

تعیین میزان اثر آنتی‌بیوتیک فسفومایسین بر روی ایزوله‌های بالینی کلبسیلا پنومونیه مقاوم به ای‌پی‌نم

نرگس دارابی^۱، صابر یوسفی^۲، نیما حسینی جزینی^۳

تاریخ دریافت ۱۳۹۴/۰۷/۲۳ تاریخ پذیرش ۱۳۹۴/۰۹/۳۰

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: مقاومت‌های چندگانه دارویی در جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه از چالش‌های اساسی درمان محسوب می‌گردد. فسفومایسین از آنتی‌بیوتیک‌های مهارکننده سنتز پپتیدو گلی کان با طیف اثر وسیع است. هدف از این مطالعه بررسی اثر فسفومایسین بر روی جدایه‌های بیمارستانی کلبسیلا پنومونیه مقاوم به ای‌پی‌نم برخوردار از مقاومت چندگانه دارویی است.

مواد و روش کار: ۴۳ جدایه کلبسیلا پنومونیه مقاوم به ای‌پی‌نم برخوردار از مقاومت دارویی چندگانه از بیمارستان‌های آموزشی ارومیه جمع‌آوری و تعیین هویت گردیدند. تعیین حساسیت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با روش انتشار از دیسک صورت گرفت. در نهایت حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی آنتی‌بیوتیک فسفومایسین در محدوده غلظت ۰.۲۴-۸ میلی‌گرم بر لیتر تعیین گردید.

یافته‌ها: همه جدایه‌های مورد آزمایش نسبت به فسفومایسین مقاوم بودند. حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی برای جدایه‌ها در محدوده ۵۱۲-۱۰۲۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. با در نظر گرفتن معیارهای EUCAST در صورتی که حداقل غلظت بازدارندگی آنتی‌بیوتیک برای جدایه‌ها برابر یا بیشتر از 32µg/ml باشد، جدایه مقاوم به فسفومایسین در نظر گرفته می‌شود، لذا کلیه جدایه‌ها به‌عنوان جدایه‌های مقاوم به این آنتی‌بیوتیک در نظر گرفته شدند.

بحث و نتیجه‌گیری: علی‌رغم اینکه برخی از سایر مطالعات کارایی این آنتی‌بیوتیک را در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های مقاوم متعلق به خانواده انتروباکتریاسه تأیید نموده‌اند، در منطقه تحت مطالعه فسفومایسین در درمان عفونت‌های ناشی از کلبسیلا پنومونیه مقاوم به ای‌پی‌نم غیر کارا است.

کلیدواژه‌ها: کلبسیلا پنومونیه، فسفومایسین، ایزوله‌های بالینی، مقاومت دارویی چندگانه

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره یازدهم، ص ۹۶۸-۹۶۰، بهمن ۱۳۹۴

آدرس مکاتبه: بخش باکتری‌شناسی، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، جاده نازلو، ارومیه، تلفن: ۰۹۱۴۳۴۶۴۲۳۴

Email: n_jazani@yahoo.com

مقدمه

از آنتی‌بیوتیک به‌طور قابل‌ملاحظه افزایش می‌یابد (۲). افزایش میزان مقاومت دارویی در انتروباکتریاسه، شانس درمان با داروهای مؤثر بر روی این باکتری‌ها را کاهش می‌دهد. بتالاکتامازها آنزیم‌های باکتریایی هستند که از طریق هیدرولیز عوامل ضد میکروبی بتالاکتام، آن‌ها را غیرفعال می‌کنند. بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف باعث ایجاد مقاومت نسبت به گروه وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی شده و اغلب به دلیل شکست درمان باعث افزایش احتمال مرگ‌ومیر می‌گردند. بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف باعث مقاومت باکتری نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم و چهارم و منوباکتام‌ها گردیده و غالباً این نوع مقاومت در همراهی با مقاومت نسبت به سایر

کلبسیلا یکی از جنس‌های متعلق به خانواده انتروباکتریاسه بوده و شامل باسیل‌های گرم منفی، بدون اسپور، غیر متحرک و کپسول دار است. طبقه‌بندی این جنس قدمتی طولانی داشته و گونه‌های شناسایی شده شامل: *K. pneumoniae*، *K. oxytoca*، *K. planticola*، *K. terrigena* و *K. granulomatis* می‌باشند (۱). کلبسیلا پنومونیه مهم‌ترین گونه این جنس از نظر بیماری‌زایی است که به‌صورت ساپروفیت در حفره حلقی-دهانی ۶-۱ درصد و نیز دستگاه گوارشی ۳۸-۵ درصد افراد حضور دارد. میزان حضور این باکتری در بیماران بستری با توجه به طول مدت بستری و استفاده

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه

^۲ استادیار میکروب‌شناسی، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه

^۳ استاد میکروب‌شناسی، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه (نویسنده مسئول)

