

## مطالعه حساسیت استافیلوکهای طلائی در برابر وانکو مایسین جدا شده از نمونه های کلینیکی در شفاخانه حوزه وی و کلینیکهای خصوصی شهر مزار شریف

### چکیده

وانکو مایسین در تداوی انتانات ایجاد شده توسط استافیلوکهای طلائی مقاوم به متی سیلین بطور وسیعی استفاده میشود که این امر موجب افزایش مقاومت به وانکو مایسین و گسترش نمونه های استافیلوکهای طلائی مقاوم ناهمگون نسبت به وانکو مایسین ، استافیلوکهای طلائی دارای مقاومت حدواسط به وانکو مایسین و استافیلوکهای طلائی مقاوم به وانکو مایسین در قسمتهای مختلف دنیا شده و نگرانی بزرگی را در مورد نمونه های کلینیکی به وجود آورده است . این مطالعه جهت ارزیابی احتمال حضور این نمونه ها و میزان آن در شفاخانه های دولتی و خصوصی شهر مزار شریف انجام شده است .

**روش بررسی :** این تحقیق بالای ۱۰۰ نمونه استافیلوکهای طلائی از مریشان بستری در شفاخانه های دولتی و خصوصی شهر مزار شریف در مدت ۱۶ ماه تجرید و ارزیابی گردیده است .

تمامی نمونه ها به کمک تستهای کواگولاز و کاتالاز تعیین هویت شد و سپس حساسیت نمونه ها در برابر وانکو مایسین به روش دیسک دیفیوژن و MIC (Minimum inhibitory concentration) آنها با روش E-test تعیین شد و نتایج با هم مقایسه گردید .

**یافته ها :** از جمله ۱۰۰ نمونه استافیلوکهای طلائی بررسی شده ۹۸ فیصد آنها به وانکو مایسین حساس بوده اند در تست حساسیت به ۱۱ نوع انتی بیوتیک با روش دیسک دیفیوژن نیز حساسیت نمونه ها به ترتیب ذیل بوده است :

وانکو مایسین (۱۰۰٪) ، ریفامپین (۱۰۰٪) ، سیپروفلوکساسین (۱۰۰٪) ، کوتریموکسازول (۱۰۰٪) ، سفالوتین (۷۴٪) ، متی سیلین (۶۲٪) ، کلرامفنیکل (۴۴٪) ، کلیندامایسین (۴۳٪) ، جنتامیسین (۳۶٪) ، اریترومایسین (۳۱٪) و پنی سیلین G (۱٪) .

## نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می دهد که از وانکومایسین هنوز می توان در تداوی استافیلو کوکهای طلایی استفاده کرد ولی با توجه به اینکه در میان فقط ۱۰۰ نمونه کلینیکی بررسی شده مواجه با دو نمونه دارای مقاومت ناممگون نسبت به وانکومایسین (۲٪) بودیم و نیز ظهور نمونه های استافیلو کوکهای طلایی با مقاومت حدواسط و مقاومت کامل در برخی از کشور های جهان ، انجام تستهای حساسیت به روش تعیین MIC قبل از شروع تداوی ، جهت مشخص شدن حساسیت نمونه های مورد آزمایش در مقابل وانکومایسین ، در ردیابی نمونه های مقاوم احتمالی و کاهش بروز مقاومت های بیمارستانی و جلوگیری از شیوع نمونه های مقاوم اهمیت زیادی دارد .

واژه های کلیدی: استافیلو کوکهای طلایی، حساسیت به آنتی بیوتیک ، وانکومایسین ، E- test

## مقدمه

اولین نمونه استافیلو کوکهای طلایی با کاهش حساسیت به وانکومایسین (MIC= mg/ml) در سال ۱۹۹۷ از جاپان گزارش شد (۱) .

که این نمونه ها را استافیلو کوکهای طلایی دارای مقاومت حد اوسط به وانکومایسین می نامند ، در جولای سال ۲۰۰۲ یک نمونه از استافیلو کوکهای طلایی مقاوم به وانکومایسین از آمریکا گزارش گردید (۲) .

