دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال هفدهم، شماره ۴، صفحه ۶۵۷– ۶۴۷ (مهر و آبان ۱۳۹۳)

ISMJ 2014; 17(4): 647-657

الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی میکروارگانیسم‌های جدا شده از بیماران بستری در بخش PICU و شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و باکتری‌های مولد ESBL با استفاده از روش‌های فنوتیپی

شهلا عباس‌پور [۱]، جلال مردانه [۲*]، ساناز ده‌باشی [۳]، سیده سمیه جاسمی [۳]

[۱] آزمایشگاه میکروب‌شناسی، بیمارستان بهرامی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۲] مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی بالینی استاد البرزی، بیمارستان نمازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز
[۳] گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

(دریافت مقاله: ۹۱/۳/۲۹- پذیرش مقاله: ۹۱/۴/۲۶)

چکیده

زمینه: عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان از موضوعات مهم در سلامت بیمار می‌باشد. طیفی از ارگانیسم‌های گرم منفی مسئول عفونت‌های اکتسابی از جامعه هستند. خانواده انتروباکتریاسیه در این بین در میان همه شایع‌ترین گروه شناخته شده می‌باشند. عفونت‌های ناشی از این سویه‌ها همراه با یافته‌های بالینی شدید جبران‌ناپذیر همراه بوده که منجر به مرگ‌ومیر، بستری شدن طولانی مدت و افزایش هزینه‌های درمانی و از سویی تأخیر در به‌کارگیری درمان مؤثر، می‌گردد. هدف از این مطالعه بررسی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی میکروارگانیسم‌های جدا شده از بیماران بستری در بخش PICU و شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و باکتری‌های مولد ESBL با استفاده از روش‌های فنوتیپی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از بیماران بستری در بخش PICU بیمارستان بهرامی تهران بسته به ارگان درگیر شونده نمونه‌های مختلف جمع‌آوری شد. برای جداسازی باکتری‌ها از نمونه‌های بیماران، کشت بر روی محیط‌های انتخابی و غیر انتخابی انجام شد. پس از شناسایی ارگانیسم‌ها به کمک آزمایش‌های بیوشیمیایی، آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن انجام شد. شناسایی فنوتیپی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) با استفاده از دیسک سفوکسیتین انجام شد. سویه‌های تولیدکننده ESBL با استفاده از دیسک‌های سفتازیدیم (CAZ) و سفتازیدیم/کلاوولانیک اسید (CAZ/CLA) شناسایی شدند.

یافته‌ها: شایع‌ترین ارگانیسم جداشده از کل نمونه‌های بالینی ارسال شده به آزمایشگاه، اشریشیاکلی (۲۴ مورد) و پس از آن به ترتیب پسودوموناس آئروژینوزا (۹ مورد) و استافیلوکوکوس اورئوس (۸ مورد) بود. از بین ۸ سویه استافیلوکوکوس اورئوس ایزوله شده از نمونه‌های مختلف بالینی ۶ سویه (۷۵ درصد) مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) بودند. از بین ۵۲ باکتری گرم منفی جداشده ۵ مورد (۹/۶ درصد) سویه‌ها ESBL بوده است.

نتیجه‌گیری: روش‌های پیشگیری استاندارد جهت جلوگیری از گسترش مقاومت ضدمیکروبی در بخش‌های مراقبت ویژه شامل رعایت بهداشت دست، استفاده از پوشش‌های مناسب در هنگام کار با این بیماران عفونی شده و کلونیزه شده با این سویه‌ها می‌باشد. از وسایل اختصاصی و تجهیزات برای این قبیل بیماران باید استفاده گردد. افراد کلونیزه شده یا عفونی شده در اتاق‌های مجزا و یا بخش‌های مخصوص این بیماران قرار داده شوند. بررسی فعال و شناسایی افراد کلونیزه شده با این سویه‌ها که به‌عنوان مخزن عمل می‌کنند، ضروری است.

واژگان کلیدی: PICU، حساسیت آنتی‌بیوتیکی، سویه‌های MRSA، سویه‌های تولیدکننده ESBL.

* شیراز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی بالینی استاد البرزی
Email: Jalalmardaneh@yahoo.com

مقدمه

عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان از موضوعات مهم در سلامت بیمار می‌باشد. تخمین زده می‌شود که در سال ۲۰۰۲ به‌طور کلی ۱/۷ میلیون مورد عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان رخ داده است (۴/۵ مورد در هر ۱۰۰ پذیرش) (۱) و تقریباً ۹۹۰۰۰ مورد مرگ در نتیجه یا مرتبط با عفونت اکتسابی از بیمارستان است (۲).

عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان ششمین عامل منجر شونده به مرگ در ایالات متحده آمریکا می‌باشند. همچنین داده‌های مشابهی از اروپا گزارش شده است (۳).

عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی همراه با نگرانی ویژه‌ای می‌باشند. این ارگانیسم‌های گرم منفی در فراتنظیمی یا اکتساب ژن‌های کدکننده مکانیسم‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی بسیار کارآمد هستند. علاوه‌بر این، آن‌ها دارای مکانیسم مقاومت می‌باشند و بیشتر از چندین مکانیسم علیه یک آنتی‌بیوتیک یا از یک مکانیسم تنها چندین آنتی‌بیوتیک را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۴).

عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان بیشتر مرتبط با وسایل پزشکی تهاجمی یا عمل‌های جراحی می‌باشند. عفونت‌های مجرای تنفسی تحتانی و گردش خون کشنده‌ترین و عفونت‌های مجرای ادراری شایع‌ترین می‌باشند (۴-۲).

داده‌های اخیر شبکه مراقبت‌های بهداشتی ملی آمریکا نشان داده که باکتری‌های گرم منفی مسئول بیش از ۳۰ درصد عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان هستند و این باکتری‌ها به‌ویژه در موارد پنومونی مرتبط با ونتیلاتور (۴۷ درصد) و عفونت‌های مجرای ادراری (۴۵ درصد) غالب هستند (۵).

در بخش‌های ICU در ایالات متحده آمریکا باکتری‌های گرم منفی در حدود ۷۰ درصد این گونه عفونت‌ها را سبب شده است و داده‌های مشابهی از دیگر نقاط جهان گزارش شده است (۶). طیفی از ارگانیسم‌های گرم منفی مسئول عفونت‌های اکتسابی از جامعه هستند. در این بین خانواده انتروباکتریاسیه در میان همه شایع‌ترین گروه شناخته شده می‌باشند. متأسفانه ارگانیسم‌های مقاوم به چند دارو مانند پسودوموناس آئروژینوزا، اسینتوباکتر بومانی و انتروباکتریاسیه‌های تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBL)[1] یا کاربا‌پنمازها[2] در تمام جهان در حال افزایش هستند (۴). ظهور کلبسیلا پنومونیه و سراشیا مارسه سنس بیمارستانی تولید کننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در ابتدا در حدود ۳۰ سال پیش گزارش گردید (۷)، شیوع عفونت ناشی از این سویه‌های تولید کننده ESBL نه تنها در بیمارستان‌ها بلکه در جوامع نیز در حال افزایش است (۱۰-۸). در ایالات متحده آمریکا و اروپا استفاده بیش از اندازه از داروهای ارزان قیمت مانند سفالوسپورین‌های منجر به پدید آمدن ارگانیسم‌های تولید کننده ESBL شده است (۱۱ و ۱۲).

عفونت‌های ناشی از این سویه‌ها همراه با یافته های بالینی شدید و جبران‌ناپذیر است که منجر به مرگ و میر، بستری شدن طولانی مدت و افزایش هزینه‌های درمانی و از سویی دیگر تأخیر در به‌کارگیری درمان مؤثر، می‌گردد (۱۶-۱۳).

در بین باکتری‌های گرم مثبت بیماری‌زا شایع سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA)[3] از عوامل عمده ایجادکننده عفونت مرتبط با مراقبت‌های بهداشتی می‌باشند (۱۷). عفونت ناشی از این باکتری‌ها معمولاً به‌وسیله

[1] Extended-Spectrumβ-Lactamase
[2] Carbapenemases
[3] Methicillin-ResistantStaphylococcusaureus

کلونیزاسیون غشاءهای مخاطی، پوست، زخم‌ها یا مجرای معدی روده‌ای آغاز می‌گردد. کلونیزاسیون با روش‌های غیرمستقیم انتقال بیمار به بیمار MRSA، دست‌های کارکنان مراقبت بهداشتی یا وسایل آلوده و سطوح محیطی آلوده رخ می‌دهند (۱۸ و ۱۹).

در موارد نادری انتقال ارگانیسم به بیمار از راه خود کارکنان مراقبت‌های ویژه که با ارگانیسم کلونیزه شده‌اند به‌طور مستقیم رخ می‌دهد (۲۰). هدف از این مطالعه بررسی عفونت باکتریال بخش PICU[4] و بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جدا شده و همچنین شناسایی فنوتیپی سویه‌های تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف و سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقطعی که در یک سال از خرداد سال ۱۳۹۰ تا خرداد ۱۳۹۱ انجام شد، از بیماران بستری در بخش PICU بیمارستان بهرامی تهران پس از آگاه ساختن بیماران از اهداف مطالعه و کسب رضایت کتبی از آن‌ها و بر اساس پرسشنامه تنظیم شده، بسته به ارگان درگیر شونده نمونه‌های مختلف به‌منظور بررسی از نظر عوامل عفونی آزمایشگاهی ارسال گردید. نمونه‌های خون در محیط‌های مخصوص کشت خون کشت داده شد و سپس ساب کالچر بر روی محیط‌های بلاد آگار[5]، شکلات آگار[6]، مک کانکی آگار (MAC)[7] و EMB انجام گشت و بسته به ارگانیسم‌های جداشونده آزمایش‌های تشخیصی مربوطه استفاده شد. نمونه‌های مدفوع کودکان دارای اسهال حاد به منظور جداسازی باکتری‌های بیماری‌زا مهم در ظرف‌های مخصوص جمع‌آوری گردید و در صورت تأخیر در ارسال به آزمایشگاه، نمونه در محیط انتقالی کری بلایر[8] جمع‌آوری و سپس به آزمایشگاه فرستاده شد. نمونه از نظر قوام، رنگ، موکوس، خون به صورت ماکروسکوپی و از نظر داشتن گلبول‌های قرمز و سفید به صورت میکروسکوپی با استفاده از روش wet mount بررسی شدند. آنگاه نمونه‌هایی بر روی محیط غنی کننده براث منتقل‌شده و پس از ۶ ساعت از این محیط کشت بر روی انتخابی و افتراقی نظیر مک کانکی آگار، هکتون انتریک آگار[9]، XLD و سالمونلا-شیگلا آگار (SS Agar)[10] انجام شد. دیگر نمونه‌های ارسالی پس از پردازش، کشت بر روی محیط‌های معمول میکروب‌شناسی انجام و در صورت نیاز از محیط‌های افتراقی و انتخابی مربوطه استفاده گردید. سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) در ابتدا با به‌کارگیری روش‌های استاندارد بیوشیمیایی و مرسوم جهت تشخیص اختصاصی استافیلوکوکوس اورئوس از جمله رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، کوآگولاز، DNase، آزمایش حساسیت به نوبیوسین تعیین هویت گردیدند. سپس به‌منظور شناسایی فنوتیپی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) بر اساس دستورالعمل CLSI (۱۳)، از دیسک سفوکسیتین استفاده گردید. به این منظور از سویه مورد نظر غلظت ۰/۵ مک فارلند تهیه شد و بر روی پلیت مولر هینتون آگار[11] با سواب کشت داده و دیسک سفوکسیتین (۳۰ میکروگرم) بر روی پلیت