برخوردار از مقاومت دارویی چندگانه مورد استفاده قرار می‌گیرد. فسفومایسین به‌خوبی در بافت‌های مختلف بدن نفوذ کرده و به حد کافی تغلیظ می‌گردد و عوارض جانبی ناشی از مصرف این آنتی‌بیوتیک ناچیز می‌باشد (۶). با توجه به افزایش روزافزون تعداد جدایه‌های برخوردار از مقاومت دارویی چندگانه در خانواده انتروباکتریاسه، آنتی‌بیوتیک‌های قدیمی‌تر مانند فسفومایسین مجدداً مورد توجه قرار گرفته‌اند. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۴ بر روی تعیین حساسیت ۱۰۷ جدایه غیر حساس به کاربامپنم انتروباکتریاسه نسبت به آنتی‌بیوتیک فسفومایسین انجام شد، از روش انتشار آنتی‌بیوتیک در محیط کشت جامد استفاده شد. نتایج حاصل نشان داد که در مورد ۷۸ درصد از جدایه‌ها حداقل غلظت بازدارنده آنتی‌بیوتیک فسفومایسین کم‌تر یا مساوی با ۳۲ میلی‌گرم در لیتر بود و بنابراین طبق معیارهای EUCAST، این جدایه‌ها حساس به فسفومایسین در نظر گرفته شدند. این مطالعه نشان داد که فسفومایسین علیه بسیاری از انتروباکتریاسه‌های مولد کاربامپنماز نیز مؤثر است و در این مطالعه حداقل غلظت مهارکنندگی فسفومایسین برای ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه مولد کاربامپنماز نیز تعیین شد (۷). در سال‌های اخیر فسفومایسین برای درمان عفونت‌های دستگاه ادراری تحتانی و همچنین عفونت‌های منتشر ناشی از باکتری‌های بیماری‌زای گرم منفی مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که علیرغم احتمال بالای ایجاد مقاومت در باکتری‌ها نسبت به این آنتی‌بیوتیک، احتمال بروز مقاومت در بدن بیمار کم می‌باشد. این ویژگی ممکن است به دلیل سرعت کم‌تر رشد موتان‌های مقاوم به فسفومایسین و کاهش توانایی اتصال آن‌ها به سلول‌های اپی‌تلیال میزبان باشد، بنابراین مطالعات مختلفی بروز پایین مقاومت به این آنتی‌بیوتیک را در جنس‌های خانواده انتروباکتریاسه تأیید نموده‌اند. از آنجایی که در زمان درمان با فسفومایسین احتمال بروز مقاومت به این آنتی‌بیوتیک وجود دارد، بهتر است که فسفومایسین به شکل ترکیبی با سایر عوامل، برای درمان عفونت‌های وسیع ناشی از انتروباکتریاسه مولد کاربامپنماز استفاده شود (۸).

با توجه به این‌که مطالعات قبلی تأثیر فسفو مایسین را بر روی جدایه‌های مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک باکتری‌های متعلق به خانواده انتروباکتریاسه و حتی جدایه‌های مولد کاربامپنماز نشان داده‌اند، لذا هدف از انجام این مطالعه، تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی فسفومایسین بر روی ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه مولد کاربامپنماز برخوردار از مقاومت دارویی چندگانه بوده است تا امکان استفاده از فسفومایسین در درمان این نوع عفونت‌ها، لااقل در منطقه تحت مطالعه مشخص گردد.

رده‌های آنتی‌بیوتیک‌ها نظیر فلوروکینولون‌ها، کوتری موکسازول، تتراسایکلین و آمینوگلیکوزیدها می‌باشد. عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها با افزایش احتمال مدت زمان بستری در بیمارستان و افزایش هزینه‌های درمانی مرتبط است. در سال‌های اخیر باسیل‌های گرم منفی دارای مقاومت دارویی چندگانه در سراسر جهان گسترش یافته‌اند. ظهور مقاومت به کاربامپنم‌ها در میان اعضای انتروباکتریاسه یک تهدید جهانی برای سلامت عمومی محسوب می‌شود. تحقیقات انجام شده نشان داده است که داروهای قدیمی که از استفاده متداول بازمانده‌اند، احتمال دارد در درمان عفونت‌های ناشی از جدایه‌های برخوردار از مقاومت دارویی چندگانه مؤثر باشند (۳). فسفومایسین یک آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیف است که در سال ۱۹۶۹ از کشت گونه‌های استرپتومایسین استخراج شد. این آنتی‌بیوتیک مهارکننده ساخت پپتیدوگلیکان کان است ولی از نظر مکانیسم فعالیت با سایر آنتی‌بیوتیک‌های مهارکننده دیواره ارتباطی ندارد. N-UDP استیل گلوکز آمین انول پیرووات ترانسفراز (Mur A) اولین مرحله از سنتز پپتیدوگلیکان را از طریق انتقال انول پیرووات، از فسفوانول پیرووات به N-UDP استیل گلوکز آمین به شکل انول پیرووات N-UDP استیل گلوکز آمین کاتالیز می‌کند. ساختار Mur A در باکتری‌های گرم مثبت و منفی بشدت حفاظت شده است و عملکرد آن برای حیات سلول ضروری بوده و هیچ معادلی در سلول‌های یوکاریوتی ندارد. این آنزیم هدف اصلی فعالیت ضد میکروبی داروی فسفو مایسین است (۴). فسفومایسین در ابتدا برای درمان بیماران مبتلا به عفونت‌های وخیم مورد استفاده قرار می‌گرفت. فسفومایسین دارای خاصیت سریع باکتری کشی بوده و بر روی طیف وسیعی از باکتری‌ها شامل استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، انتروکوکوس مقاوم به ونکومایسین و نیز گروه کثیری از باکتری‌های گرم منفی مؤثر است. این آنتی‌بیوتیک در حال حاضر از درمان‌های جایگزین برای عفونت‌های ناشی از جدایه‌های باکتریایی برخوردار از مقاومت دارویی چندگانه است (۵).