اغلب نمونه های VISA و VRSA در نمونه های تجرید شده استافیلو کوکهای طلایی مقاوم به متی سیلین مشاهده می گردد (۳) تمامی نمونه ها VRSA تا به امروز دارای جن مقاومت به وانکومایسین (VanA) بوده اند که بر اساس شواهد موجود نمونه های استافیلو کوکهای طلایی مقاوم ، این جنهای VanA را از گونه های انتروکوکوس دریافت می کند (۴) .

مقاومت به وانکومایسین در استافیلوکوکهای طلائی بدلیل تغییراتی در جدار حجروی باکتری می باشد . البته میکانیزم کاهش حساسیت به وانکومایسین در نمونه های VISA دیوار حجروی ضخیمی دارند که وانکومایسین به گیرنده های دیوار حجروی در قسمت بیرونی متصل و عملکرد آن مهار می شود (۵).

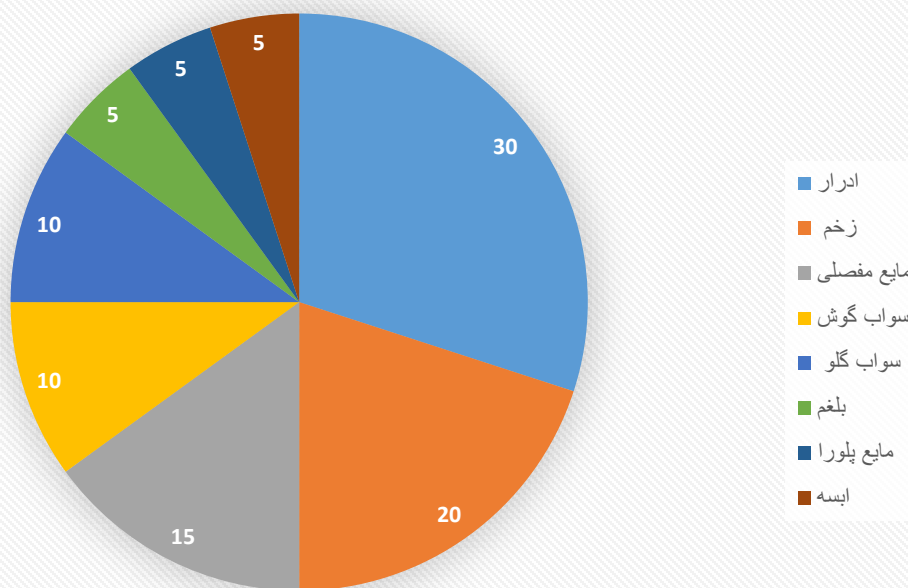
نقش پروتین های متصل شونده به پنی سیلین در مقاومت به وانکومایسین مشخص نشده ولی حضور آن جهت ایجاد مقاومت ضروریست (۶) محدودیتهای تداوی در انتانات ناشی از VISA/ VRSA وجود دارد و لست بعضی از مواد ضد میکروبی شامل ریفامپین ، جنتامیسین ، ایمی پنم، کلرامفنیکل ، تری متو پریم – سولفامتو کسازول و تتراسایکلین است (۷) .

در حال حاضر دسته جدیدی از انتی بیوتیکها شامل داپتومایسین ، لینزولید – اگرازولیدینون جهت تداوی نمونه های استافیلوکوکهای طلائی با مقاومت چندگانه استفاده می شود (۸) .

با توجه به اینکه اخیراً نمونه هایی از استافیلوکوکهای طلائی به بصورت حد اوسط مقاوم شده یا نمونه هایی که مقاومت کامل در برابر وانکومایسین دارند ، شناسایی شده اند ، لذا تعیین وضعیت نمونه های کشور ما از اهمیت خاصی برخوردار است . این مطالعه جهت بررسی حساسیت نمونه های استافیلوکوکهای طلائی تجرید شده از نمونه های کلینیکی نسبت به وانکومایسین و ارزیابی حضور VRSA ، VISA و در شهر مزار شریف انجام شده است.

