پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۸، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۳، صفحات ۱۰۶ تا ۱۱۰

مقاله اصلی
(Original Article)

بررسی مقاومت دارویی سویه‌های اسینتوباکتر بامانی جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان امام رضا (ع) تبریز در سال ۱۳۹۲

گلی انگوتی[۱]، حسین گودرزی[۲] *، مهدی بشارت[۳]، مریم حاجی زاده[۴] ، مریم زرین قلم مقدم[۱]

[۱] دانشجوی دکترای باکتری شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، شعبه بین الملل
[۲] گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۳] معاون پشتیبانی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۴] بخش میکروب شناسی، بیمارستان امام رضا (ع) تبریز

چکیده

سابقه و هدف: *الگوهای مقاومت دارویی در بین پاتوژن‌های باکتریایی بیمارستانی، در بیمارستان‌های مختلف یک کشور به صورت گسترده‌ای می‌تواند متفاوت باشد. از آنجایی که اسینتوباکتربامانی یکی از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی است، بررسی الگوهای مقاومت دارویی آن ضروری می‌باشد. لذا این مطالعه با هدف تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های اسینتوباکتر بامانی جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان فوق تخصصی و جنرال امام رضا (ع) تبریز در سال ۱۳۹۲ انجام شد.*

روش بررسی: *این مطالعه توصیفی روی ۶۱ نمونه اسینتوباکتربامانی جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان امام رضا (ع) تبریز در سال ۱۳۹۲در طی ۹ ماه صورت گرفت. پس از تائید و تشخیص باکتری با روشهای استاندارد باکتری شناسی، میزان حساسیت آنها نسبت به ۱۲ آنتی بیوتیک مختلف، از جمله ایمی پنم، آمیکاسین، سفتریاکسون و سیپروفلوکساسین و ... به روش آنتی بیوگرام (دیسک دیفیوژن) بررسی شد، سپس حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) بر روی ایزوله های اسینتوباکتر بامانی به روش E- test نسبت به سه آنتی بیوتیک بر اساس دستورالعمل استاندارد های Clinical and Laboratory standards Institute (CLSI) تعیین شد.*

یافته‌ها: *بیشترین مقاومت به ترتیب در برابر آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین و سفوتاکسیم ۹۹ درصد مشاهده گردید. درصد مقاومت ایزوله‌ها به ایمی‌پنم، آمیکاسین و سیپروفلوکساسین در روش E- test به ترتیب ۷۳/۳، ۳۸ و ۹۳/۳ درصد بود.*

نتیجه‌گیری: *در این مطالعه، سویه‌های اسینتوباکتر بامانی به آنتی بیوتیک‌های مختلف مقاومت بالا یی داشتند. با توجه به اهمیت این باکتری در عفونتهای بیمارستانی، اتخاذ راهکارهای مناسب برای کنترل گسترش این سویه‌ها و همچنین رژیم درمانی جدید با توجه به MIC ضروری است.*

واژگان کلیدی: *اسینتوباکتر بامانی، مقاومت آنتی بیوتیکی، **MIC** ، ایمی پنم، سیپروفلوکساسین، آمیکاسین.*

مقدمه

میکروارگانیسم‌های عامل عفونت‌های بیمارستانی به دلیل مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها مشکلات بزرگی را برای بیماران و بخش درمانی ایجاد می‌کنند (۱). سویه‌های اسینتوباکتر بامانی به دلیل مقاومت ذاتی و پذیرش عناصر ژنتیکی حامل ژنهای مقاومت به اکثر آنتی بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند (۲،۳). مطالعات مختلف نیز نشان می‌دهند که اغلب سویه‌های اسینتوباکتر بامانی نسبت به اکثر آنتی بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند و این سویه‌های مقاوم به چند دارو به سرعت در بین بیماران بستری در بیمارستان در حال گسترش می‌باشند (۴، ۵). این باکتری بیماری‌های مختلفی از قبیل

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی، حسین گودرزی (**e-mail:** medicalopto@yahoo.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/٤/١٦
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/٦/٢٥

پنومونی، سپتی سمی، عفونت‌های پوستی و زخم، مننژیت، اندوکاردیت و عفونت‌های دستگاه ادراری را به وجود می آورد. لذا داروهای مناسب برای درمان این باکتری‌ها بسیار محدود خواهد شد که می‌تواند منجر به تشدید روند بیماری، بستری شدن طولانی مدت در بیمارستان، هزینه‌های بالای درمان و افزایش میزان مرگ و میر در بیماران گردد. از آن جایی که داشتن اطلاعاتی به روز در هرمنطقه جغرافیایی درخصوص الگوی مقاومت میکروبی سویه‌های باکتریایی امکان انتخاب رژیم دارویی مناسب را فراهم می‌سازد، هدف از این تحقیق تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های بالینی اسینتوباکتر بامانی جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان فوق تخصصی و جنرال امام رضا (ع) تبریز در سال ۱۳۹۲ بود.