[4] Pediatric Intensive Care Unit
[5] Blood Agar
[6] Chocolate Agar
[7] MacConkey Agar
[8] Cary-Blair
[9] Hektoen Enteric Agar
[10] Salmonella Shigella Agar
[11] Mueller Hinton Agar

قرار داده شد و در دمای ۳۵-۳۳ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید و سپس اندازه هاله ایجادشده خوانده شد. برای استافیلوکوکوس اورئوس هاله با اندازه ≥۲۲ به‌عنوان حساس و هاله ≤۲۱میلی‌متر به‌عنوان مقاوم در نظر گرفته شد (۱۳).

به‌منظور شناسایی استرپتوکوکوس‌های گروه D (گونه‌های انتروکوکوس) در سطح جنس، کشت بر روی محیط‌های بلاد آگار و شکلات آگار انجام شد و کلونی‌های رشد نموده بر روی محیط‌ها با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم، نوع همولیز ایجاد شده روی بلاد آگار، و آزمایش‌های بیوشیمیایی کاتالاز، رشد بر روی بایل اسکولین آگار[12] و تیره نمودن محیط، رشد در حضور ۶/۵ درصد NaCl، توانایی رشد در ۴۵ درجه سانتی‌گراد و مقاومت به اپتوچین مورد تأیید قرار گرفتند.

باکتری‌های گرم منفی ایزوله شده از نمونه‌های ارسالی به‌کمک آزمایش‌های مورفولوژی و بیوشیمیایی شامل رنگ‌آمیزی گرم، اکسیداز، کاتالاز، حرکت، سیترات، TSI، اندول، متیل رد (MR)، ووگس پروسکوئر (VP)، اوره، اورنیتین دکربوکسیلاز (OD)، لیزین دکربوکسیلاز (LD)، آرژینین دهیدروژناز (AD)، مورد شناسایی قرار گرفتند (محیط‌های مورد استفاده ساخت شرکت مرک آلمان) و باکتری شیگلا به کمک آنتی‌سرم‌های اختصاصی با استفاده از آگلوتیناسیون روی لام تعیین سروتایپ شدند.

به‌منظور تعیین الگوی حساسیت و مقاومت ایزوله‌ها به گروه‌های آنتی‌بیوتیکی گوناگون (ساخت شرکت Span اسپانیا) مؤثر بر روی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت، آزمایش آنتی‌بیوگرام با استفاده از روش دیسک دیفیوژن بر اساس آنچه توسط سازمان استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی ۲۰۱۰(CLSI)[13] جهت انجام این آزمایش تعریف شده، انجام شد. در این روش پس از تهیه رقت ۰/۵ مک فارلند از باکتری در محیط تریپتی کیس سوی براث (TSB) کشت بر روی محیط مولر هینتون آگار انجام و پس از انکوباسیون محیط‌ها در دمای ۳۶ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۸ ساعت، نتایج خوانده شد. به‌منظور شناسایی فنوتیپی سویه‌های تولید کننده ESBL بر اساس پروتکل CLSI پس از انجام تهیه غلظت ۰/۵ مک فارلند از سوش مورد نظر و کشت بر روی محیط مولر هینتون آگار دیسک‌های سفتازیدیم (CAZ) و سفتازیدیم/کلاوولانیک اسید (CAZ/CLA) بر روی محیط قرار داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت انکوبه گردید سپس هاله مهاری اطراف هر دو دیسک اندازه گرفته شد و اختلاف ۵ میلی‌متر و بیشتر به‌عنوان مثبت تلقی گردید.

