



جداسازی پseudomonas و اسیتوباکتر از کشت خون بیماران

بستری در بیمارستان امام خمینی کرمانشاه

سیده سمیه جاسمی^۱، فرزاد علیپور^۲، ساناز ده‌باشی^۱، جلال مردانه^{۳*}

^۱ بخش میکروب‌شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۲ آزمایشگاه میکروب‌شناسی، بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

^۳ مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی بالینی استاد البرزی، بیمارستان نمازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

(دریافت مقاله: ۹۲/۴/۳۰ - پذیرش مقاله: ۹۲/۸/۲۶)

چکیده

زمینه: عفونت‌های گردش خون (BSIs) از دلایل اصلی ایجاد عوارض و مرگ و میر در مبتلایان هستند. میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین پاتوژن‌های ایجادکننده عفونت‌های گردش خون در بیمارستان به ویژه در بین باکتری‌های گرم منفی از جمله پseudomonas و اسیتوباکتر در حال افزایش است. هدف از این مطالعه جداسازی پseudomonas و اسیتوباکتر از کشت خون بیماران بستری در بیمارستان امام خمینی کرمانشاه و سپس تعیین پروفایل حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی تعداد ۲۳۸۲ نمونه خون از ۲۲۸۵ بیمار بستری در بیمارستان مربوطه جمع‌آوری شد. نمونه‌های خون بیماران در درون محیط‌های مخصوص کشت خون تلقیح شدند و سپس ساب کالچر بر روی محیط‌های معمول میکروب‌شناسی انجام شد. پseudomonas و اسیتوباکتر ایزوله شده از نمونه‌های ارسالی به کمک تست‌های مورفولوژی و بیوشیمیایی مورد شناسایی قرار گرفتند. تست تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش استاندارد دیسک دیفیوژن بر اساس پروتکل ارائه شده توسط سازمان استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI 2012) مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: در طی این مطالعه از ۲۳۸۲ نمونه خون جمع‌آوری شده، ۱۳۳ (۵/۶ درصد) نمونه از نظر کشت باکتریال مثبت بودند. اسیتوباکتر ۱۵ مورد (۱۱/۲ درصد) و پseudomonas ۱۵ مورد (۱۱/۲ درصد) از کل کشت‌های خون مثبت را به خود اختصاص دادند. ایزوله‌های اسیتوباکتر بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفکسیم (۸۶/۷ درصد)، سفنازیدیم (۸۰/۱ درصد)، سفالوتین (۷۳/۴ درصد) و کوتریموکسازول (۷۳/۴ درصد) نشان دادند و ایزوله‌های پseudomonas بیش از همه به کوتریموکسازول (۸۶/۷ درصد)، سفکسیم (۸۶/۷ درصد)، سفتریاکسون (۷۳/۴ درصد)، سفالوتین (۷۳/۴ درصد) و سفنازیدیم (۶۰ درصد) مقاوم بودند.

نتیجه‌گیری: در این تحقیق وجود اسیتوباکتر و پseudomonas مقاوم به دارو در کشت خون بیماران اثبات گردید. با توجه به افزایش رخداد مقاومت آنتی‌بیوتیکی برنامه‌های نظارتی در تعیین نمودن گسترش گونه و الگوهای مقاومت پاتوژن ایجادکننده عفونت خون مهم است زیرا این برنامه‌ها اساس درمان تجربی مناسب را فراهم می‌سازند.

واژگان کلیدی: عفونت خون (BSI)، پseudomonas، اسیتوباکتر، حساسیت آنتی‌بیوتیکی

* شیراز، مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی بالینی استاد البرزی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

مقدمه

باسیل‌های گرم منفی غیر تخمیرکننده در همه جا حضور دارند. غیر تخمیر کننده‌ها می‌توانند سبب ایجاد طیف وسیعی از عفونت‌ها شوند. پseudomonas آئروژینوزا فراوان‌ترین میکروارگانیسم جداشونده بوده و پس از آن اسیتوباکتر و استنوتروفوموناس مالتوفیلیا در رده‌های بعدی قرار دارند. غیر تخمیرکننده‌ها ممکن است در قدرت بیماری‌زایی و انتقال تفاوت داشته باشند و بسیاری به چندین دارو مقاوم هستند. به این دلیل شناسایی غیر تخمیرکننده‌ها به منظور مدیریت صحیح بیماران ضروری است. در آزمایشگاه میکروب‌شناسی بالینی شناسایی تخمیر کننده‌ها بر اساس خصوصیات فنوتیپی است (۱-۳).

پseudomonas آئروژینوزا به‌عنوان باکتری محیطی شرح داده شده است که در جمعیت‌های چند میکروبی در شرایط تغذیه‌ای نامناسب نیز زندگی می‌کنند. این پاتوژن تعداد زیادی عوامل بیماری‌زا از جمله آنزیم‌ها، توکسین‌ها، پیگمان‌ها و گلیکوکالیکس تولید می‌کند. قابلیت‌های بیوشیمیایی مفید و تشکیل لایه‌های چسبناک بر روی سطوح مختلف را دارد و به بسیاری از ضدعفونی‌کننده‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها و آنتی‌بادی‌ها مقاوم است (۴). این ارگانیسم در محیط‌های مرطوب و گرم یافت می‌شود و می‌تواند به فراوانی از خاک، آب و محیط انسان‌ها ایزوله شود. پseudomonas آئروژینوزا می‌تواند در نازوفارنکس و مجرای گوارشی تحتانی ساکن شود. عمدتاً به‌عنوان یک پاتوژن فرصت‌طلب در بیماران دارای ضعف سیستم ایمنی که مستعد گسترش سپتی‌سمی هستند ایجاد بیماری می‌کند. در انسان‌ها پseudomonas آئروژینوزا دومین پاتوژن بیمارستانی گرم منفی در بیمارستان‌هاست (۵).