مواد و روشها

در این مطالعه توصیفی، تعداد ۶۱ سویه اسینتوباکتر بامانی از نمونه‌های مختلف زخم، ادرار، خون، خلط، ترشحات تنفسی و ... از بیماران بستری در بخش‌های مراقبت ویژه (ICU)، داخلی، جراحی مغز و اعصاب، عفونی و اعصاب طی ۹ ماه درسال ۱۳۹۲ از بیمارستان امام رضا (ع) تبریز تشخیص و جمع‌آوری شد. برای اطمینان ازصحت جنس و گونه باکتری، تست‌های استاندارد باکتری شناسی شامل رنگ آمیزی گرم، تست اکسیداز، واکنش روی محیط TSI، توانایی استفاده از سیترات به عنوان تنها منبع کربن، حرکت، اندول منفی، سولفید هیدروژن، اکسید نمودن گلوکز در محیط OF، رشد در دمای ۴۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد (۶). سپس، به منظور بررسی فنوتیپ مقاومت دارویی اسینتوباکتربامانی تست آنتی بیوگرام به روش انتشار دیسک در محیط مولرهینتون آگار برای ۱۲ آنتی بیوتیک تری‌متوپریم سولفومتوکسازول، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، آمیکاسین، جنتامیسین، توبرامایسین، ایمی پنم، مروپنم، سفتریاکسون، سفپیم، اوفلوکسازین و کلیستین مورد ارزیابی قرار گرفت (۸-۶). دیسک های به کارگرفته شده در این تست، از شرکت پادتن طب خریداری شدند. در این روش سوسپانسیون باکتری با کدورت معادل نیم مک فارلند تهیه شد و بر روی محیط مولر هینتون تلقیح شد پس از گذاشتن دیسک ها در محیط کشت و ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی گراد هاله عدم رشد باکتری اندازه گیری شد و براساس دستورالعمل استانداردهای کلینیکی و آزمایشگاهی(CLSI) مقایسه گردید. سپس به دلیل اهمیت بیشتر آنتی بیوتیک های ایمی پنم، سیپروفلوکساسین و آمیکاسین در درمان عفونت های حاصل از اسینتوباکتر بامانی، آزمون تعیین حداقل غلظت بازدارندگی دارو (MIC) با استفاده از نوارهای E- test (شرکت Liofilcheme- ایتالیا) انجام شد (۸). به این منظور پس از آن که باکتری های کشت شده در محیط سرم فیزیولوژی با غلظتی معادل کدورت نیم مک فارلند تطابق داده شد، با استفاده از یک سواب استریل سوسپانسیون باکتری را بر روی سطح پلیت های ۱۰ سانتی متری مولر هینتون آگار ۳ بار با زاویه ۶۰ درجه کشیده و سپس توسط پنس استریل نوار E-test مربوط به سه آنتی بیوتیک را برداشته و به آرامی بر روی محیط کشت قرار داده و پس از گذشت ۲۴-۱۸ ساعت در ۳۵ درجه سانتی گراد حداقل غلظت ممانعت از رشد بر اساس درجه بندی روی نوار E-test، برحسب میلی گرم در میلی لیتر براساس دستورالعمل استانداردهای کلینیکی و آزمایشگاهی (CLSI) به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش گردید (شکل ۱). سویه کنترل به کاررفته در تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی به روش انتشار از دیسک و MIC اشریشیا کولی ATCC25922 بود.

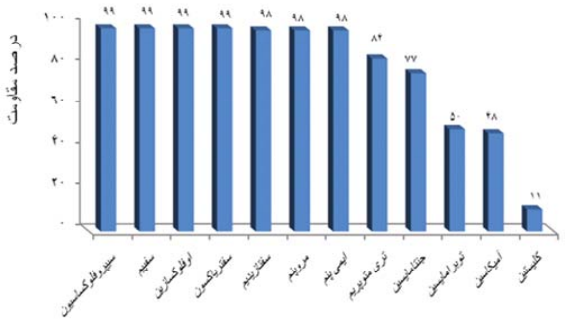
شکل ۱. تعیین MIC آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم با استفاده از E- test.