آنالیز آماری

داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS (USA، Il،Chicago،SPSS Inc) ویرایش ۱۹ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

در یافته‌ها، شایع‌ترین ارگانیسم جدا شده از کل نمونه‌های بالینی ارسال شده به آزمایشگاه به بخش PICU باکتری اشریشیاکلی (۲۴ مورد) و پس از آن به‌ترتیب پسوددوموناس آئروژینوزا (۹ مورد) و استافیلوکوکوس اورئوس (۸ مورد) بود. شایع‌ترین

[12] Bile Esculin Agar

[13] Clinical and Laboratory Standards Institute

ارگانیسم ایزوله شونده از نمونه‌های ادراری اشریشیاکلی (۱۷مورد) و پس از آن استرپتوکوکوس‌های گروه D (۵ مورد) بود (جدول ۱).

جدول ۱) فراوانی ارگانیسم‌های جدا شده از نمونه‌های بیماران بستری در بخش PICU

میکروارگانیسم	n	خون	ادرار	مدفوع	خلط	زخم	کتتر	Dialysis Water	ترشحات چشم
باکتری‌های گرم منفی									
اشریشیاکلی	۲۴	(٪۸/۳)۲	(٪۷۰/۸)۱۷	–	(٪۴/۱)۱	–	(٪۴/۱)۱	(٪۱۲/۵)۳	–
پسودوموناس آئروژینوزا	۹	–	(٪۳۳/۳)۳	(٪۴۴/۴)۴	–	(٪۲۲/۲)۲	–	–	–
کلبسیلا	۳	(٪۳۳/۳)۱	(٪۶۶/۶)۲	–	–	–	–	–	–
انتروباکتر	۲	(٪۵۰)۱	(٪۵۰)۱	–	–	–	–	–	–
سیتروباکتر	۱	(٪۱۰۰)۱	–	–	–	–	–	–	–
پروتئوس	۱	–	–	–	–	(٪۱۰۰)۱	–	–	–
شیگلا	۶	–	–	(٪۱۰۰)۶	–	–	–	–	–
باکتری‌های غیرتخمیرکننده (NFB)	۶	(٪۱۶/۶)۱	(٪۱۶/۶)۱	-	-	(٪۱۶/۶)۱	-	(٪۵۰)۳	–
Subtotal	۵۲	۶	۲۴	۱۰	۱	۴	۱	۶	۰
باکتری‌های گرم مثبت									
استافیلوکوکوس اورئوس	۸	(٪۱۲/۵)۱	–	–	(٪۱۲/۵)۱	(٪۱۲/۵)۱	(٪۲۵)۲	(٪۱۲/۵)۱	(٪۲۵)۲
استرپتوکوکوس‌های گروه D	۵	–	(٪۱۰۰)۵	–	–	–	–	–	–
Subtotal	۱۳	۱	۵	۰	۱	۱	۲	۱	۲
جمع کل ارگانیسم‌های جدا شده از نمونه‌های بالینی مختلف	۶۵	۷	۲۹	۱۰	۲	۵	۳	۷	۲

نتایج آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی بر روی ارگانیسم‌های جدا شده بیانگر آن بود که آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین بر روی همه باکتری‌های گرم منفی به استثناء اشریشیاکلی اثر ضد میکروبی بسیار خوبی داشته و داروی ونکومایسین مؤثرترین آنتی‌بیوتیک علیه ارگانیسم‌های گرم مثبت بود (جدول ۲).

از بین ۸ سویه استافیلوکوکوس اورئوس ایزوله شده از نمونه‌های مختلف بالینی ۶ سویه (۷۵ درصد) مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) بودند. نتایج آزمایش فنوتیپی بر روی باکتری‌های گرم منفی ایزوله شده به‌منظور شناسایی سویه‌های تولید کننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف (ESBL) بیانگر آن بود که از بین ۵۲ باکتری گرم منفی جدا شده ۵ مورد (۹/۶ درصد) سویه‌ها ESBL بوده است.

در بین ۲۴ سویه‌های جدا شده باکتری اشریشیاکلی ۲ سویه (۸/۳ درصد) و در بین ۳ سویه ایزوله شده کلبسیلا پنومونیه هر ۳ سویه (۱۰۰ درصد) تولید کننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف (ESBL) بودند.