در حدود ۱۰ تا ۱۱ درصد عفونت‌های بیمارستانی را شامل می‌شود و با بهترین میزان مرگ و میر تمام باکتری‌های اکتسابی از بیمارستان را به خود اختصاص می‌دهد (۶).

پseudomonas آئروژینوزا از نظر تاکسونومی متعلق به کلاس گاماپروتوتوباکترها، راسته پseudomonadales و خانواده پseudomonadaceae است (۷). پseudomonas ارگانیسمی گرم منفی، فاقد اسپور، متحرک و از باسیل‌های هوازی مطلق به طول ۱/۵ تا ۳ میکرومتر و عرض ۰/۵ تا ۰/۷ میکرومتر است (۸). بیماری‌زایی پseudomonas آئروژینوزا چند عاملی است. محصولات سلولی (لیپوپولی ساکارید (LPS)، پپلی، لکوسیدین و آلزینات) و محصولات خارج سلولی (پروتئازهای قلیایی و خنثی، الاستاز، فسفولیپاز C و همولیزین رامنولید) سبب توانایی آن در ایجاد عفونت در میزبان‌های خود می‌گردد. پروتئازها سبب مهار کموتاکسی، فاگوسیتوز و متابولیسم اکسیداتیو نوتروفیل‌های انسانی می‌گردد. پروتئازها ممکن است سبب تخریب ایمنوغلوبولین‌ها گردند و در نتیجه در برابر سیستم ایمنی مقاومت حاصل نمایند (۹).

پseudomonas آئروژینوزا از طیف وسیعی از اجسام بی‌جان، حیوانات و محیط اطراف انسان‌ها جدا شده و می‌تواند در نقاط جغرافیایی مختلف در سراسر جهان یافت شود. این باکتری به‌طور وسیعی در محیط‌های مرطوب از جمله آب، خاک و فاضلاب وجود دارد. گاهی برای گیاهان و سبزیجات بیماری‌زا است. بخشی از تطبیق‌پذیری این باکتری شامل توانایی تغییر فنوتیپیکی خود از فرم غیر موکوئیدی به واریانت‌های موکوئیدی است. واریانت‌های موکوئیدی پseudomonas آئروژینوزا میزان زیادی پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی (آلزینات) تحت عنوان گلیکوکالیکس تولید می‌کند. این پوشش

ارگانیسیم‌ها قابل توجه است (۲۱). از این رو روشن نمودن اپیدمیولوژی پseudomonas آئروژینوزا مقاوم به سفپیم حیاتی است.

جنس اسیتوباکتر کوکوباسیل گرم منفی، هوازی مطلق، غیر متحرک، کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی است. محتوای G+C DNA آن برابر ۳۹ تا ۴۷ مول/درصد است (۲۲). گونه‌های اسیتوباکتر نقش بسزایی در کلونیزاسیون و عفونت بیماران بستری ایفا می‌کند. آن‌ها در انواعی از عفونت‌های بیمارستانی شامل باکتری، عفونت مجرای ادراری و مننژیت ثانویه نقش دارند. این باکتری به‌عنوان یک عامل پنومونی اکتسابی از بیمارستان در بخش‌های ICU بیمارستان مطرح است. توانایی تحمل خشکی و مقاومت به کلاس‌های متعدد آنتی‌بیوتیکی از جمله فاکتورهای اصلی در زنده ماندن و گسترش آن در محیط بیمارستان است. به‌طور کلی درمان عفونت‌های ناشی از گونه‌های اسیتوباکتر بسیار مشکل است زیرا اغلب اعضاء این جنس به طیفی از داروهای ضد میکروبی مقاوم هستند (۲۳ و ۲۴). گونه‌های اسیتوباکتر در محیط بیمارستان حضور دارند. این ارگانیسیم‌ها اغلب از طریق دست پرسنل بیمارستان بین بیماران و همچنین بخش‌های مختلف پخش می‌شود و در نتیجه در بخش‌هایی نظیر ICU و توان‌بخشی‌ها همراه با مرگ‌ومیر قابل توجهی است (۲۵). پرسنل پزشکی و سطوح آلوده می‌توانند به‌عنوان منبع مهم آلودگی در طی طغیان‌های بیمارستانی مطرح باشند. علاوه بر این بسیاری از تجهیزات پزشکی مورد استفاده در بیمارستان‌ها جهت انجام عمل‌های جراحی می‌توانند با اسیتوباکتر آلوده باشند (۲۶).

اسیتوباکتر بومانی کوکوباسیل گرم منفی است که در طی چند دهه گذشته از ارگانیسیمی که بیماری‌زایی آن

اطراف ماکروکلونی‌ها را احاطه می‌کند و سبب اتصال باکتری به سلول‌های میزبان و سطوح شده و موجب تشکیل ماکروکلونی و دور نگهداشتن عوامل ضدباکتریایی هومورال و سنتتیک از سلول‌های باکتریایی و تسهیل به دام انداختن مواد غذایی در محیط‌های آبی می‌گردد (۱۲-۱۰).

مقاومت به سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف درمان عفونت‌های ناشی از پseudomonas آئروژینوزا را با مشکل مواجهه کرده است. در مطالعه‌ای که در طی شش سال در آمریکا انجام شده ۸/۴ درصد از ایزوله‌ها مقاوم به سفپیم بوده‌اند و میزان مرگ و میر در مبتلایان به عفونت ناشی از سویه‌های مقاوم به سفپیم پseudomonas آئروژینوزا ۲۰/۲ درصد بوده است. در صورتی که میزان مرگ و میر عفونت ناشی از سویه‌های حساس ۱۳/۲ درصد بوده است (۱۳).