یافته‌ها

با استفاده از آزمون‌های استاندارد بیوشیمیایی و روش مولکولی شناسایی اسینتوباکتر بامانی در تمامی ۶۱ جدایه احتمالی تایید گردید. نمونه ها شامل ترشحات دستگاه تنفسی ۴۹/۳ درصد، خون ۱۶/۷درصد، زخم ۱۱/۶درصد، خلط ۸/۴ درصد، مایعات استریل بدن ۷/۵ درصد، و ادرار ۶/۵ درصد بودند (نمودار ۱).

فراوانی (درصد) مقاومت ۶۱ سویه اسینتوباکتر بامانی ایزوله شده از بیماران نسبت به ۱۲ آنتی بیوتیک مورد استفاده به روش انتشار در دیسک، در نمودار ۲ نشان داده شده است.

نمودار ۱. فراوانی ۶۱ نمونه مورد بررسی بر حسب نوع نمونه



نمودار ۲. فراوانی ۶۱ نمونه برحسب الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی

تعداد ۵۹ (۹۶/۷درصد) ایزوله دارای مقاومت چندگانه (MDR) بود. در روش تعیین MIC نیز مشخص شد که ۹۳/۳ درصد ایزوله‌ها با MIC بیشتر از ۳۲ میلی‌گرم در میلی لیتر به سیپروفلوکساسین، ۳۸ درصد ایزوله‌ها با MIC بیشتر از ۲۵۶ میلی گرم در میلی لیتر به آمیکاسین و ۷۳/۳ درصد از نمونه‌ها با MIC بیش از ۳۲ میلی‌گرم در میلی لیتر به ایمی‌پنم مقاوم بودند. براساس نتایج مشاهده شده آمیکاسین در مقایسه با سایر آنتی بیوتیک‌های مورد بررسی، بیشترین تاثیر ضد میکروبی را نشان داد و ۵۱/۳ درصد از کل سویه‌ها با MIC کوچک‌تر و برابر با ۱۶ میلی‌گرم در میلی لیتر نسبت به آن حساس بودند.

بحث

تحقیق نشان داد که مقاومت به داروهای کارباپنم (ایمی پنم، مروپنم) و مقاومت چندگانه در سویه‌های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از بخش‌های مختلف بیمارستان فوق تخصصی و جنرال امام رضا (ع) تبریز قابل توجه می‌باشد، طوری که بیشترین مقاومت را به نسبت به ایمی‌پنم، مروپنم (۹۸ درصد) و بیشترین حساسیت را نسبت به کلیستین (۸۹ درصد)، آمیکاسین و توبرامایسین (۵۰ درصد) داشته است. بر اساس نتایج این مطالعه MIC آنتی بیوتیک‌های تحت بررسی در اکثر سویه های مقاوم، در محدوده نسبتا بالا قرار گرفتند، به طوری که بیش از ۵۰ درصد سویه‌ها دارای MIC حداکثر غلظت آنتی بیوتیک تست شده بودند. این مسئله نشان می دهد که میزان MIC آنتی بیوتیک‌های تحت بررسی علیه اکثر ایزوله‌ها، در محدوده مقاوم و نسبتا بالا قرار دارد که مطابق با یافته‌های سایر مطالعات بر این نکته تاکید دارد که طیف MIC آنتی بیوتیک‌های مختلف در اسینتوباکتر بامانی طی دهه گذشته افزایش قابل توجهی داشته است (۱۰،۱۱).

براساس مطالعات گذشته، داروهای پیشنهادی برای درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری، پنی‌سیلین‌های وسیع الطیف و کارباپنم‌ها (ایمی‌پنم، مروپنم)، آمینوگلیکوزیدها (جنتامایسین، توبرامایسین)، سفالوسپورین‌ها (سفپیم، سفتازیدیم) و فلوروکینولون‌ها (سیپروفلوکسازین) بودند که امروزه نتایج حاصل از تحقیقات در کشورهای مختلف افزایش مقاومت به این آنتی بیوتیک‌ها را نشان می‌دهد (۹).