فسفومایسین بر روی طیف وسیعی از باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت مؤثر است. این آنتی‌بیوتیک در برابر استافیلوکوکوس اورئوس و انتروکوک‌ها به‌شدت فعال بوده و نیز بر روی باکتری‌های گرم منفی از قبیل سودوموناس آئروجینوزا و کلبسیلا پنومونیه دارای اثرات ضدباکتریایی است. همچنین اثرات سینرژستیک کاربرد توأم این آنتی‌بیوتیک با سایر آنتی‌بیوتیک‌ها از قبیل آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی، آمینوگلیکوزیدها و فلوروکینولون‌ها نشان داده شده است. فسفومایسین خوراکی عمدتاً در درمان عفونت‌های دستگاه ادراری ناشی از اشرشیاکلی و انتروکوکوس فکالیس کاربرد دارد. فسفومایسین تزریقی در همراهی با آنتی‌بیوتیک‌های دیگر در درمان عفونت‌های بیمارستانی ناشی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی

مواد و روش کار

جمع‌آوری، جداسازی و تشخیص ایزوله‌ها: این مطالعه یک مطالعه تجربی بوده که به منظور انجام آن، جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه در فاصله زمانی آذرماه ۹۲ تا تیرماه ۹۳ از نمونه‌های بالینی ارسالی به مراکز آموزشی درمانی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه جمع‌آوری و جهت تأیید نهایی به آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه ارسال گردید. تمام جدایه‌ها بعد از انتقال، توسط تست‌های بیوشیمیایی و اختصاصی استاندارد، تعیین هویت شدند.

تعیین جدایه‌های مقاوم به ای‌می‌پنم- مولد کارپانماز: برای تعیین جدایه‌های مولد کارپانماز، ابتدا جدایه‌های غیر حساس به ای‌می‌پنم با استفاده از نوارهای E-test آنتی‌بیوتیک ای‌می‌پنم (Liofilchem, Italy) که حاوی رقت ۰/۰۰۲ تا ۳۲ میلی‌گرم/لیتر از آنتی‌بیوتیک بود، شناسایی شدند. سپس از روش هودج تست اصلاح‌شده با استفاده از سویه کنترل مثبت کلبسیلا پنومونیه (شناسایی‌شده با روش‌های فنوتیپی و ژنوتیپی در مطالعات قبلی) و *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 به‌عنوان کنترل منفی برای شناسایی فنوتیپی جدایه‌های مولد کارپانماز استفاده شد (۹،۱۰).

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها: جهت تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هایی از گروه کارپانماز، آمینوگلیکوزید و سفالوسپورین‌های نسل سوم از روش انتشار آنتی‌بیوتیک از دیسک بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار طبق دستورالعمل کمیته ملی استانداردهای آزمایشگاه‌های بالینی European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) استفاده شد. بدین منظور از آنتی‌بیوتیک‌های ای‌می‌پنم (۱۰ میکروگرم)، ارتاپنم (۱۰ میکروگرم)، توبرامایسین (۱۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، سفه پیم (۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم) و کلیستین (۲۵ میکروگرم) (Mast, UK) استفاده گردید. بعد از گرم‌خانه‌گذاری نمونه‌ها، قطر هاله عدم رشد اطراف کلنی‌ها اندازه‌گیری و با استفاده از جداول استاندارد موردبررسی قرار گرفتند و نتایج به‌صورت حساس، نیمه حساس و یا مقاوم گزارش گردید.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی فسفومایسین: برای این منظور رقت‌های متوالی از آنتی‌بیوتیک فسفومایسین در محیط کشت TSB (Merck) در هشت لوله در دامنه غلظت ۱-۸ میلی‌گرم در لیتر تهیه گردید. تعداد باکتری تلقیح شده به هر لوله معادل 1.5×10^6 بود. بعد از تلقیح باکتری به هر لوله، لوله‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. بعد از مدت‌زمان ۲۴ ساعت، لوله‌ها از نظر رشد باکتری (کدورت حاصله) بررسی‌شده و بالاترین رقتی از آنتی‌بیوتیک که باعث مهار رشد

باکتری شده بود (فقدان کدورت)، به‌عنوان حداقل غلظت بازدارنده (MIC) در نظر گرفته شد. در ادامه از لوله‌های فاقد کدورت مقدار پنج میکرولیتر بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (Conda) کشت داده شد و بعد از ۲۴ ساعت، حداقل رقتی از آنتی‌بیوتیک که از تشکیل کلنی در محیط جامد ممانعت می‌نمود، به‌عنوان حداقل غلظت کشنده آنتی‌بیوتیک (MBC) در نظر گرفته شد. با توجه به معیارهای EUCAST، در صورتی که حداقل غلظت بازدارندگی فسفومایسین برای جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه کم‌تر یا مساوی با ۳۲ میکروگرم در سی‌سی باشد، جدایه حساس گزارش می‌شود و در شرایطی که بیشتر از این مقدار باشد، جدایه موردنظر مقاوم گزارش می‌گردد (۹-۱۱).

یافته‌ها

جمع‌آوری، جداسازی و تشخیص جدایه‌ها و تعیین جدایه‌های مقاوم به ای‌می‌پنم- مولد کارپانماز:

در این بررسی تعداد ۱۸۲ جدایه کلبسیلا پنومونیه جمع‌آوری‌شده از بیمارستان‌های آموزشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه در مرحله اول با استفاده از تست‌های استاندارد میکروبی‌شناسی تعیین هویت شدند که از این تعداد ۴۳ مورد (۲۳/۶ درصد) مقاوم به ای‌می‌پنم، دو مورد (۱/۱ درصد) دارای مقاومت متوسط به ای‌می‌پنم و ۱۳۷ مورد (۷۵/۳ درصد) نسبت به ای‌می‌پنم حساس بودند. از ۴۳ جدایه مقاوم به ای‌می‌پنم ۳۲ جدایه (۷۴/۴ درصد) از نظر تولید کارپانماز با استفاده از تست هودج اصلاح‌شده، مثبت شناسایی شدند.

