میزان MIC کلیستین برای تمام باکتری های کشت شده به صورت کوچک تر یا مساوی ۲ میکروگرم بر میلی لیتر بود که طبق استاندارد CLSI، این نمونه ها حساس به کلیستین محسوب می شوند. به علاوه، کمترین و بیشترین میزان MIC به دست آمده به ترتیب ۰/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر و ۲ میکروگرم بر میلی لیتر بود. نتایج در جدول ۲ نشان داده شده اند.

¹ Rosco Diagnostica, Denmark

جدول ۲- میزان مقاومت آسینوباکتر بومانی نسبت به کلیستین و ایمپینم

اندازه هاله ایجاد شده نسبت به ایمپینم	اندازه هاله ایجاد شده نسبت به کلیستین					
بیشتر از ۳۲ میکروگرم/میلی لیتر	۰/۲۵	۰/۵	۰/۷۵	۱	۱/۵	۲
۱۰۰	۲	۶	۱۰	۲۸	۴۸	۶
	MIC (میکروگرم/میلی لیتر)					
	درصد					

بحث

این مطالعه مقاومت ۱۰۰٪ آسینوباکتر بومانی نسبت به ایمپینم را نشان داد که در مقایسه با مطالعات مشابه در ایران و سایر کشورها به طور معناداری بالاتر است. علاوه بر این، آسینوباکتر بومانی کاملاً به کلیستین حساس بود که این یافته با مطالعات گذشته تقریباً مشابه بود. در مطالعه قاسمیان و همکاران (۲۰۱۶) میزان مقاومت به کلیستین و ایمپینم به ترتیب ۸٪ و ۱۰٪ بود (۲۲). در مطالعه تانیاپانیت و همکاران (۲۰۱۴)، میزان مقاومت و MIC به ترتیب ۳٪ و ۵۵٪ نشان داده شد (۲۳). همچنین در مطالعه سهیلی و همکاران (۲۰۱۶)، میزان مقاومت به ایمپینم ۹۰/۹٪ و کلیستین ۰/۱٪ بود (۲۴). در مطالعات مشابه مانند موسیو و همکاران (۲۰۱۴) در سایر بخش‌های جهان، میزان مقاومت به کاربپنم ۷۵/۱٪ بود که در مقایسه با کلیستین خیلی بیشتر است. علاوه بر این، سینیراتوس و همکاران (۲۰۰۹) حساسیت ۱۰۰٪ آسینوباکتر بومانی نسبت به کلیستین را نشان داد (۲۶). (۲۷)

نتیجه‌گیری

آسینوباکتر بومانی نسبت به ایمپینم که در سال‌های گذشته آنتی‌بیوتیک مؤثری بوده است، مقاوم شده است. این مسئله برای کنترل عفونت‌های ناشی از آسینوباکتر بومانی نگران‌کننده است، درحالی‌که هنوز هم کلیستین در درمان مؤثر است. درمان ترکیبی آنتی‌بیوتیکی به‌عنوان روش درمانی مطلوب به‌منظور جلوگیری از گسترش گونه‌های مقاوم به کلیستین توصیه می‌گردد. همچنین امید است که این یافته‌ها پزشکان را به اینکه آنتی‌بیوتیک‌ها را با احتیاط بیشتری تجویز و اثرات آن را پایش کنند، تشویق کند تا بتوان این مشکل را کنترل کرد.

تشکر و قدردانی

هزینه‌های مالی این مطالعه توسط دانشگاه علوم پزشکی مشهد تأمین گردید. بدین‌وسیله از تمامی کارکنان آزمایشگاه میکروبیولوژی بیمارستان‌های قائم (عج) و امام رضا (ع) برای تمام کمک‌های ایشان قدردانی می‌شود.