الگوهای مقاومت آنتی بیوتیکی در بین باکتری‌های پاتوژن بیمارستانی ممکن است به طور گسترده‌ای از یک کشور به کشور دیگر و یا در مناطق مختلف یک کشور متفاوت باشند. به طوری که گزارشات قبلی تحقیق ازسراسر جهان حاکی از وجود ۸۳/۹ – ۳۰ درصد اسینتوباکتر بامانی مقاوم به چند دارو میباشد (۱۲). از طرفی Ferreira و همکاران درسال ۲۰۱۱ دریافتند که ۶۸ درصد ایزوله ها در برزیل مقاوم به چند دارو و ۷۹ درصد به کارباپنم‌ها مقاوم می‌باشند (۱۳). که میزان مقاومت گزارش شده در مطالعه آنها نسبت به مطالعه حاضر کمتر می‌باشد.

در یک بررسی در شهر کاشان تعداد ۶۰ سویه اسینتوباکتر از ۴۰۰ بیمار بستری در بیمارستان های این شهر جدا شدند. این سویه‌ها به ترتیب بیشترین مقاومت را به آمیکاسین، توبرامایسین، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، تری متوپریم-سولفامتوکسازول و در نهایت ایمی پنم نشان دادند و ۶۶/۷ درصد نمونه ها مقاومت نسبت به چند دارو را نشان دادند (۱۴). پیمانی و همکاران در۲۰۱۲ در تبریز دریافتند که ۸۱ درصد ایزوله ها به کلاس های آنتی بیوتیکی بتالاکتام، آمینوگلیکوزیدها و کینولون ها مقاومت داروئی کامل یا حد واسط می باشد در مطالعه آنها درصد مقاومت به ایمی پنم ۶۸ درصد و مروپنم ۶۹ درصد بود (۱۵). در مطالعه گودرزی و همکاران در سال ۱۳۹۲در شهر تهران، ۸۳ درصد ایزوله های

اسینتوباکتربامانی مقاوم به چند دارو بودند و مقاومت به کارباپنم ها ۹۲ درصد بود که در این مطالعه ۹۸ درصد گزارش گردید (۱۶).

تفاوت در یافته‌ها ممکن است ناشی از تنوع در نمونه‌های بالینی مورد بررسی، زمان انجام مطالعه و استراتژی‌های درمان در هر منطقه جغرافیایی باشد. در مطالعه حاضر ۹۶/۷ درصد از ایزوله ها مقاوم به چند دارو بود که این میزان بسیار بالاتر از مطالعات قبلی صورت پذیرفته در سایر نقاط ایران می باشد. همچنین در مطالعه وحدانی و همکاران در سال ۱۳۹۱، مقاومت اسینتوباکتربامانی نسبت به مروپنم ۹۹ درصد، سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین ۹۸ درصد گزارش شد که با یافته‌های ما همخوانی دارد (۱۷). میزان مقاومت ایزوله‌های اسینتوباکتر نسبت به سیپروفلوکساسین دارای اهمیت است، زیرا در صورتی که ایزوله جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی نسبت به سیپروفلوکساسین حساس باشد، کاربرد بالینی سیپروفلوکساسین نسبت به کارباپنم‌ها بهتر است. از طرف دیگر، بسیاری از انواع اسینتوباکتر بامانی مقاوم به سیپروفلوکساسین، نسبت به آنتی بیوتیک‌های دیگر نیز مقاوم هستند. بنابراین، درمان این نوع عفونت‌ها باید از آنتی‌بیوتیک-های دیگری از قبیل داروی ترکیبی کارباپنم-سولباکتام، کلیستین و تایگی سیکلین استفاده نمود. در مطالعه حاضر به دلیل کمبود امکانات از دیسک تایگی سیکلین استفاده نشد.

بنابراین، بررسی میزان مقاومت ایزوله‌های اسینتوباکتر، اطلاعات کافی برای پزشکان در زمینه دستیابی به روش‌های مناسب برای درمان عفونت های ناشی از ایزوله‌های اسینتوباکتر را به همراه خواهد داشت (۱۸). بر طبق گزارش‌ها، اکثر اسینتوباکتربامانی جدا شده از نمونه‌های بالینی دارای مقاومت‌های بالای ۸۵ درصد به سیپروفلوکساسین بودند (۲۰-۱۸). با توجه به نتایج حاضر به نظر می رسد که مقاومت به اسینتوباکتربامانی به صورت دائمی در حال تغییر است لذا به کارگیری رژیم درمانی مناسب و استراتژی دقیق جهت مدیریت پیشگیری از عفونت های بیمارستانی ناشی از این باکتری بیش از پیش ضروری می نماید. از طرف دیگر با توجه به نتایج MIC ، بالا بردن غلظت آنتی بیوتیک در درمان در صورت رعایت سمیت آنتی بیوتیک می تواند تا حدودی در امر درمان کمک کننده باشد.