## مواد و روش ها

بتعداد ۱۰۰ نمونه استافیلوکوکهای طلائی در طول مدت ۱۶ ماه یعنی از اول ماه ثور ۱۳۹۴ الی اخیر سنبله ۱۳۹۵ از نمونه های کلینیکی شفاخانه حوزه وی شهر مزار شریف، شفاخانه های خصوصی الفلاح ، مولانا ، آفتاب ، حکیمی و کلینیکهای شخصی دوکتوران در شهر مزار شریف جمع آوری و مورد مطالعه قرار گرفته که منابع و تعداد نمونه های تجرید شده مورد مطالعه در جدول ۱ نمایش داده شده است .



گراف شماره (۱) منابع و تعدا نمونه های مرضی جدا شده استافیلوکوکها

بعد از جمع آوری نمونه ها ، بر روی محیط های کشت بلاد آگار و مانیتول سالت آگار کشت شده و مدت ۲۴ ساعت به حرارت ۳ درجه سانتی گرید در انکوبیتور قرار داده شده سپس کالونی ها از نظر رنگ آمیزی گرام ، تست کاتالاز و کواگولاز مورد تایید قرار گرفته و تستهای حساسیت انتی بیوتیکی انجام شد (۱۱ و ۱۲) لازم به ذکر است که کلیه نمونه ها از مریضانی جدا شده بود که در آنها استافیلوکوکهای طلائی عامل اصلی بیماری بوده است .

حساسیت تمام نمونه های آزمایشی و نمونه استاندارد در برابر وانکومايسين به روش E-test در برابر دیسک آگار دیفیوژن انجام شد. روش تعیین MIC بوسیله E-tests ترکیبی از روش های دیسک دیفیوژن و تعیین MIC می باشد. در این روش انتی بیوتیک بر اساس غلظت روی دسک کاغذی قرار گرفته است. بر روی محیط کشت مواد هینتون آگار که باکتری استافیلوکوکوس اوریوس با غلظت ۵، ۱۰، ۲۰ مک فارلند بر روی آن کشت داده شده نوار E-test بر روی محیط کشت قرار گرفته و بعد از ۲۴ ساعت انکوبیشن محل شروع ها سازه عدم رشد بعنوان MIC در نظر گرفته می شود. (۹)