جدول ۲) پروفایل حساسیت ضدمیکروبی باکتری‌های جدا شده از بیماران بستری در بخش PICU

میکروارگانیسم	نیتروفورانتوئین	نالیدیکسیک اسید	جنتامایسین	آمیکاسین	آمپی سیلین	سفالکسین	سفتریاکسون	کوتریموکسازول	سفتی زوکسیم	سیپروفلوکساسین	n
اشریشیاکلی	۱۸(٪۷۵)	۷(٪۲۹/۲)	۳(٪۱۲/۵)	۲۱(٪۸۷/۵)	۲(۸/۳)	۶(٪۲۵)	۸(۳۳/۳)	۸(٪۳۳/۳)	۱۱(٪۴۵/۸)	۱۱(٪۴۵/۸)	۲۴
پسودوموناس آئروژینوزا	۰	۰	۶(۶۶/۷)	۸(۸۸/۹)	۰	۰	۰	۰	۰	۹(۱۰۰)	۹
ارگانیسم‌های غیرتخمیرکننده (NFB)	۱(٪۱۶/۷)	۱(٪۱۶/۷)	۲(٪۳۳/۳)	۳(٪۵۰)	۱(٪۱۶/۷)	۰	۱(٪۱۶/۷)	۲(٪۳۳/۳)	۱(٪۱۶/۷)	۶(٪۱۰۰)	۶
شیگلا	۴(٪۶۶/۷)	۳(٪۵۰)	۴(٪۶۶/۷)	۴(٪۶۶/۷)	۱(٪۱۶/۷)	۴(٪۶۶/۷)	۴(٪۶۶/۷)	۰	۵(٪۸۳/۳)	۶(٪۱۰۰)	۶
کلبسیلا	۰	۲(٪۶۶/۷)	۱(٪۳۳/۳)	۱(٪۳۳/۳)	۰	۰	۰	۲(٪۶۶/۷)	۰	۳(٪۱۰۰)	۳
انتروباکتر	۰	۱(٪۵۰)	۱(٪۵۰)	۱(٪۵۰)	۰	۰	۱(٪۵۰)	۱(٪۵۰)	۱(٪۵۰)	۲(٪۱۰۰)	۲
سیتروباکتر	۱(٪۱۰۰)	۱(٪۱۰۰)	۱(٪۱۰۰)	۱(٪۱۰۰)	۰	۱(٪۱۰۰)	۱(٪۱۰۰)	۱(٪۱۰۰)	۱(٪۱۰۰)	۱(٪۱۰۰)	۱
پروتئوس گرم مثبت	۰	۰	۰	۱ (٪۱۰۰)	۰	۰	۰	۰	۰	۱(٪۱۰۰)	۱

	سیپروفلوکساسین	ونکومایسین	جنتامایسین	کلیندامایسین	آمپی سیلین	سفالکسین	اگزاسیلین	کلوگزاسیلین	متی سیلین	ایمی‌پنم	جمع
استافیلوکوکوس اورئوس	۳(٪۳۷/۵)	۸(٪۱۰۰)	۳(٪۳۷/۵)	۴(٪۵۰)	۰	۳(٪۳۷/۵)	۱(٪۱۲/۵)	۱(٪۱۲/۵)	۱(٪۱۲/۵)	۳(٪۳۷/۵)	۸
استرپتوکوکوس‌های گروه D	۱(٪۲۰)	۳(٪۶۰)	۱(٪۲۰)	۱(٪۲۰)	۰	۰	۱(٪۲۰)	۱(٪۲۰)	۱(٪۲۰)	۲(٪۴۰)	۵

بحث

باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسیه، پسودوموناس آئروژینوزا، اسینتوباکتر و مقاومت‌های دارویی سویه‌های مختلف این ارگانیسم‌ها و همچنین استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) و انتروکوکوس مقاوم به ونکومایسین (VRE) از مشکلات عمده در بخش بیمارستانی به‌ویژه بخش‌های ICU می‌باشند و عفونت‌های ناشی از این سویه‌ها همراه با مرگ و میر بالایی است (۵-۳، ۱۷ و ۲۱).

نتایج این مطالعه نشان داد که باکتری‌های اشریشیاکلی و پسودوموناس آئروژینوزا شایع‌ترین ارگانیسم‌های جدا شونده از بیماران بستری در بخش PICU کودکان می‌باشند و این باکتری‌ها علاوه‌بر توانایی بالا در بیماری‌زایی، دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی بسیار بالا و توانایی زیاد در کسب ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی از دیگر میکروارگانیسم‌ها می‌باشند. داده‌های آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی بر روی ارگانیسم‌های جدا شده نشان داد مقاومت‌های ضدمیکروبی مختلف به‌ویژه به بتالاکتام‌ها که از پرمصرف‌ترین و ارزان‌ترین گروه‌های

آنتی‌بیوتیکی می‌باشند، بسیار بالا است و برخی از سویه‌ها به‌ویژه کلبسیلا پنومونیه و اشریشیاکلی، تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز می‌نمایند که در نتیجه آن، نیاز به استفاده از داروهای جایگزین در درمان عفونت‌های ناشی از این سویه‌ها می‌باشد. کاربانم‌ها نظیر ایمی‌پنم و مروپنم آنتی‌بیوتیک‌های پیشنهادی خط اول درمانی برای عفونت‌های شدید ناشی از سویه‌های انتروباکتریاسیه تولید کننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف (ESBLs) می‌باشند. پدید آمدن انتروباکتریاسیه‌های مقاوم به کاربانم به‌دلیل محدود شدن انتخاب درمان ضدمیکروبی نگران کننده است (۲۲ و ۲۳). باکتری‌های گرم منفی تولید کننده کاربانماز (CPGNs)[14] نگرانی عمده در تمام جهان می‌باشند. عوامل گوناگونی شامل امکان مسافرت‌های بین‌المللی به‌منظور توریسم پزشکی و مهاجرت و محصولات غذایی وارداتی مسئول وارد نمودن این ارگانیسم‌ها از کشور منبع به کشورهای دیگر می‌باشند. گسترش سریع کلبسیلا پنومونیه تولید کننده کاربانماز (CPKP)[15] و به‌میزان کمتری دیگر تولید کننده کاربانماز (CPE)[16] همچون اشریشیاکلی به موازات MRSA از مشکلات درمانی جدی هستند. در حقیقت اخیراً پیش‌بینی می‌شود که شمار عفونت‌های گردش خون (BSIs)[17] ایجاد شونده به‌وسیله اشریشیاکلی مقاوم به نسل سوم سفالوسپورین‌ها احتمالاً از تعداد BSIs ناشی از MRSA در آینده نزدیک پیشی گیرد (۲۳).