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها:

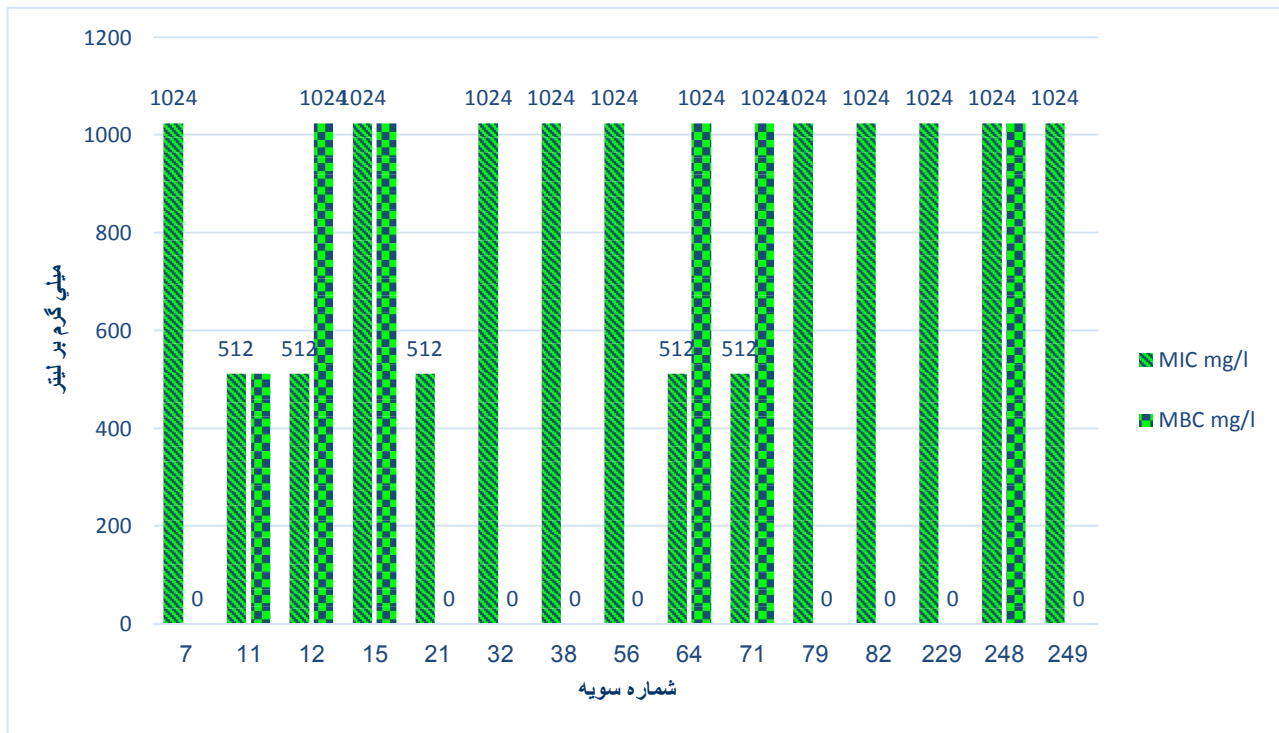
۴۳ جدایه مورد مطالعه، همگی برخوردار از مقاومت دارویی چندگانه بودند. در مطالعه حاضر، همه جدایه‌های مورد بررسی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رده کارپانماز شامل ای‌می‌پنم و ارتاپنم مقاومت ۱۰۰ درصد، در رده آمینوگلیکوزیدها نسبت به توبرامایسین مقاومت ۱۰۰ درصد و نسبت به آمیکاسین مقاومت ۷۴/۴ درصد و در مورد سفالوسپورین‌های نسل سوم، سفوتاکسیم و سفالوسپورین‌های نسل چهارم، سفه پیم، مقاومت ۱۰۰ درصد را نشان دادند. نکته قابل توجه در این مطالعه حساسیت همه ایزوله‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک کلیستین بود.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی فسفومایسین:

از تعداد ۴۳ جدایه مقاوم به ای‌می‌پنم در مورد ۱۵ جدایه حداقل غلظت بازدارنده رشد فسفومایسین در محدوده غلظت تحت بررسی مشخص گردید و در مورد بقیه جدایه‌ها حتی بالاترین غلظت فسفومایسین، بازدارنده و یا کشنده نبود. از ۱۵ جدایه مزبور ۶

فسفومایسین برای این جدایه‌ها ۹۳۸/۶۶ و انحراف معیار ۲۰۹/۰۲ تعیین گردید. با توجه به اینکه در صورتی که حداقل غلظت بازدارندگی فسفومایسین برای جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه بیشتر از ۳۲ میکروگرم در سی‌سی باشد، جدایه مقاوم گزارش می‌شود، لذا براساس نتایج به دست آمده مشخص گردید که کلیه جدایه‌های تحت بررسی نسبت به فسفومایسین مقاوم می‌باشند (نمودار ۱).