پseudomonas آئروژینوزا یکی از مهم‌ترین باکتری‌های گرم منفی است که سبب ایجاد عفونت‌های اکتسابی از مراقبت سلامت می‌شود (۱۶-۱۴). این عفونت‌ها منجر به عوارض و مرگ و میر بالایی می‌گردد (۱۷). هنگامی که به عفونت‌های شدید ناشی از پseudomonas آئروژینوزا مشکوک هستیم درمان دارویی مناسب، صحیح و سریع حیاتی است زیرا عدم انتخاب داروی مناسب سبب ایجاد مرگ و میر بالایی می‌شود (۱۸). عدم توانایی در انتخاب درمان مناسب سبب افزایش شیوع مقاومت دارویی در پseudomonas آئروژینوزا می‌گردد (۱۹). حتی در سویه‌هایی که در ابتدا حساس هستند نیز در طی درمان به سرعت مقاومت رخ می‌دهد (۲۰). سفپیم از سفالوسپورین‌های نسل چهارم و از معدود عوامل باکتریایی است که هنوز بر علیه پseudomonas آئروژینوزا فعال باقی مانده است. با این وجود افزایش مقاومت به سفپیم در بین این

مورد سؤال بود به یکی از پاتوژن‌های مهم ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی تبدیل شده است (۲۷). طغیان عفونت اسیتوباکتر بومانی به صورت منوکلونال بوده و در کشورهای مختلف جهان از جمله انگلستان، فرانسه، اسپانیا، ایالات متحده آمریکا، آفریقای جنوبی، کلمبیا، استرالیا و کره گزارش شده است (۲۸). عفونت‌های ناشی از اسیتوباکتر بومانی اغلب در بیماران دارای شرایط بحرانی از جمله بیماران دارای عمل جراحی، افراد بستری شده در بخش ICU و یا بستری شدن در بیمارستان به مدت طولانی رخ می‌دهد. این باکتری به فراوانی به عنوان عامل اتیولوژیک مرتبط با ونتیلاتور، عفونت‌های ادراری، عفونت‌های زخم و عفونت‌های گردش خون شرح داده شده‌اند. عفونت‌های ناشی از سویه‌های حساس به آنتی‌بیوتیک اسیتوباکتر معمولاً با ترکیبی از آمپی‌سیلین- سولباکتام یا کارباپنم‌ها درمان می‌شوند، با این وجود یکی از خصوصیات خطرناک این باکتری توانایی آن در مقاوم شدن به همه آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله کارباپنم‌ها است (۲۹).

پلی‌میکسین‌ها و به میزان کمتر تیگسیکلین علیه ایزوله‌های مقاوم به چند دارو فعالیت نشان داده‌اند. با این وجود در طی سال‌های گذشته سویه‌های مقاوم به کلیستین به‌ویژه در آسیا شناسایی شده‌اند. ایزوله‌های اسیتوباکتر مقاوم به تمام آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله پلی‌میکسین‌ها تحت عنوان سویه‌های مقاوم به دارو با سطح بسیار بالا یا XDR نامیده می‌شوند. در طی سال ۲۰۰۵ طغیان تک کانونی عفونت ناشی از اسیتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو در چندین بیمارستان در شیکاگو و شمال غربی ایندیانا رخ داد. این سویه از اسیتوباکتر یک کارباپنماز کروموزومی کد شونده توسط پلاسمید را تولید می‌نمود (۳۰).

عفونت گردش خون (BSI) مشکل جدی است که نیاز به توجه و درمان فوری دارد. این عفونت خصوصاً اگر توسط باکتری‌های مقام به چند دارو ایجاد شود سبب ایجاد مرگ و میر بالایی می‌گردد (۳۱). کشت باکتریایی به منظور جداسازی پاتوژن مورد نظر و دستیابی به الگوی حساسیت ایزوله‌ها دلیل اصلی تشخیص صحیح و مدیریت BSI است. نتایج کشت‌های باکتری‌شناسی و تست‌های تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در طی ۳ تا ۴ روز طول می‌کشد. کلید اصلی دستیابی به نتیجه خوب در خصوص بیماران مبتلا به سپسیس انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب است که با توجه به نتایج حاصله در یک آزمایشگاه از قبل مشخص می‌شود (۳۲). تشخیص سریع و درمان مؤثر جهت جلوگیری از عوارض و کاهش دادن مرگ و میر ناشی از BSI ضروری است. (۳۳). با توجه به اهمیت عفونت‌های باکتریال سیستم گردش خون و افزایش روز افزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی و همچنین گسترش عفونت‌های ناشی از باکتری‌های غیر تخمیر کننده شایع در بخش‌های مختلف بیمارستان، هدف از این مطالعه جداسازی باکتری‌های غیر تخمیرکننده شامل اسیتوباکتر و پسودوموناس از نمونه‌های خون بیماران بستری شده در بیمارستان امام خمینی کرمانشاه و سپس تعیین الگوهای حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها بود.

مواد و روش‌ها

جامعه مورد مطالعه

در این مطالعه مقطعی که در طی یک سال (فروردین تا اسفند ۱۳۹۱) در بیمارستان امام خمینی کرمانشاه انجام شد، تعداد ۲۳۸۲ نمونه خون از ۲۲۸۵ بیمار بستری در بیمارستان مربوطه جمع‌آوری شد و برای هر یک پرسشنامه تنظیم شده و کدگذاری گردید. نمونه‌گیری از

(LD)، آرژنین دهیدروژناز (AD) (Merck Co. Germany) و در صورت نیاز برخی تست‌های بیوشیمیایی خاص مورد شناسایی قرار گرفتند.