میزان مرگ و میر بالایی در عفونت‌های ناشی از CPGNs گزارش شده است. گزارشات مستند میزان مرگ و میر را بین ۵۱/۲ درصد و ۹۵ درصد برای عفونت‌های ناشی از پسودوموناس آئروژینوزا مقاوم به کاربانم و بین ۱۸/۹ درصد و ۴۸ درصد برای عفونت‌های ناشی از انتروباکتریاسیه‌های مقاوم به کاربانماز (CRE)[18] گزارش شده است. همچنین میزان مرگ و میر بالاتری برای عفونت‌های ناشی از پسودوموناس آئروژینوزا تولیدکننده متالوبتالاکتاماز (MBL-PA) نسبت به عفونت‌های ناشی از سویه‌های پسودوموناس آئروژینوزا غیر متالوبتالاکتاماز[19] گزارش شده است (به‌ترتیب ۵۱/۲ درصد در مقابل ۳۲/۱ درصد). (۲۳ و ۲۴).

در سال ۲۰۰۶ در مطالعه‌ای روی عفونت‌های بیمارستانی در بخش PICU در ایران، ۱۷ مورد پسودوموناس آئروژینوزا، ۹ مورد استافیلوکوکوس اورئوس که همه به متی‌سیلین مقاوم بوده‌اند، گزارش شده است (۲۵). در بررسی دیگر در ایران شایع‌ترین ارگانیسم‌های گرم منفی ایزوله شده به‌ترتیب کلبسیلا و پسودوموناس آئروژینوزا عنوان شده است (۲۶). در بررسی کنونی شایع‌ترین ارگانیسم‌های ایزوله شده به‌ترتیب اشریشیاکلی، پسودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس بود که ۷۵ درصد از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین بودند. روش‌های پیشگیری استاندارد جهت جلوگیری از انتقال سویه‌های مقاوم باکتری‌های از جمله MRSA در بخش‌های مراقبت ویژه شامل رعایت بهداشت دست، استفاده از پوشش‌های مناسب نظیر دستکش وان در هنگام کار با این بیماران عفونی شده و کلونیزه شده با این سویه‌ها می‌باشد. استفاده از وسایل اختصاصی و تجهیزات برای این بیماران و قرار دادن افراد کلونیزه شده یا عفونی شده در اتاق‌های جداگانه و یا بخش‌های مخصوص این بیماران

[14] Carbapenemase-Producing Gram Negative
[15] Carbapenemase Producing *Klebsiella pneumonia*
[16] Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae
[17] Blood-Stream Infections
[18] Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae
[19] non-MBL-PA

می‌باشد. پیشگیری‌های دیگر شامل بررسی فعال و شناسایی افراد کلونیزه شده با این سویه‌ها که به‌عنوان مخزن عمل می‌کنند، می‌باشد (۲۹-۲۷).

یک فرضیه بر آن است که بررسی فعال بر پایه کشت جهت سویه‌های MRSA و رعایت احتیاط‌های لازم و مراقبت‌های بهداشتی میزان شیوع کلونیزاسیون ناشی از این سویه‌ها را در بخش کاهش می‌دهد (۱۷).

شناسایی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) از مشکلات عمده در آزمایشگاه میکروب‌شناسی می‌باشد. جهت شناسایی فنوتیپی در ابتدا از دیسک اگزاسیلین استفاده می‌گردید زیرا هم از نظر تجاری در دسترس‌تر بوده و نیز نسبت به متی‌سیلین فعالیت خود را هنگام نگهداری بهتر حفظ می‌نماید و به‌کمک آن بهتر می‌توان سویه‌های با مقاومت ناهمگون را شناسایی نمود. با این وجود امروزه دیسک سفوکسیتین جایگزین اگزاسیلین شده است زیرا آنتی‌بیوتیک سفوکسیتین بهتر می‌تواند ژن mecA را تحریک نموده و endpointهای واضح و خواناتری می‌دهد که تفسیر آن توسط میکروبیولوژیست بسیار راحت‌تر می‌باشد. از آنجایی که سویه‌های MRSA که مقاومت ناهمگون را بیان می‌کنند نسبت به جمعیت حساس آهسته‌تر رشد می‌نمایند ممکن است در دمای بالاتر از ۳۵ درجه سانتی‌گراد شناسایی نشوند به‌همین منظور CLSI پیشنهاد می‌نماید که جهت شناسایی سویه‌های MRSA حتماً پلیت‌های مولر هینتون در دمای ۳۵-۳۳ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت کامل انکوبه گردند تا این سویه‌ها فرصت رشد را پیدا نمایند (۳۰).