جدایه علاوه بر حداقل غلظت بازدارنده رشد، حداقل غلظت کشندگی نیز در دامنه غلظت تحت بررسی قابل تعیین بود. حداقل غلظت مهارکنندگی در مورد جدایه‌های مورد بررسی در محدوده ۵۱۲-۱۰۲۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. میانگین حداقل غلظت بازدارندگی برای جدایه‌های مورد بررسی ۸۵۳/۳۳ و انحراف معیار ۲۴۹/۸۳ تعیین گردید. میانگین حداقل غلظت کشندگی



نمودار (۱): حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی آنتی‌بیوتیک فسفومایسین برای ۶ ایزوله کلبسیلا پنومونیه. در مورد ۹ ایزوله در محدوده غلظت تحت بررسی، تعیین حداقل غلظت کشنده ممکن نبود

تغییر در تعداد گلبول‌های سفید، ائوزینوفیل‌ها، بیلی روبین و تست‌های عملکرد کبدی گزارش شده است. اگرچه این تغییرات عموماً گذرا بوده و از نظر بالینی قابل توجه نیستند (۱۲). میزان حداقل غلظت بازدارندگی این آنتی‌بیوتیک برای جدایه‌های انتروباکتریاسه کم‌تر از گونه‌های غیر تخمیری است (۱۱). در مطالعه دیگری بر روی جدایه‌های انتروباکتریاسه حداقل غلظت بازدارندگی فسفومایسین در مورد بسیاری از جدایه‌ها کم‌تر یا مساوی با ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که نشان دهنده حساسیت ایزوله‌ها نسبت به این آنتی‌بیوتیک بود (۱۲).

مقاومت دارویی چند گانه به شرایطی که یک سویه باکتریایی به دو یا بیش از دو رده آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دهد، اطلاق می‌گردد. در دهه اخیر شیوع جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه مولد کاربپنماز (KPC) در سراسر جهان به یک نگرانی عمده تبدیل شده است. این بتالاکتامازها قادر به هیدرولیز کاربپنم‌ها بوده و

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات انجام شده قبلی نشان داده‌اند که فسفومایسین می‌تواند علیه باسیل‌های گرم منفی مؤثر بوده و به‌عنوان درمان جایگزین در نظر گرفته شود (۱۱). این آنتی‌بیوتیک از راه‌های مختلفی از قبیل خوراکی به شکل فسفومایسین ترومتامین و داخل وریدی به شکل فسفومایسین دی سدیم قابل تجویز است. این آنتی‌بیوتیک به خوبی در بافت‌های بدن شامل کلیه، دیواره مثانه، پروستات، ریه، بافت نرم، استخوان و مایع مغزی نخاعی انتشار می‌یابد. میزان غلظت سرمی این دارو در شکل خوراکی و داخل وریدی یکسان نمی‌باشد. در افراد با عمل کرد طبیعی کلیه، در شکل داخل وریدی نیمه عمر این آنتی‌بیوتیک ۲-۳ ساعت و در شکل خوراکی نیمه عمر این دارو ۶ ساعت است. در شکل داخل وریدی بیشترین عوارض جانبی مصرف این آنتی‌بیوتیک شامل التهاب وریدی و واکنش‌های آلرژیک است. تغییرات آزمایشگاهی شامل

خوبی برای درمان عفونت‌های ناشی از کلبسیلا پنومونیه مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های بتا لاکتامی معرفی شد (۱۴).

مطالعه دیگری که توسط Neuner و همکاران در سال ۲۰۱۲ انجام شد، حاکی از درمان موفق عفونت‌های وخیم ادراری ناشی از باکتری‌های دارای مقاومت دارویی چندگانه با فسفومایسین بود. این مطالعه مروری گذشته نگر به‌منظور توصیف نتایج میکروبیولوژیک و بالینی درمان عفونت‌های ادراری ناشی از باکتری‌های بیماری‌زای برخوردار از مقاومت دارویی چندگانه با فسفومایسین ترومتامین طراحی شد. در مطالعه اطلاعات به دست آمده از ۴۱ بیمار بستری شده در بیمارستان که با کشت ادرار مثبت از نظر حضور باکتری مقاوم به چندین آنتی‌بیوتیک در فاصله زمانی ۲۰۰۶ تا ۲۰۱۰ در بیمارستان بستری شده بودند و به‌منظور درمان عفونت فسفومایسین ترومتامین دریافت نموده بودند، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از ۴۱ بیمار تحت مطالعه ۴۴ جدایه باکتریایی عامل عفونت‌های ادراری جمع‌آوری شد که شامل ۱۳ جدایه مقاوم به کاربامپنم کلبسیلا پنومونیه، ۸ جدایه سودوموناس آئروجینوزا، ۷ جدایه مقاوم به وانکومایسین انتروکوکوس فاسیوم، ۷ جدایه مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف و ۹ جدایه دیگر مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک بود. در مطالعات برون تنی ۸۶ درصد جدایه‌های تحت بررسی نسبت به فسفومایسین حساس بودند. در این مطالعه میانگین دوز دارویی دریافتی بیمار $1/8 \pm 2/9$ (هر دوز معادل ۳ گرم فسفومایسین ترومتامین) در هر دوره درمانی بود و به‌طور متوسط بهبودی در ۵۹ درصد از افراد تحت درمان مشاهده شد. عود عفونت و یا ابتلاء مجدد به عفونت ادراری در به ترتیب ۲۴ درصد و ۱۷ درصد بیماران مشاهده شد. همچنین در مورد عفونت ناشی از کلبسیلا پنومونیه مقاوم به کاربامپنم، سودوموناس آئروجینوزا، انتروکوک مقاوم به وانکومایسین و جدایه‌های مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف، میزان بهبودی پس از درمان با فسفومایسین ترومتامین به ترتیب ۴۶ درصد، ۳۸ درصد، ۷۱ درصد و ۵۷ درصد بود. در مجموع تعداد افراد بهبود یافته ۲۴ نفر و تعداد افراد در گروه شکست درمان ۱۷ نفر بود که در گروه شکست درمان تعداد افراد دریافت کننده پیوند به‌طور معنی دار از گروه بهبود یافته بالاتر بود (۵۱ درصد در مقایسه با ۲۱ درصد $p=0.02$). در مورد کلبسیلا پنومونیه مقاوم به کاربامپنم اختلاف چشمگیری در نتایج حساسیت باکتری به فسفومایسین در شرایط برون تنی (۹۲ درصد) با شرایط درون تنی (۴۶ درصد) وجود داشت. به دنبال این مطالعه کارایی برون تنی فسفومایسین در برابر باکتری‌های بیماری‌زای مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های متعدد عامل عفونت‌های ادراری اثبات شد (۱۵).