تست تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی

با استفاده از روش استاندارد دیسک دیفیوژن (Disk Diffusion Method) بر اساس پروتکل ارائه شده توسط سازمان استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI 2012) (۳۴) و استفاده از دیسک‌های ۹ آنتی‌بیوتیک (HIMEDIA Co.) شامل آمیکاسین (AK)، جنتامایسین (GM)، ایمی‌پنم (IMP)، سفالوتین (KF)، کوتریموکسازول (SXT)، سفتریاکسون (CR)، سفنازیدیم (CAZ)، سپیروفلوکسازین (CIP) و سفکسیم (CFM) حساسیت آنتی‌بیوتیکی گونه‌های جدا شده اسیتوباکتر به داروهای متداول مؤثر علیه باکتری‌های گرم منفی مورد مطالعه قرار گرفت. در این روش پس از تلقیح باکتری در محیط تریپتی کیس سوی برات (TSB) و انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ تا ۶ ساعت و به دست آوردن غلظت ۰/۵ مک فارلند از باکتری، کشت بر روی محیط مولر هیتتون آگار انجام و پس از انکوباسیون محیط‌ها در دمای ۳۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت، نتایج خوانده شد.

آنالیز آماری

نتایج حاصل از مطالعه به کمک نرم‌افزار SPSS (SPSS USA,II, Chicago, Inc) ویرایش ۱۹ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

در طی این مطالعه از ۲۲۸۵ بیمار بستری در بیمارستان ۲۳۸۲ نمونه خون جمع‌آوری شد که ۱۳۳ (۵/۶ درصد) نمونه از نظر کشت باکتریال مثبت بودند. اسیتوباکتر ۱۵

افراد پس از مشخص نمودن هدف مطالعه برای آن‌ها و کسب رضایت کتبی آگاهانه از هر یک از افراد تحت مطالعه صورت گرفت.

نمونه‌گیری

نمونه‌های خون بیماران توسط پرسنل آموزش دیده پرستاری پس از ضدعفونی نمودن سطح پوست بیمار با الکل ۷۰ درصد و سپس ۲ درصد، از خون محیطی جمع‌آوری شد. از هر بیمار بستری تحت مطالعه، جهت مطالعه در دوره‌های تب، قبل از دریافت آنتی‌بیوتیک نمونه خون محیطی گرفته شد و در درون محیط‌های مخصوص کشت خون تلقیح شدند و جهت بررسی از نظر عوامل عفونی به آزمایشگاه میکروبی شناسی ارسال گردیدند.

جداسازی و شناسایی باکتری

ظرف‌های کشت خون ارسالی به آزمایشگاه میکروبی شناسی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و سپس در دوره‌های زمانی مشخص ساب کالچر بر روی محیط‌های معمول میکروبی شناسی شامل محیط‌های بلاد آگار (Blood agar)، شکلات آگار (Chocolate agar)، مک‌کانکی آگار (MacConkey Agar [MAC]) و EMB (Merck Co. Germany) انجام شد و پس از انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک شبانه‌روز، از نظر رشد باکتری و تشکیل کلونی بر روی محیط‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. باکتری‌های گرم منفی ایزوله شده از نمونه‌های ارسالی به کمک تست‌های مورفولوژی و بیوشیمیایی شامل تولید پیگمان، رنگ‌آمیزی گرم، اکسیداز، کاتالاز، حرکت، سیترات، TSI، اندول، توانایی رشد در ۴۵ درجه سانتی‌گراد، OF، متیل رد (MR)، ووگس پروسکوئر (VP)، اوره، اورنیتین دکربوکسیلاز (OD)، لیزین دکربوکسیلاز

آنتی‌بیوتیک‌های سفکسیم (۸۶/۷ درصد)، سفنازیدیم (۸۰/۱ درصد)، سفالوتین (۷۳/۴ درصد) و کوتریموکسازول (۷۳/۴ درصد) نشان دادند (جدول ۱) و ایزوله‌های پseudomonas بیش از همه به کوتریموکسازول (۸۶/۷ درصد)، سفکسیم (۸۶/۷ درصد)، سفتریاکسون (۷۳/۴ درصد)، سفالوتین (۷۳/۴ درصد) و سفنازیدیم (۶۰ درصد) مقاوم بودند (جدول ۲). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ۲۶/۷ درصد ایزوله‌های اسیتوباکتر و ۱۳/۳ درصد سویه‌های پseudomonas نسبت به آنتی‌بیوتیک ایمنی‌پنم مقاوم هستند.