مطالعه کنونی اگر چه اطلاعاتی در زمینه شایع‌ترین ارگانیسم‌های ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی در بخش PICU و نیز میزان حساسیت آن‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های رایج ارائه می‌کند، اما به‌منظور دست‌یابی به نتایج کامل‌تر و تصمیم‌گیری‌های پایه‌ای، نیاز به انجام مطالعات اپیدمیولوژیک با استفاده از روش‌های ملکولی تایپینگ می‌باشد که به ما امکان دستیابی به منشاء ارگانیسم‌ها و قرابت‌های ژنتیکی آن‌ها را می‌دهد از سوی دیگر مطالعه الگوی مقاومت باکتری‌های جداشونده از مواد غذایی نیز دارای اهمیت می‌باشد زیرا بسیاری از مواد غذایی ممکن است مسیری برای انتقال باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها به انسان ها و محیط‌های بیمارستانی باشند (۳۴-۳۱). در این مطالعه به‌دلیل محدودیت زمانی و هزینه‌های بالای روش‌های ملکولی، این مهم قابل انجام نبود و نیاز است محققین با فراهم‌آوری هزینه و امکانات مربوطه به‌منظور یافتن اطلاعات بسیار دقیق‌تر و جامع‌تر در این جهت گام بردارند.

References:

1.Klevens RM, Edwards JR, Richards CL Jr, et al. Estimating health care-associated Infections and deaths in U.S. Hospitals, 2002. Public Health Rep 2007; 122: 160-6.
2.Kung HC, Hoyert DL, Xu J, et al. Deaths: final data for 2005. Natl Vital Stat Rep 2008; 56: 1-120.
3.Chopra I, Schofield C, Everett M, et al. Treatment of health-care-associated infections caused by gram-negative bacteria: a consensus statement. Lancet Infect Dis 2008; 8:133-9.
4.Peleg AY, Hooper DC. Hospital-Acquired Infections Due to Gram-Negative Bacteria. N Engl J Med 2010; 362:1804-13.
5.Hidron AI, Edwards JR, Patel J, et al. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. Infect Control Hosp Epidemiol 2008; 29: 996-1011.
6.Gaynes R, Edwards JR. Overview of nosocomial infections caused by gram-

negative bacilli. Clin Infect Dis 2005; 41: 848-54.
7.Knothe H, Shah P, Krcmery V, et al. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae and Serratia marcescens. Infection 1983; 11: 315-17.
8.Pitout JDD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. Lancet Infect Dis 2008; 8: 159-66.
9.Rodríguez-Baño J, Alcalá JC, Cisneros JM, et al. Community infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. Arch Intern Med 2008; 168: 1897-902.
10.Ben-Ami R, Rodríguez-Baño J, Arslan H, et al. A multinational survey of risk factors for infection with extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae in nonhospitalized patients. Clin Infect Dis 2009; 49: 682-90.
11.Hyle EP, Bilker WB, Gasink LB, et al. Impact of different methods for describing the extent of prior antibiotic exposure on the association between antibiotic use and antibiotic-resistant infection. Infect Control HospEpidemiol 2007; 28: 647-54.
12.Urbánek K, Kolár M, Lovecková Y, et al. Influence of third-generation cephalosporin utilization on the occurrence of ESBL-positive *Klebsiella pneumoniae* strains. J Clin Pharm Ther 2007; 32: 403-8.
13.Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Kaye KS, et al. Clinical and economic impact of bacteremia with extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 1257-62.
14.Anderson DJ, Engemann JJ, Harrell LJ, et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infection due to ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 1715-20.
15.Hyle EP, Lipworth AD, Zaoutis TE, et al. Impact of inadequate initial antimicrobial therapy on mortality in infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae: variability by site of infection. Arch Intern Med 2005; 165: 1375-80.
16.Peña C, Gudiol C, Calatayud L, et al. Infections due to *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamase among hospitalized patients: factors influencing mortality. J Hosp Infect 2008; 68: 116-22.
17.Charles Huskins W, Huckabee CM, Naomi P, et al. Intervention to Reduce Transmission of Resistant Bacteria in Intensive Care. N Engl J Med 2011; 364: 1407-18.
18.Duckro AN, Blom DW, Lyle EA, et al. Transfer of vancomycin-resistant enterococci via health care worker hands. Arch Intern Med 2005; 165: 302-7.
19.Hardy KJ, Oppenheim BA, Gossain S, et al. A study of the relation-ship between environmental contamination with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and patients' acquisition of MRSA. Infect Control Hosp Epidemiol 2006; 27: 127-32.
20.Albrich WC., Harbarth S., Health-care workers: source, vector, or victim of MRSA? Lancet Infect Dis 2008; 8: 289-301.5.
21.Mardaneh J, Abbaspoor S, Ahmadi K. The survey of shigellosis frequency and determination of antibiotic resistance profile of isolated strains from infected pediatrics. ISMJ 2013. [Epub Aricle in Press]
22.Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae carba penemase*-producing bacteria. Lancet Infect Dis 2009; 9: 228-36.
23.Akova M, Daikos GL, Tzouvelekis L, et al. Interventional strategies and current clinical experience with carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. Clin Microbiol Infect 2012; 18: 439-48.
24.Zavascki AP, Barth AL, Goncalves ALS, et al. The influence of metallo-beta-lactamase production on mortality in nosocomial Pseudomonas aeruginosa infections. J Antimicrob Chemother 2006; 58: 387-92.
25.Ghadiri K, Tabatabaei P, Mamaishi S, et al. MICsusceptility testing of nosocomial infections at PICU in Childrens Medical Center, Iran. Iran J Pediatr, 2006; 16: 13-18.
26.Massoumi Asl H, Nateghian A. Epidemiology of Nosocomial Infections in Pediatric Intensive Care Unit (PICU). Iran J Clin Infect Dis 2009; 4: 83-6.
27.Muto CA, Jernigan JA, Ostrowsky BE, et al. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and enterococcus. Infect Control Hosp Epidemiol 2003; 24: 362-86.
28.Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of multidrug-resistant organisms in healthcare settings, 2006(Accessed in Jul 10, 2013 at http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/ar/mdroGuideline2006.pdf).