علی‌رغم تأثیر فسفومایسین در درمان عفونت‌های ناشی از باسیل‌های گرم منفی، گزارشاتی از مقاوم شدن باکتری‌ها نسبت به

سبب پیدایش مقاومت در برابر طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌گردند. در حال حاضر درمان مناسب و بهینه برای عفونت‌های ناشی از کلبسیلا پنومونیه مولد کاربامپنم در حال بررسی بوده و اطلاعات بالینی برای تجویز آنتی‌بیوتیک قابل استفاده، کم است (۱۳).

فالاگاس و همکاران در سال ۲۰۰۸ اثرات ضد باکتریایی فسفومایسین بر روی ۳۰ جدایه کلبسیلا پنومونیه، ۳۰ جدایه سودوموناس آئروجینوزا و ۳۰ جدایه اسینتوباکتر بومانی که همگی از مقاومت دارویی چندگانه برخوردار بودند و به‌طور تصادفی انتخاب شده بودند را مورد بررسی قرار دادند. جدایه‌ها از بیماران مراجعه کننده به یک بیمارستان عمومی در آتن، یونان به دست آمدند. جدایه‌ها از نظر میزان حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف و توانایی تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف و متالوبتالاکتامازها مورد بررسی قرار گرفتند. حداقل غلظت بازدارنده فسفومایسین برای هر جدایه با روش انتشار آنتی‌بیوتیک در محیط جامد تعیین گردید. تمامی جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف و متالوبتالاکتاماز بودند و تمام جدایه‌های سودوموناس مولد بتالاکتاماز بودند. هیچکدام از جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف و متالوبتالاکتاماز تحت بررسی، نسبت به آنتی‌بیوتیک فسفومایسین مقاوم نبودند و تنها ۲۰ درصد از جدایه‌های سودوموناس آئروجینوزا در این مطالعه، مقاوم شناسایی شدند. بر خلاف این یافته، به‌جز ۳ درصد از جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی، بقیه این جدایه‌ها نسبت به فسفومایسین مقاوم بودند. حداقل غلظت بازدارنده فسفومایسین برای جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه در دامنه ۸-۶۴ میکروگرم در سی‌سی از فسفومایسین بوده و حداقل غلظت بازدارنده ۵۰ درصد و ۹۰ درصد این آنتی‌بیوتیک برای جدایه‌های کلبسیلا به ترتیب ۱۶ و ۳۲ میکروگرم در سی‌سی بود. در مجموع نتایج به دست آمده توسط این محققین نشان داد که فسفومایسین در لیست محدود داروهای مورد استفاده در درمان عفونت‌های ناشی از جدایه‌های مقاوم به چندین آنتی‌بیوتیک، به‌ویژه جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه قرار دارد. حساسیت جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف به فسفومایسین در مطالعات قبلی نیز گزارش شده بود (۱۴،۴). توجه به این نکته ضروری است که در این مطالعه جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه مورد نظر، نسبت به کلیه آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی تحت بررسی مقاوم بودند. البته همه جدایه‌ها نسبت به کلیستین نیز حساس بودند ولی با توجه به عوارض جانبی کم‌تر فسفومایسین در مقایسه با کلیستین و قدرت نفوذ مناسب و فعالیت ضد میکروبی قابل توجه فسفومایسین در بافت‌ها بخصوص در شرایط التهابی، این آنتی‌بیوتیک انتخاب

این آنتی‌بیوتیک نیز وجود دارد. فسفومایسین با مکانیسم اثر منحصر به فرد مهار آنزیم MurA، دارای اثر بازدارنده و کشنده وسیعی بر روی باکتری‌های گرم منفی و مثبت متعدد است. So- Young و Lee و همکاران در سال ۲۰۱۲ به بررسی علل مقاومت باکتری‌ها نسبت به فسفومایسین پرداختند. براساس این مطالعه دلیل مقاومت به فسفومایسین، حضور ژن مقاومتی بر روی پلاسمید به‌عنوان عامل متحرک ژنی در میان ایزوله‌های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف بود. در این مطالعه تعداد ۱۶۵ ایزوله اشرشیاکلی و ۱۸۲ ایزوله کلبسیلا پنومونیه مورد بررسی قرار گرفتند. براساس نتایج حاصل، ۹۵/۲ درصد از ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه و ۹۲/۹ درصد از ایزوله‌های اشرشیاکلی در برابر فسفومایسین حساس و ۱۳ ایزوله کلبسیلا پنومونیه و ۸ ایزوله اشرشیاکلی نسبت به فسفومایسین غیرحساس بودند (۱۶).