مورد (۱۱/۲ درصد) مثبت و پseudomonas ۱۵ مورد (۱۱/۲ درصد) مثبت را به خود اختصاص دادند. ۶۸۸ مورد (۴۷/۳ درصد) بیماران در بخش عفونی، ۳۳۴ مورد (۲۲/۱ درصد) در بخش اورژانس، ۲۵۵ مورد (۱۷/۱ درصد) در بخش داخلی، ۱۵۰ مورد در بخش ICU (۱۰/۴۷ درصد)، ۲۵ مورد (۱/۷۷ درصد) در بخش سوختگی، ۱۵ مورد (۱ درصد) در بخش ENT و ۳ مورد (۰/۲۶ درصد) در بخش چشم بستری بودند. بررسی الگوی مقاومت ایزوله‌ها نشان داد که ایزوله‌های اسیتوباکتر بیش‌ترین مقاومت را نسبت به

جدول ۱) الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی گونه‌های اسیتوباکتر جدا شده از نمونه‌های خون بیماران بستری در

بیمارستان امام خمینی کرمانشاه

SXT	GM	CFM	AK	CIP	CAZ	CR	KF	IMP	
۲(۱۳/۳)	۹(۶۰)	۲(۱۳/۳)	۸(۵۳/۴)	۱۱(۷۳/۴)	۲(۱۳/۳)	۷(۴۶/۶)	۳(۲۰)	۱۱(۷۳/۳)	Sensitive
۲(۱۳/۳)	۱(۶/۶)	—	۱(۶/۶)	۱(۶/۶)	۱(۶/۶)	۲(۱۳/۳)	۱(۶/۶)	—	Intermediate
۱۱(۷۳/۴)	۵(۳۳/۴)	۱۳(۸۶/۷)	۶(۴۰)	۳(۲۰)	۱۲(۸۰/۱)	۶(۴۰)	۱۱(۷۳/۳)	۴(۲۶/۷)	Resistant

IMP, imipenem; KF, cephalothin; CR, ceftriaxone; CAZ, ceftazidime; CIP, ciprofloxacin, AK, amikacin; CFM, cefixime; GM, gentamicin; SXT, cotrimoxazole.

جدول ۲) الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی گونه‌های پseudomonas جدا شده از نمونه‌های خون بیماران بستری در

بیمارستان امام خمینی کرمانشاه

SXT	GM	CFM	AK	CIP	CAZ	CR	KF	IMP	
۲(۱۳/۳)	۳(۲۰)	۲(۱۳/۳)	۱۱(۷۳/۴)	۱۱(۷۳/۴)	۳(۲۰)	۳(۲۰)	۲(۱۳/۳)	۱۳(۸۶/۷)	Sensitive
—	۵(۳۳/۴)	—	۱(۶/۶)	۱(۶/۶)	۳(۲۰)	۱(۶/۶)	۲(۱۳/۳)	—	Intermediate
۱۳(۸۶/۷)	۷(۴۶/۶)	۱۳(۸۶/۷)	۳(۲۰)	۳(۲۰)	۹(۶۰)	۱۱(۷۳/۴)	۱۱(۷۳/۴)	۲(۱۳/۳)	Resistant

IMP, imipenem; KF, cephalothin; CR, ceftriaxone; CAZ, ceftazidime; CIP, ciprofloxacin, AK, amikacin; CFM, cefixime; GM, gentamicin; SXT, cotrimoxazole.

بحث

به روش‌ها و جمعیت‌های مورد مطالعه (مثلاً بیماران بستری در ICU، بیماران نوتروپنیک و بیماران همودیالیزی) اختلافاتی در برنامه‌های نظارتی اجرایی در کشورهای مختلف جهان وجود دارد. بر اساس آمارهای ارائه شده از سوی گردآوردندگان آمارهای مربوط به مرگ و میر، عفونت‌های گردش خون دهمین علت منجر شونده به مرگ و میر در ایالات متحده آمریکا می‌باشند. بروز واقعی عفونت‌های گردش خون

عفونت‌های گردش خون (BSIs) ناشی از باکتری‌ها سبب ایجاد عوارض مختلف و مرگ و میر در مبتلایان می‌گردند. میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین پاتوژن‌های ایجادکننده عفونت‌های گردش خون در بیمارستان به‌ویژه در بین باکتری‌های گرم منفی از جمله پseudomonas آئروژینوزا، اسیتوباکتر بومانی و کلبسیلا پنومونیه در حال افزایش است (۳۵). با توجه

موضوع می‌تواند با مصرف خودسرانه داروها در کشور ما و همچنین انتقال بتالاکتام‌های باکتریایی کد کننده مقاومت به بتالاکتام‌ها توسط عناصر ژنتیکی متحرک در بیمارستان‌ها رابطه مستقیمی داشته باشد. سفالوتین و سفکسیم از جمله سفالوسپورین‌هایی بودند که سویه‌های اسیتوباکتر و پسودوموناس مقاومت یکسانی نسبت به آن‌ها نشان دادند. سیپروفلوکساسین از آنتی‌بیوتیک‌های گروه کینولون‌ها بود که ایزوله‌ها مقاومت (۲۰ درصد) یکسانی نسبت به آن نشان دادند و اگر چه هدف این گروه آنتی‌بیوتیک‌ها عناصر ژنومی باکتری است که این می‌تواند به دلایل مختلف از جمله بیان ژن *adeB* و نیز بروز موتاسیون نقطه‌ای در ژن‌های *gyrA* و *parC* باشد.

بر اساس گزارشات مانیکال (Manikal) و همکاران تنها ۵۰ درصد ایزوله‌های اسیتوباکتر مورد مطالعه آن‌ها به کاربایتم‌ها حساس بوده‌اند. این ایزوله‌ها به نسل سوم سفالوسپورین‌ها نیز مقاوم بوده‌اند. میزان مقاومت به کاربایتم‌ها در ایزوله‌های بیمارستانی از صفر تا ۱۰۰ درصد گزارش شده است. به‌طور کلی ۱۰ درصد ایزوله‌ها به تمام آنتی‌بیوتیک‌ها بجز به پلی‌میکسین مقاوم بوده‌اند (۳۹). در بین آنتی‌بیوتیک‌های موجود، کاربایتم‌ها (مروپنم، ارتاپنم، دوری‌پنم) به فراوانی برای درمان عفونت ناشی از پسودوموناس آئروژینوزا استفاده می‌شوند. متأسفانه استفاده وسیع از آن‌ها منجر به افزایش مقاومت شده است. بیشتر سویه‌های پسودوموناس آئروژینوزا مقاوم به کاربایتم در بیان *OprD* نقص دارند (۴۰ و ۴۱).