29.Muto CA, Jernigan JA, Ostrowsky BE, et al. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of Staphylococcus aureus and enterococcus. Infect Control HospEpide-miol 2003; 24: 362-86.
30.Laboratory Detection of Oxacillin/Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus.* Centers for Disease Control and Prevention. (Accessed in Jul 10, 2013 at http://www.cdc.gov/mrsa/lab/lab-detection.ht-ml).
31.Mardaneh J, Dallal MM. Isolation, identification and antimicrobial susceptibility of *Pantoea* (*Enterobacter*) *agglomerans* isolated from consumed powdered infant formula milk (PIF) in NICU ward: First report from Iran. Iran J Microbiol. 2013;5:263-67.
32.Abbaspour S, Mardaneh J, Ahmadi K. The survey of shigellosis frequency and determination of antibiotic resistance profile of isolated strains from infected children in Tehran. ISMJ 2014; 17:42-48.
33.Ahmadi K, Farajzadeh Sheikh A, Mardaneh J, Modarresi F, Shoja S. Detection of *Enterobacter sakazakii* in neonatal sepsis by PCR on 16S ribosomal RNA. ISMJ 2014; 17:272-79.
34.Mardaneh J, Soltan-Dallal MM. Isolation and Identification of *E. cowanii* from Powdered Infant Formula in NICU and Determination of Antimicrobial Susceptibility of Isolates. Iran J Pediater 2014; 24:261-66.

ISMJ 2014; 17(4): 647-657

Original Article

Profile of antimicrobial susceptibility isolated microorganisms from hospitalized patients in PICU ward and detection of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and ESBL-producing bacteria by phenotypic methods

Sh. Abbas Poor [1], J. Mardaneh [2*], S. Dehbashi [3], SS. Jasemi [3]

[1]Laboratory of Microbiology, Bahrami Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, IRAN
[2]Professor Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Nemazee Hospital, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, IRAN
[3]Department of Pathobiology, School of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, IRAN

(Received 18 Jun, 2012 Accepted 16 Jul, 2012)

Abstract

Background: Hospital-acquired infections are a major challenge to patient. A range of gram-negative organisms are responsible for hospital-acquired infections, the Enterobacteriaceae family being the most commonly identified group overall. Infections by ESBL producers are associated with severe adverse clinical outcomes that have led to increased mortality, prolonged hospitalization, and rising medical costs. The aim of this study was to survey profile of antimicrobial susceptibility isolated microorganisms from hospitalized patients in PICU ward and detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and ESBL-producing bacteria by phenotypic methods.

Material and Methods: In this study participants were patients hospitalized in PICU part of Bahrami Hospital, Tehran, with attention to involved organ. For isolation of bacteria from patient's samples, culture performed on different selective and differential media. After confirmation of bacteria by biochemical tests, susceptibility testing was performed by disc diffusion method. Phenotypic detection of MRSA strains was performed using cefoxcitin disc. ESBL producing strains were detected by ceftazidime (CAZ) and ceftazidime/clavulanic acid (CAZ/CLA) discs.

Results: Among all isolated organisms from clinical samples, the most common isolated organisms were *Escherichia coli* (24 cases), *Pseudomonas areoginosa* (9 cases) and *Staphylococcus aureus* (8 cases), respectively. Among eight MRSA isolated strains from different clinical samples, six strains (75%) were MRSA. Among 52 isolated gram negative organisms, 5 strains (9/6%) were ESBL.

Conclusion: Standard interventions to prevent the transmission of antimicrobial resistance in health care facilities include hand hygiene, using barrier precautions in the care of colonized and infected patients, using dedicated instruments and equipment for these patients. The colonized or infected patients should be isolated in single rooms, multibed rooms or areas reserved for such patients. Active surveillance screening is necessary to identify asymptomatically colonized patients who may serve as undetected reservoirs.

Keywords: *PICU, antimicrobial susceptibility, MRSA strains, ESBL*-producing *strains*

*****Address for correspondence*: Professor Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Nemazee Hospital, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, IRAN; E-mail: Jalalmardaneh@yahoo.com