Martin Kaase و همکاران در سال ۲۰۱۴ با بررسی ایزوله‌های انتروباکتریاسه برخوردار از مقاومت دارویی چندگانه مولد آنزیم کارباپنماز، حساسیت این سویه‌ها به فسفومایسین را نشان دادند. طی این مطالعه ۱۰۷ ایزوله بالینی انتروباکتریاسه غیرحساس به کارباپنم، نسبت به فسفومایسین تعیین حساسیت گردیدند که ۷۸ درصد ایزوله‌ها دارای حداقل غلظت بازدارندگی $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ بودند. در این مطالعه حداقل غلظت بازدارندگی فسفومایسین در مورد ایزوله‌های اشرشیاکلی، به‌طور چشمگیری پایین‌تر از ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه و انتروباکتر کلواکه بود. از آنجایی که فرایند درمان با آنتی‌بیوتیک‌ها برای عفونت‌های ناشی از انتروباکتریاسه مولد کارباپنماز محدودیت داشته، استفاده از فسفومایسین برای درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های برخوردار از مقاومت‌های دارویی چندگانه در سویه‌های انتروباکتریاسه مورد توجه قرار گرفته است. البته توجه به مقاومت در برابر فسفومایسین مهم بوده و کسب مقاومت در برابر این آنتی‌بیوتیک هم از طریق کروموزومی و هم از طریق پلاسمیدی صورت می‌گیرد (۱۷).

Rajenderan و همکاران نیز طی مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۴ به تعیین حداقل غلظت بازدارندگی آریکاسین، سفه مینوکس، فسفومایسین، بیاپنم و سایر آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی ۹۲۵ ایزوله از باکتری‌های گرم منفی پرداختند. آنتی‌بیوتیک‌های ذکر شده در زمان مطالعه در کشور هندوستان قابل دسترس نبودند. در این مطالعه جدایه‌های اشرشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه، سودوموناس آئروجینوزا و اسینتوباکتر از نمونه‌های خون، ادرار و خلط در فاصله زمانی مارس تا نوامبر ۲۰۱۲ جمع‌آوری شدند. حداقل غلظت بازدارنده ۱۶

آنتی‌بیوتیک با روش رقیق‌سازی در محیط کشت مایع تعیین شد. در مجموع ۹۲۵ جدایه شامل ۲۱۱ جدایه اشرشیاکلی، ۲۰۷ جدایه کلبسیلا، ۱۵۳ جدایه سودوموناس آئروجینوزا و ۳۵۴ جدایه اسینتوباکتر تحت بررسی قرار گرفتند. در این بررسی فسفومایسین تنها آنتی‌بیوتیکی بود که حداقل غلظت مهارکنندگی MIC_{90} برابر با $32 \mu\text{g/ml}$ را برای سویه‌های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه نشان داد. در بین آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی تنها فسفومایسین به‌عنوان گزینه درمانی مناسب به نظر رسید. با وجود این، ظهور سریع مقاومت در برابر این آنتی‌بیوتیک در طی درمان موضوعی است که باید با دقت بیشتری مورد مطالعه قرار گیرد و بنابراین این محققین توصیه کردند که فسفومایسین نباید به تنهایی برای درمان به کار برده شود. در این مطالعه تجویز همزمان کلی‌سیتین به همراه فسفومایسین در درمان عفونت‌های ناشی از اشرشیاکلی و کلبسیلا توصیه گردید (۱۸).

با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر، حداقل غلظت بازدارندگی برای ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه مولد کارباپنماز برخوردار از مقاومت چندگانه دارویی در محدوده ۵۱۲-۱۰۲۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. این نتیجه در مقایسه با نتایج حاصل از تحقیقات مشابه، بسیار بالا بود و بنابراین با در نظر گرفتن مقاومت بالای ایزوله‌های مورد بررسی در مطالعه حاضر و علیرغم اینکه برخی از سایر مطالعات کارایی این آنتی‌بیوتیک را در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های متعلق به خانواده انتروباکتریاسه تأیید نموده‌اند، می‌توان نتیجه گرفت که حداقل در منطقه تحت مطالعه فسفومایسین در درمان عفونت‌های ناشی از کلبسیلا پنومونیه مولد کارباپنماز غیر کارا می‌باشد. همچنین با توجه به این که پاره‌ای از مطالعات احتمال مقاومت در میکروارگانیزم‌های تحت بررسی را در شرایط درون بدنی کم‌تر از شرایط برون تنی نسبت به فسفومایسین ذکر نموده‌اند (۱۵)، لذا از محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به عدم استفاده از مدل‌های حیوانی برای تعیین کارایی واقعی آنتی‌بیوتیک در مواجهه با عفونت‌های ناشی از کلبسیلا پنومونیه مقاوم به ای‌پی‌پنم در اشکال مختلف بالینی اشاره نمود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کمیته تحقیقات دانشجویی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه به‌دلیل تأمین هزینه‌های لازم برای انجام این طرح تحقیقاتی تشکر و قدردانی می‌شود.