در گزارشی در کشور کره شایع‌ترین ارگانسیم غیرتخمیرکننده جدا شده از بخش NICU را گونه‌های پسودوموناس (۱۱/۴ درصد) گزارش نموده‌اند. میزان مقاومت به باکتری‌های غیر تخمیرکننده از قبیل

در بیمارستان ناشناخته است، اما تخمین زده می‌شود که سالانه تقریباً ۲۵۰۰۰۰ مورد عفونت گردش خون در ایالات متحده آمریکا رخ می‌دهد.

مطالعات اخیر گزارش کرده‌اند که بروز عفونت‌های گردش خون در بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه در حدود ۱ درصد است و در دریافت‌کنندگان پیوند مغز استخوان ۳۶ درصد است (۳۶). میزان مرگ و میر در بین بیماران بستری در ICU در حدود ۳۵ تا ۵۳ درصد است که میزان مرگ و میر مرتبط با عفونت گردش خون در این جمعیت‌ها در حدود ۱۶ تا ۴۰ درصد است (۳۷). گزارش شده که میزان مرگ و میر زمانی که درمان آنتی‌بیوتیکی نامناسب در بیماران بستری در ICU مبتلا به عفونت گردش خون به‌کار برده می‌شود دو برابر شده است یعنی از ۳۰ درصد به ۶۰ درصد رسیده است (۳۷).

میزان بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی و همچنین الگوهای منطقه‌ای گسترش گونه‌ها و حساسیت دارویی در جمعیت بیماران معین در جهت درمان تجربی عفونت‌های گردش خون بیماران بستری در بیمارستان به‌کار گرفته می‌شود (۳۷ و ۳۸).

نتایج حاصل از مطالعه ما نشان داد که ۲۶/۷ درصد ایزوله‌های اسیتوباکتر و ۱۳/۳ درصد سویه‌های پسودوموناس نسبت به آنتی‌بیوتیک ای‌می‌پنم مقاوم می‌باشند که با توجه به اینکه کاربایتم‌ها جزء آخرین خط‌های دارویی در درمان عفونت‌های سویه‌های مقاوم می‌باشند بسیار نگران کننده است. در کشور ما افزایش میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های جدیدتر می‌تواند با گسترش روزافزون تجویز بی‌رویه آن‌ها توسط پزشکان در بیمارستان‌ها و کلینیک‌ها مرتبط باشد. در این مطالعه ایزوله‌های اسیتوباکتر به سفتازیدیم بیش‌ترین مقاومت را نشان دادند که این

منظور جلوگیری از گسترش این باکتری‌ها در بیمارستان و انتقال آن‌ها از بیمارستان به جامعه و همچنین عدم مصرف خودسرانه و عدم تجویز آنتی‌بیوتیک‌هایی که به‌عنوان آخرین خطوط درمانی به‌منظور درمان عفونت‌های باکتریایی استفاده می‌شوند، حائز اهمیت است (۴۷-۴۴).

نتیجه‌گیری

در همه کشورها تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ارگانسیم‌های بیماری‌زا و فرصت‌طلب و به‌ویژه گونه‌های مرتبط با عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان و شناسایی ارگانسیم‌های دارای مقاومت چند دارویی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این تحقیق وجود اسیتوباکتر و پseudomonas مقاوم به دارو در کشت خون بیماران اثبات گردید. با توجه به افزایش رخداد مقاومت آنتی‌بیوتیکی برنامه‌های نظارتی در تعیین نمودن گسترش گونه و الگوهای مقاومت پاتوژن ایجادکننده عفونت خون مهم است زیرا این برنامه‌ها اساس درمان تجربی مناسب را فراهم می‌سازند.

سپاس و قدردانی

از پرسنل آزمایشگاه میکروبی‌شناسی بیمارستان امام خمینی کرمانشاه به دلیل همکاری‌های بی‌دریغشان نهایت سپاسگزاری را داریم.

گونه‌های پseudomonas و اسیتوباکتر نسبت به کاربایتم‌ها ۶/۵ درصد بوده است (۳۳). پseudomonas سویه‌های MDR به سویه‌هایی اتلاق می‌شود که به ۳ مورد یا بیشتر از گروه‌های آنتی‌بیوتیکی شامل پنی‌سیلین‌های ضدپseudomonas (مثلاً پیپراسیلین)، سفالوسپورین‌های ضد پseudomonas (مثلاً سفنازیدیم)، فلوروکینولون‌ها (مثلاً سپیروفلوکساسین)، کاربایتم‌ها و آمینوگلیکوزیدها (جتتامایسین، توبرامایسین، آمیکاسین) مقاوم باشند (۴۲).