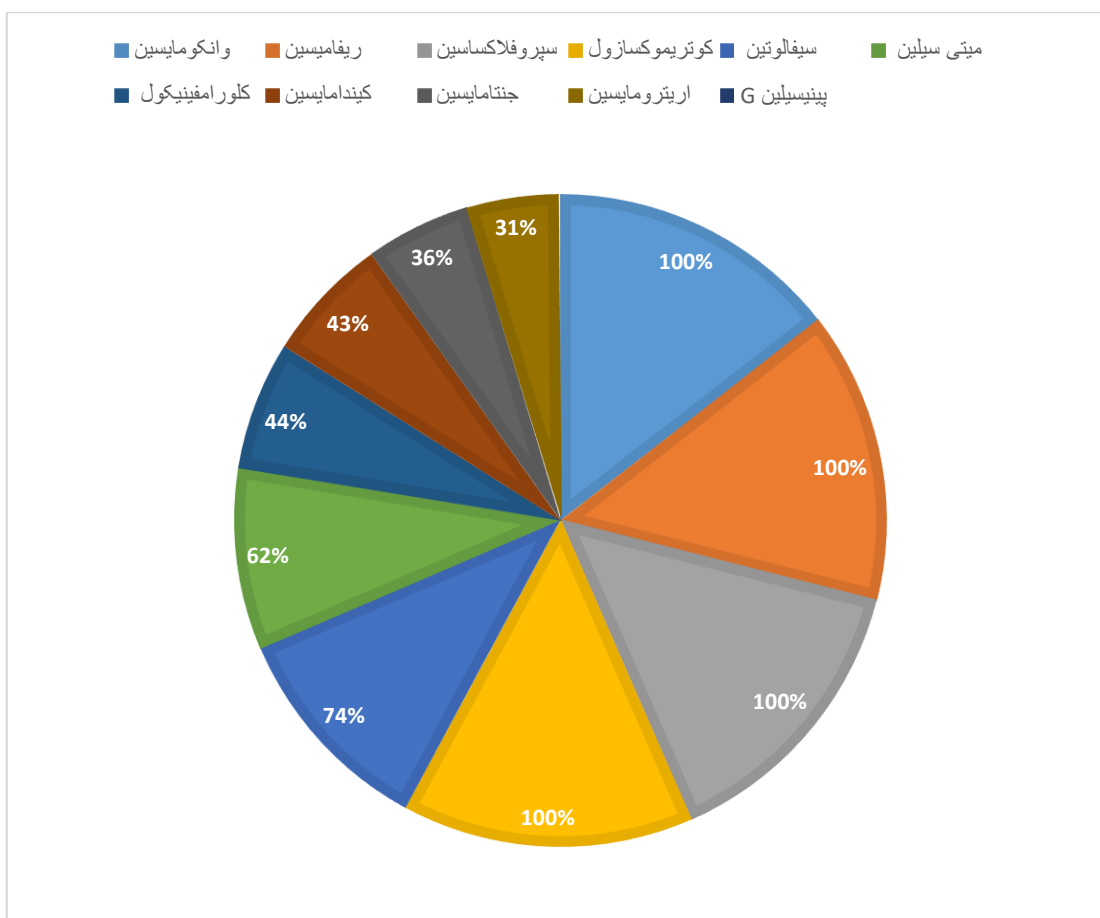
همچنین باکتریهای آزمایشی در برابر ۱۰ نوع آنتی بیوتیک اریترومايسين، پنی سیلین، جنتاميسين، ریفامپین، سیپروفلوکساین، سفالوتین، کلرامفنیکل، کلیندامایسین، کوتریموکسازول، متی سیلین و وانکومايسين به روش دیسک آگار دیفیوژن انتی بیوگرام شدند و قطر ساحات عدم رشد بر اساس جدول انیستیتوت ستندرد های کلینیکی ولاپراتواری (CLSI) اندازه گیری شدند.

## یافته ها

بر اساس رهنمود های CLSI، نمونه های آزمایشی بر اساس مقادیر MIC به ۳ گروه تقسیم می شوند: نمونه های حساس به وانکومايسين با  $MIC < 4 \text{ mg/ml}$  که در این مطالعه ۹۸ فیصد نمونه های آزمایشی را شامل می شد. نمونه های با مقاومت حدواسط با  $MIC < 16 \text{ mg/ml}$  که در نمونه های آزمایشی مورد شناسایی قرار نگرفت. نمونه های مقاوم (VRSA) با  $MIC > 32 \text{ mg/ml}$  در این مطالعه شناسایی نشد، دامنه اندازه گیری MIC با روش E-test در محدوده بین  $16-256 \text{ mg/ml}$  فیصد بود.

در این مطالعه بیشترین مقدار MIC برابر با  $4 \text{ mg/ml}$  بدست آمد. عدد ۲ ازدیاد مقادیر MIC در ۱۰۰ نمونه استافیلوکوکهای طلایی مورد آزمایش را نشان می دهد. در تست حساسیت به ۱۱ نوع انتی بیوتیک با روش دیسک آگار دیفیوژن نیز، حساسیت نمونه ها به ترتیب ذیل بود:

وانکومايسين (۱۰۰٪)، ریفامپین (۱۰۰٪)، سیپروفلوکساین (۱۰۰٪)، کوتریموکسازول (۱۰۰٪)، سفالوتین (۷۴٪)، متی سیلین (۶۲٪)، کلرامفنیکل (۴۴٪)، کلیندامایسین (۴۳٪)، جنتاميسين (۳۶٪)، اریترومايسين (۳۱٪) و پنی سیلین G (۱٪). که بطور شیماتیک در جدول شماره ۲ نمایش داده شده است.