References:

- Podschun R, Ullmann U. Klebsiella spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11(4) 589-603.
- Pérez-Moreno MO, Centelles-Serrano MJ, Cortell-Ortolá M, Fort-Gallifa I, Ruiz J, Llovet-Lombarte MI, et al. Molecular epidemiology and resistance mechanisms involved in reduced susceptibility to amoxicillin/clavulanic acid in Klebsiella pneumoniae isolates from a chronic care centre. *Int J Antimicrobial agents* 2011; 37(5):462-6.
- Falagas ME, Kastoris AC, Kapaskelis AM, Karageorgopoulos DE. Fosfomycin for the treatment of multidrug-resistant, including extended-spectrum β -lactamase producing, Enterobacteriaceae infections: a systematic review. *Lancet Infectious Diseases* 2010;10(1):43-50.
- Falagas ME, Giannopoulou KP, Kokolakis GN, Rafailidis PI. Fosfomycin: use beyond urinary tract and gastrointestinal infections. *Clin Infectious Diseases* 2008;46(7):1069-77.
- Raz R. Fosfomycin: an old—new antibiotic. *Clin Microbiol Infection* 2012;18(1):4-7.
- Michalopoulos AS, Livaditis IG, Gougoutas V. The revival of fosfomycin. *Int J Infect Dis* 2011; 15(11):e732-9.
- Kaase M, Szabados F, Anders A, Gatermann SG. Fosfomycin Susceptibility in Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae from Germany. *J Clin Microbiol* 2014; 52(6): 1893–7.
- Karageorgopoulos DE, Wang R, Yu X-h, Falagas ME. Fosfomycin: evaluation of the published evidence on the emergence of antimicrobial resistance in Gram-negative pathogens. *J Antimicrob Chemother* 2012;67(2):255-68.
- Hirsch EB, Tam VH. Detection and treatment options for Klebsiella pneumoniae carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection. *J Antimicrob Chemother* 2010;65(6):1119–25.
- Nordmann P, Gniadkowski M, Giske C, Poirel L, Woodford N, Miriagou V. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect* 2012;18(5):432-8.
- Hosseini Jazani N, Sharifi Y, Farzaneh H, Zartoshti M. Determination of the efficacy of phosphomycin on clinical isolates of methicillin resistant Staphylococcus aureus. *Urmia Med J* 2014; 25 (10): 874-80.
- Cockerill FR, Clinical, Institute LS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing: approved standard. National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2012.
- Endimiani A, Patel G, Hujer KM, Swaminathan M, Perez F, Rice LB, et al. In vitro activity of fosfomycin against bla KPC-containing Klebsiella pneumoniae isolates, including those nonsusceptible to tigecycline and/or colistin. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54(1):526-9.
- Falagas M, Kanellopoulou M, Karageorgopoulos D, Dimopoulos G, Rafailidis P, Skarmoutsou N, et al. Antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant Gram negative bacteria to fosfomycin. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008;27(6):439-43.
- Neuner EA, Sekeres J, Hall GS, van Duin D. Experience with fosfomycin for treatment of urinary tract infections due to multidrug-resistant organisms. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56(11):5744-8.
- Lee S-Y, Park Y-J, Yu JK, Jung S, Kim Y, Jeong SH, et al. Prevalence of acquired fosfomycin resistance among extended-spectrum β -lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae clinical isolates in Korea and IS26-composite transposon surrounding fosA3. *J Antimicrobial chemotherapy* 2012;dks319.

17. Kaase M, Szabados F, Anders A, Gatermann SG. Fosfomycin Susceptibility in Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae from Germany. *J Clin Microbiol* 2014;52(6):1893-7.
18. Rajenderan S, Balaji V, Anandan S, Sahni RD, Tansarli GS, Falagas ME. Determination of MIC Distribution of Arbekacin, Cefminox, Fosfomycin, Biapenem and Other Antibiotics against Gram-Negative Clinical Isolates in South India: A Prospective Study. *PLoS one* 2014;9(7):e103253.

DETERMINATION OF THE EFFICACY OF PHOSPHOMYCIN ON IMIPENEM RESISTANT *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* CLINICAL ISOLATES

Narges Darabi¹, Saber Yousefi², Nima Hosseini Jazani^{3}*

Received: 15 Oct , 2015; Accepted: 21 Dec , 2015

Abstract

Background & Aims: Multiple drug resistance among *Klebsiella pneumoniae* isolates is one of the most important challenges for treating of such infections. Fosfomycin is a broad-spectrum peptidoglycan biosynthesis inhibitor. The purpose of this study was to evaluate the effect of fosfomycin on imipenem resistant clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*.

Materials & Methods: This study included 43 isolates of imipenem resistant *Klebsiella pneumoniae* were collected from educational hospitals of Urmia and were identified by using the standard methods. Susceptibility of isolates to various antibiotics was determined by disk diffusion method. The minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations of fosfomycin were determined in the range of 8-1024 mg/mL.

Results: All tested isolates were resistant to fosfomycin. The minimum inhibitory and bactericidal concentrations for investigated isolates were determined in the range of 512-1024 mg/mL. According to EUCAST criteria if the minimum inhibitory concentration of antibiotic for an isolate is equal or greater than 32µg / mL, the isolates were considered as resistant to fosfomycin, so all the isolates were defined as resistant to this antibiotic.

Conclusion: In spite of the fact that some of the other studies confirmed the effectiveness of this antibiotic in treatment of Enterobacteriaceae caused infections, at least in the studied area fosfomycin is inefficient for treating of infections caused by imipenem resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates.

Key words: *Klebsiella pneumoniae*, Fosfomycin, clinical isolates, Multi drug resistant

Address: Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

Tel: +98 4432780800

Email: n_jazani@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2016; 26(11): 968 ISSN: 1027-3727

¹ M.S. Student in Microbiology, Student Research Committee, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

² Assistant Professor, Microbiology Department, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

³ Professor, Microbiology Department, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran (Corresponding Author)