مطالعات مختلف در نقاط مختلف جهان نشان می‌دهند که باکتری‌ها نسبت به کاربایتم‌ها به سرعت در حال مقاوم شدن می‌باشند و باید به‌عنوان داروهای خط آخر جهت درمان بیماران مورد استفاده قرار گیرند (۴۳). بر اساس الگوهای اپیدمیولوژیک سویه‌های یک باکتری و حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها، می‌توان راه‌کارهایی جهت پیشگیری طراحی کرد. ژن کدکننده مقاومت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها از یک باکتری به دیگری به آسانی انتقال می‌یابد و از نظر بالینی نسبت به آنزیم‌های کدشونده به وسیله ژن‌های کروموزومی دارای خطر بیشتری است. از آنجایی که بسیاری از کشورهای جهان از جمله کشورهای توسعه‌یافته و نیز کشورهای در حال توسعه هنوز دستورالعمل‌های جامع و قابل‌دسترسی جهت تعیین باکتری‌های مقاوم به چند دارو و شناسایی مکانسیم‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدید ارائه نکرده‌اند، از این رو تدوین راه‌کارهایی به

References:

1. Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol* 2007; 5: 939-51.
2. Su SC, Vanechoutte M, Dijkshoorn L, et al. Identification of non-fermenting Gram-negative bacteria of clinical importance by an oligonucleotide array. *J Med Microbiol* 2009; 58: 596-605.
3. Strateva T, Yordanov D. *Pseudomonas aeruginosa*-a phenomenon of bacterial resistance. *J Med Microbiol* 2009; 58: 1133-48.
4. Karthikeyan RS, Priya JL, Leal Jr SM, et al. Host response and bacterial virulence factor expression in *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptococcus pneumoniae* corneal ulcers. *PLoS One* 2013; 8: e64867.

5. Lu Q, Yu J, Bao L, et al. Effects of Combined Treatment with Ambroxol and Ciprofloxacin on Catheter-Associated *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms in a Rat Model. *Chemotherapy* 2012; 59: 51-6.
6. Bryan CS, Reynolds KL, Brenner ER. Analysis of 1,186 episodes of gram-negative bacteremia in non-university hospitals: the effect of antimicrobial therapy. *Rev Infect Dis* 1983; 5: 629-38.
7. National Research Council. *Infectious Diseases of Mice and Rats*. 1991; 7: 141-45.
8. National Institutes of Health. *Manual of Microbiologic Monitoring of Laboratory Animals*. 1994; 151-54.
9. Khalifa AB, Moissenet D, Thien HV, et al. Virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and modes of regulation. *Ann Biol Clin (Paris)* 2011; 69: 393-403.
10. Morales G, Wiehlmann L, Gudowius P, et al. Structure of *Pseudomonas aeruginosa* populations analyzed by single nucleotide polymorphism and pulsed-field gel electrophoresis genotyping. *J Bacteriol* 2004; 186: 4228-37.
11. Leid JG, Willson CJ, Shirtliff ME, et al. The exopolysaccharide alginate protects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria from IFN- γ -mediated macrophage killing. *J Immunol* 2005; 175: 7512-8.
12. Franklin MJ, Nivens DE, Weadge JT, et al. Biosynthesis of the *Pseudomonas aeruginosa* extracellular polysaccharides, alginate, Pel, and Psl. *Front Microbiol* 2011; 2: 167.
13. Akhabue E, Synnestvedt M, Weiner MG, et al. Cefepime-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Emerg Infect Dis* 2011; 17: 1037-43.
14. Weinstein RA, Gaynes R, Edwards JR. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 848-54.
15. Fluit AC, Jones ME, Schmitz FJ, et al. Antimicrobial susceptibility and frequency of occurrence of clinical blood isolates in Europe from the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997 and 1998. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 454-60.
16. Streit JM, Jones RN, Sader HS, et al. Assessment of pathogen occurrences and resistance profiles among infected patients in the intensive care unit: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (North America, 2001). *Int J Antimicrob Agents* 2004; 24: 111-18.
17. Osmon S, Ward S, Fraser VJ, et al. Hospital mortality for patients with bacteremia due to *Staphylococcus aureus* or *Pseudomonas aeruginosa*. *Chest* 2004; 125: 607-16.
18. Micek ST, Lloyd AE, Ritchie DJ, et al. *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection: importance of appropriate initial antimicrobial treatment. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 1306-11.
19. McGowan JE. Resistance in nonfermenting gram-negative bacteria: multidrug resistance to the maximum. *Am J Med* 2006; 119: S29-36.
20. Trouillet JL, Vuagnat A, Combes A, et al. *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia: comparison of episodes due to piperacillin-resistant versus piperacillin-susceptible organisms. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 1047-54.
21. Roberts JA, Webb SA, Lipman J. Cefepime versus ceftazidime: considerations for empirical use in critically ill patients. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 29: 117-28.
22. Bergogne-Bérézin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9: 148-65.
23. Joshi SG, Litake GM, Niphadkar KB, et al. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from teaching hospital. *J Infect Chemother* 2003; 9: 187-90.
24. Lee K, Lee GW, Uh Y, et al. VIM-and IMP-type metallo- β -lactamases-producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. in Korean hospitals. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 868-71.
25. Denton M, Wilcox MH, Parnell P, et al. Role of environmental cleaning in controlling an outbreak of *Acinetobacter baumannii* on a neurosurgical intensive care unit. *J Hosp Infect* 2004; 56: 106-10.
26. Weber DJ, Rutala WA, Miller MB, et al. Role of hospital surfaces in the transmission of emerging health care-associated pathogens: norovirus, *Clostridium difficile*, and *Acinetobacter* species. *Am J Infect Control* 2010; 38: S25-33.
27. Muñoz-Price LS, Weinstein RA. *Acinetobacter* infection. *New Engl J Med* 2008; 358: 1271-81.
28. Morgan DJ, Weisenberg SA, Augenbraun MH, et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in New York City—10 years into the epidemic. *Infect Control* 2009; 30: 196-7.
29. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol*