تشکر و قدردانی

از همکاری صمیمانه همکاران آزمایشگاه تحقیقاتی میکروبیولوژی دانشکده پزشکی و مسئول محترم آزمایشگاه بیمارستان امام رضا (ع) تبریز که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

REFERENCES

1. Curtis LT. Prevention of hospital acquired infections: review of non-pharmacological intervention. J Hosp Infect 2008;69: 204-19.
2. Lagamayo EN. Antimicrobial resistance in major pathogens of hospital acquired pneumonia in Asian countries. Am J Infect Control 2008; 36:101-108.
3. Wieczorek P, Sacha P, Hauschild T, Zórawski M, Krawczyk M, Tryniszewska E. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*--the role of AdeABC (RND family) efflux pump in resistance to antibiotics. Folia Histochem Cytobiol 2008; 46:257-67.
4. Neonakis IK, Spandidos DA, Petinaki E. Confronting multidrug-resistant Acinetobacter baumannii: a review. Int J Antimicrob Agents 2011; 37:102-109.
5. Garnacho-Montero J, Amaya-Villar R. Multiresistant *Acinetobacter baumannii* infections: epidemiology and management. Curr Opin Infect Dis 2010; 23:332-39.
6. Koneman EW, editor. Color atlas textbook of diagnostic microbiology. 4th ed. New York: Lippincott Company; 1992.
7. Washington JA, editor. Laboratory procedures in clinical microbiology. 2nd ed. New York: Lippincott Company; 1985. P.281-312.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A9 and informational supplement M100-S22, National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2012; 32.
9. Prashanth K, Badrinath S. In vitro susceptibility pattern of *Acinetobacter* species to commonly used cephalosporins, quinolones, and aminoglycosides. Indian J Med Microbiol 2004; 22: 97-103.
10. Amor A, Barguellil F, Othmani S, Bahri M. Infections a` *Acinetobacter baumannii* et apport bacte´riologique. Semin Hop 1993; 69: 732-35.

11. Vila J, Marcos A, Marco F, Abdalla S, Vergara Y, Reig R, et al. In vitro -lactamases, aminoglycoside- modifying enzymes, antimicrobial production of and chloramphenicol acetyltransferase by and susceptibility of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 1993; 37: 138-41.

12. Kwmpf M, Rolain JM. Emergence of resistance to carbapenems in Acinetobacter baumanii in Europe: clinical impact and therapeutic options. Int J Antimicrob Agents 2012; 39:105-14.

13. Ferreira AE, Marchetti DP, Cunha GR, Oliveira LM, Fuentefria DB, Dall Bello AG, et al. Molecular characterization of clinical multiresistant isolates of *Acinetobacter* sp. From hospitals in Porto Alegre, State of Rio Grande do Sul, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 2011;44:725-30.

14. Farahani Kheltabadi R, Moniri R, Shajari GR, Nazem Shirazi MH, Musavi SGA, Ghasemi A, et al. Antimicrobial susceptibility patterns and the distribution of resistance genes among *Acinetobacter* species isolated from patients in Sshahid Beheshti Hospital, Kashan. Feyz 2009; 12: 61-67. [In Persian]

15. Peymani A, Farajnia S, Nahaei MR, Sohrabi N, Abbasi L, Ansarin K, et al. Prevelance of class 1 integron among multidrugresistant *Acinetobacter baumannii* in Tabriz, North West of Iran. Pol J Microbal 2012;61:57-60.

16. Goudarzi H, Douragh M, Dabiri H, ghalavand Z. study gene expression and function of efflux pumps in multidrug-resistant isolates. Journal of Medicine Shaheed Beheshti University of Medical Sciences 2013: 37:107-12. [In Persian]

17. Vahdani M, Azimi L, Asghari B, Bazmi F, RastegarLari A. Phenotypic screening of extendedspectrum ß-lactamase and metallo-ß-lactamase in multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa from infected burns. Ann Burns Fire Disasters 2012;25:78- 81.

18. Lagamayo EN. Antimicrobial resistance in major pathogens of hospital acquired pneumonia in Asian countries. Am J Infect Control 2008; 36:101-108.

19. Afzal-Shah M, Livermore DM. Worldwide emergence of carbapenem-resistant Acinetobacter spp. J Antimicrob-Chemother 1998; 41: 576-77.

20. Vikas M, Sinha S, Singh NP. Multi drug Resistant Acinetobacter. J Glob Infect Dis 2010; 2:420-27.