منابع

- Karageorgopoulos DE, Kelesidis T, Kelesidis I, Falagas ME. Tigecycline for the treatment of multidrug-resistant (including carbapenem-resistant) Acinetobacter infections: a review of the scientific evidence. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62(1):45-55.
- Karah N, Sundsfjord A, Towner K, Samuelsen O. Insights into the global molecular epidemiology of carbapenem non-susceptible clones of *Acinetobacter baumannii*. *Drug Resist Updat* 2012; 15(4):237-47.
- Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9(2):148-65.
- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21(3):538-82.
- Cisneros JM, Reyes MJ, Pachon J, Becerril B, Caballero FJ, Garcia-Garmendia JL, et al. Bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical findings, and prognostic features. *Clin Infect Dis* 1996; 22(6):1026-32.
- Talbot GH, Bradley J, Edwards JE Jr, Gilbert D, Scheld M, Bartlett JG. Bad bugs need drugs: an update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2006; 42(5):657-68.
- Joly-Guillou ML. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11(11):868-73.
- Gulati S, Kapil A, Das B, Dwivedi SN, Mahapatra AK. Nosocomial infections due to *Acinetobacter baumannii* in a neurosurgery ICU. *Neurol India* 2001; 49(2):134-7.
- Krol V, Hamid NS, Cunha BA. Neurosurgically related nosocomial *Acinetobacter baumannii* meningitis: report of two cases and literature review. *J Hosp Infect* 2009; 71(2):176-80.

10. Rodriguez Guardado A, Maradona JA, Asensi V, Carton JA, Perez F, Blanco A, et al. Postsurgical meningitis caused by *Acinetobacter baumannii*: study of 22 cases and review of the literature. *Rev Clin Esp* 2001; 201(9):497-500.
11. Wang KW, Chang WN, Huang CR, Tsai NW, Tsui HW, Wang HC, et al. Post-neurosurgical nosocomial bacterial meningitis in adults: microbiology, clinical features, and outcomes. *J Clin Neurosci* 2005; 12(6):647-50.
12. Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol* 2007; 5(12):939-51.
13. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12(9):826-36.
14. Kempf M, Rolain JM. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. *Int J Antimicrob Agents* 2012; 39(2):105-14.
15. Hsueh PR, Teng LJ, Chen CY, Chen WH, Yu CJ, Ho SW, et al. Pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* causing nosocomial infections in a university hospital, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 2002; 8(8):827-32.
16. Li J, Rayner CR, Nation RL, Owen RJ, Spelman D, Tan KE, et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(9):2946-50.
17. Olaitan AO, Berrazeg M, Fagade OE, Adelowo OO, Alli JA, Rolain JM. Emergence of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 carbapenemase, Nigeria. *Int J Infect Dis* 2013; 17(6):e469-70.
18. Falagas ME, Rafailidis PI. Nephrotoxicity of colistin: new insight into an old antibiotic. *Clin Infect Dis* 2009; 48(12):1729-31.
19. Cai Y, Chai D, Wang R, Liang B, Bai N. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67(7):1607-15.
20. Moffatt JH, Harper M, Adler B, Nation RL, Li J, Boyce JD. Insertion sequence ISAbal1 is involved in colistin resistance and loss of lipopolysaccharide in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55(6):3022-4.
21. Moffatt JH, Harper M, Harrison P, Hale JD, Vinogradov E, Seemann T, et al. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54(12):4971-7.
22. Ghasemian R, Ahanjan M, Fatehi E, Shokri M. Prevalence and antibiotic resistance pattern of *acinetobacter* isolated from patients admitted in ICUs in Mazandaran, Northern Iran. *Global J Health Sci* 2016; 8(11):54569.
23. Tunyapanit W, Pruekprasert P, Laoprasopwattana K, Chelae S. Antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii* isolated from hospital patients. *Sci Asia* 2014; 40:28-34.
24. Sohail M, Rashid A, Aslam B, Waseem M, Shahid M, Akram M, et al. Antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* clinical isolates and emerging antibiogram trends for nosocomial infection management. *Rev Soc Bras Med Trop* 2016; 49(3):300-4.
25. Safari M, Saidijam M, Bahador A, Jafari R, Alikhani MY. High prevalence of multidrug resistance and metallo-beta-lactamase (MbetaL) producing *Acinetobacter baumannii* isolated from patients in ICU wards, Hamadan, Iran. *J Res Health Sci* 2013; 13(2):162-7.
26. Moisoiu A, Ionita M, Sarbu L, Stoica C, Grigoriu L. Antibiotic resistance of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from clinical specimens in the "Marius Nasta" Pneumology Institute, Bucharest. *Pneumologia* 2014; 63(2):109-11.
27. Sinirtas M, Akalin H, Gedikoglu S. Investigation of colistin sensitivity via three different methods in *Acinetobacter baumannii* isolates with multiple antibiotic resistance. *Int J Infect Dis* 2009; 13(5):e217-20.