- Infect 2006; 12: 826-36.
30. Park YK, Peck KR, Cheong HS, et al. Extreme drug resistance in *Acinetobacter baumannii* infections in intensive care units, South Korea. *Emerg Infect Dis* 2009; 15: 1325-27.
 31. Murty DS, Gyaneshwari M. Blood cultures in paediatric patients: A study of clinical impact. *Indian J Med Microbiol* 2007; 25: 220-4.
 32. Guilarde AO, Turchi MD, Martelli CM, et al. Bacteremias at a teaching hospital: etiology, antimicrobial susceptibility pattern and risk factors for mortality. *Rev Assoc Med Bras* 2007; 53: 34-8.
 33. Latif SH, Anwar MS, Ahmad I. Bacterial pathogens responsible for blood stream infection (BSI) and pattern of drug resistance in a tertiary care hospital of Lahore. *Biomedica* 2009; 25: 101-5.
 34. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2011, M100-S21. Vol. 31 No. 1.
 35. Marra AR, Camargo LF, Pignatari AC, et al. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals: analysis of 2,563 cases from a prospective nationwide surveillance study. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 1866-71.
 36. Collin BA, Leather HL, Wingard JR, et al. Evolution, incidence, and susceptibility of bacterial bloodstream isolates from 519 bone marrow transplant patients. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 947-53.
 37. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, et al. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 309-17.
 38. Ibrahim EH, Sherman G, Ward S, et al. The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. *Chest* 2000; 118: 146-55.
 39. Manikal VM, Landman D, Saurina G, et al. Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: citywide prevalence, interinstitutional spread, and relation to antibiotic usage. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 101-6.
 40. Li H, Luo YF, Williams BJ, et al. Structure and function of OprD protein in *Pseudomonas aeruginosa*: from antibiotic resistance to novel therapies. *Int J Med Microbiol* 2012; 302: 63-8.
 41. Vitkauskienė A, Skrodenienė E, Dambrauskienė A, et al. Characteristics of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains in patients with ventilator-associated pneumonia in intensive care units. *Medicina (Kaunas)* 2010; 47: 652-6.
 42. Giske CG, Monnet DL, Cars O, et al. Clinical and economic impact of common multidrug-resistant gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 813-21.
 43. Chuang YC, Sheng WH, Lauderdale TL, et al. Molecular epidemiology, antimicrobial susceptibility and carbapenemase resistance determinants among *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect* 2014; 47: 324-32.
 44. 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 Pediatr* 2014; 24: 261-6.
 45. Abbas Poor S, Mardaneh J, Dehbashi S, Jasemi S. 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. *ISMJ* 2014; 17: 647-57.
 46. Ahmadi K, Mardaneh J, Saadat S. Determination antimicrobial resistance profile of *Acinetobacter* strains isolated from hospitalized patients in Different Part of Taleghani Hospital (Ahvaz, Iran). *ISMJ* 2014; 17: 620-28.
 47. Mardaneh J, Soltan Dallal MM, Taheripour M, Rajabi Z. Isolation, Identification and Antimicrobial Susceptibility Pattern of *Tatumella ptyseos* Strains Isolated from Powdered Infant Formula Milk Consumed in Neonatal Intensive Care Unit: First Report from Iran 2014; 7: e10608.

Original Article

Isolation *Pseudomonas* and *Acinetobacter* from Blood Specimens in Patients Hospitalized in Emam Khomeini Hospital (Kermanshah)

SS. Jasemi¹, F. Alipoor², S. Dehbashi¹, J. Mardaneh^{3*}

¹ Microbiology Division, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

² Medical Microbiology Laboratory, Emam Khomeini Hospital, Kermanshah, Iran.

³ Prof. Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Nemazee Hospital, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

(Received 23 Jul, 2013 Accepted 17 Nov, 2013)

Abstract

Background: Bloodstream infections (BSIs) are an important cause of morbidity and mortality. The rates of antibiotic resistance among pathogens causing health care-associated infections are increasing, principally among Gram-negative organisms such as *Pseudomonas*, and *Acinetobacter*. The goal of this study was isolation *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. from blood specimens in patients hospitalized in Emam Khomeini hospital (Kermanshah) and subsequently determination susceptibility patterns of isolates.

Materials and Methods: In this cross-sectional study 2382 blood samples collected from 2285 hospitalized patients. Blood specimens were inoculated in blood culture tubes media, and subsequently subculture performed on common microbiological media. The isolated *Pseudomonas*, and *Acinetobacter* were identified and confirmed by morphological and biochemical laboratory tests. Antimicrobial sensitivity test was performed by using the standard disc diffusion method according to CLSI (2012) recommendations.

Results: During present study 2382 blood samples were collected. 133 (5.6%) specimens were positive in bacterial culture. *Acinetobacter*, and *Pseudomonas* were isolated from 15 (11.2%) and 15 (11.2%) of positive blood cultures, respectively. The isolated *Acinetobacter* were most frequent resistant to cefixime (86.7%), ceftazidime (80.1%), cephalothin (73.4%), and co-trimoxazole (73.4%). The *Pseudomonas* isolates showed a high level of resistance to co-trimoxazole (86.7%), cefixime (86.7%), ceftriaxone (73.4%), cephalothin (73.4%), and ceftazidime (60%).

Conclusion: In this research, drug-resistant *Pseudomonas* and *Acinetobacter* were identified in patient's blood cultures. In the face of increasing antibiotic resistance, surveillance programs have become important in determination the species distribution and resistance patterns of pathogens causing bloodstream infection, and thus are providing the basis for appropriate empirical therapy of patients.

Key words: Bloodstream infection (BSI), *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, antibiotic susceptibility

*Address for correspondence: Jalal Mardaneh, Prof. Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Nemazee Hospital, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran. E-mail: Jalalmardaneh@yahoo.com