گراف شماره (۲) فیصدی موثریت انتی بیوتیکها های مختلف در انتانات استافیلوکوکی

### پیشینه:

بعد از گزارش اولین مورد VRSA در جاپان در سال ۱۹۹۷، گرچه انتشار نمونه های VRSA و VISA در سطح پایینی باقیمانده است، اما در بسیاری از کشورها نمونه های استافیلوکوکهای طلائی بصورت *S. aureus* heterogeneous vancomycin-intermediate (hVISA) در حال افزایش است (۱۰) گزارشهای وجود دارد که نشان می دهند عدم موفقیت در تداوی با وانکوماپسین باعث بوجود آمدن نمونه های hVISA است (۱۶ و ۱۷).

البته تست های مورد استفاده جهت بررسی حساسیت استافیلوکوکهای طلائی به وانکومایسین شامل روشهای تعیین MIC غیر اتوماتیک (gradient diffusion E-test reference broth) (microdilution agar) با استفاده از استاندارد ۰,۵ مک فارلند ومدت ۲۴ ساعت گذاشتن این نمونه ها در انکوبیتور به حرارت ۳۷ درجه سانتی گرید بوده است (۱۸).

بنابراین روش دیسک آگار دیفیوژن یک تست غیر قابل قبول در شناسایی مقاومت به وانکومایسین می باشد و برای شناسایی نمونه های hVISA از روش population analysis استفاده می شود (۲۰).

تا سال ۲۰۰۱ فقط ۸ مورد انتانات با (intermediate S. aureus GISA (Glycopeptide در جهان گزارش شده بود. مهمترین آنها مریضانی بودند که قبلاً مبتلا به انتان MRSA مربوط به کانتر و همودیالیز مزمن بوده و به مدت طولانی تحت تداوی با وانکومایسین قرار داشتند (۲۱).

نتایج موارد گزارش شده در جهان تا سال ۲۰۰۵ در جدول ۱ آورده شده است (۲۶-۲۲).

بر اساس مطالعات انجام شده در ۱۲ کشور آسیایی در سال ۲۰۰۴ نمونه های تجرید شده hVISA جمع آوری شدند که میزان آنها در هر کشوری مختلف بوده، همانطور که در جدول ۲ مشاهده می شود از

۱۳۵۷ ایزوله کلینیکی جمع آوری شده MRSA که تست (Brain Heart Infusion BHIVA

Vancomycin agar) در مورد آنها انجام گرفت، حدود ۳۴۷ ایزوله MRSA (۲۶/۶٪) در این پلیتها

رشد کردند که نمونه های مثبت جمع آوری شده از کشورهای کوریای جنوبی (۴۲٪) و جاپان (۲۹/۹٪)

بیشتر از محل های دیگر بود. در حالیکه در مورد نمونه های جمع آوری شده از سنگاپور، سریلانکا و

عربستان سعودی کمتر از ۱۰٪ بود از ۳۴۷ نمونه مثبت، ۵۸ نمونه (۴/۳٪) از کل نمونه های MRSA

بعنوان hVISA تایید شدند که در صد آن در کشورهای مختلف به شرح زیر است:

جاپان (۸,۲٪) هند (۶,۳٪) کره جنوبی (۶,۱٪) تایلند (۲,۱٪) فیلیپین (۳,۶٪) ویتنام (۲,۴٪) و سنگاپور

(۲,۳٪) اما هیچ نمونه در چین، اندونزی، عربستان سعودی، سریلانکا، و تایوان یافت نشد (۲۶).

جدول شماره (۱) سویه های VISA ، VRSA و GISA در کشورهای مختلف جهان (۲۲-۲۶)			
کشور و یا ایالت	نوع مقاومت	MIC	سال تجزید
جاپان	GISA	۸gm /L	۱۹۹۶
جاپان	VISA	۳۲ gm/L	۱۹۹۷
میشیگان امریکا	GISA	۸gm/L	۱۹۹۷
نیوجرسی امریکا	GISA	۸gm/L	۱۹۹۷
نیویارک امریکا	GISA	۸gm/L	۱۹۹۷
فرانسه	GISA	۸gm/L	۱۹۹۸
عمان	GISA	۸gm/L	۱۹۹۸
کوریا	GISA	۸gm/L	۱۹۹۹
مینوسوتای امریکا	GISA	۸gm/L	۲۰۰۰
مریلند امریکا	VISA	۸gm/L	۲۰۰۰
اوهایو امریکا	VISA	۸gm/L	۲۰۰۱
پنسلوانیای امریکا	VISA	۶۴ µg/ml	۲۰۰۲
میشیگان امریکا	VISA	۶۴ µg/ml	۲۰۰۲
تایلند	h-ISA	۴ gm/L	۲۰۰۴
نیویارک امریکا	VISA	۲۵۶ µg/ml	۲۰۰۴
برازیل	VISA	۴gm/L	۲۰۰۵

بر اساس این گزارشها ، سرعت شیوع hVISA از صفر فیصد تا ۷۳,۷٪ متغیر بوده است (۱۰ و ۲۱).

در میان نمونه های MRSA در کوریای جنوبی ، hVISA با فراوانی پایینی ( صفر تا ۰/۵٪) یافت شده است (۲۸). با این وجود ، داده ها نشان می دهند که ۶/۱٪ از ایزوله های MRSA بصورت hVISA بودند .



بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق مشخص می شود که در میان نمونه های استافیلوکوکهای طلایی جدا شده از شفاخانه های شهر مزار شریف مقاومت کامل در برابر وانکومایسین وجود ندارد و فقط در مورد hVISA شناسایی شد که یکی از آنها مربوط به نمونه شزن در بخش ICU و دیگری مربوط به زخم در بخش صدر بود، اما به توجه به افزایش نمونه های تجرید شده استافیلوکوکهای طلایی مقاوم به وانکومایسین در جهان، باید استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده از مریضان بویژه مریضان بستری و نیز پروسه تداوی بصورت دقیق از لحاظ مقاوم و حساس بودن به وانکومایسین کنترل شوند. روشهای دقیق تعیین مقاومت به وانکومایسین مثل E-test باید در لابراتوار های کلینیکی امکان پذیر و رایج گردد و کارکنان این لابراتوار ها باید معاینات لازم را در این مورد طی کرده و با اهمیت موضوع آشنا شوند. لازم است دو کتوران و متخصصین انتانی اهمیت شناسایی hVISA، VISA، VRSA را در انتانات ناشی از استافیلوکوکهای طلایی در نظر گرفته و سعی کنند مریضان را از این نقطه نظر مورد بررسی قرار دهند و با انجام تست حساسیت میکروبی دقیق یعنی انجام موفقانه پروسه انتی بیوگرام بر روی باکتریهای تجرید شده از مریضان، اقدام به تداوی های موثر و مفید نمایند. همچنین لازم است با استفاده از روشهای جدید ضد عفونی محیط بویژه در شفاخانه، انتقال موارد VISA و VRSA را در بین مریضان بستری به حداقل رسانید.

## نتیجه گیری

گرچه در این مطالعه نمونه های VISA و VRSA در شهر مزار شریف مورد شناسایی قرار نگرفت و این امر یک یافته امیدوار کننده در تداوی انتانات ناشی از استافیلوکوکهای طلایی کلینیکی در شهر مزار شریف و ولایات همجوار آن میباشد ولی با توجه به اینکه در این تحقیق فقط تعداد محدود از نمونه های کلینیکی مورد مطالعه قرار گرفته و در میان این تعداد محدود مواع با دو ایزوله ی hVISA بودیم (۲٪) و با عنایت با گزارش های موجود از سایر کشور ها و بویژه از کشور های آسیایی در جهت شناسایی نمونه های VISA و VRSA و انجام مطالعات بیشتر بویژه با تعداد ایزوله های بیشتر توصیه می گردد.