مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۱۶، شماره ۴، زمستان ۸۵، صفحات ۲۱۱ تا ۲۱۵

Original Article

بررسی مقایسه‌ای نتایج حساسیت ضد میکروبی با دو روش Disk diffusion و E test جهت آنتی‌بیوتیک‌های اگزاسیلین و وانکومایسین

دکتر زهره ملکی[۱]، **دکتر صغری انجرانی**[۲]

[۱] استادیار، گروه پاتولوژی، بیمارستان امام خمینی(ره) ، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۲] دستیار، گروه پاتولوژی، بیمارستان امام خمینی(ره) ، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

سابقه و هدف: *استافیلوکوک اورئوس یکی از مهم‌ترین عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد که روز به روز بر مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن به گروه بتالاکتام و وانکومایسین افزوده می شود. در این مطالعه ضمن بررسی فراوانی سوش‌های استافیلوک اورئوس بیمارستانی مقاوم به اگزاسیلین و وانکومایسین، میزان همخوانی دو روش Disk diffusion و E test در تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی مورد بررسی قرار گرفت.*

روش بررسی: *در این مطالعه مقطعی، ۱۰۰نمونه استافیلوکوک اورئوس جدا شده از نمونه‌های ارسالی به بخش میکروب‌شناسی مجتمع بیمارستانی امام خمینی تهران با دو روش حساسیت آنتی بیوتیکی disk diffusion و E test در شرایط استاندارد مورد بررسی قرار گرفتند.*

یافته‌ها: *۴۲ (۴۲٪) مورد استافیلوکوک اورئوس مقاوم به اگزاسیلین MRSA یافت شد که نشان دهنده شیوع نسبتاً بالای MRSA در این بیمارستان است. همان‌گونه که انتظار می‌رفت، هیچ موردی از VISA (استافیلوکوک اورئوس با سطح متوسط حساسیت به وانکومایسین) و VRSA (مقاومت استافیلوکوک اورئوس به وانکومایسین) مشاهده نشد. این عفونت‌های استافیلوکوکی مربوط به بخش‌های داخلی (۲۶٪)، جراحی قلب (۲۳٪)، محل نمونه‌گیری زخم (۲۶٪)، محل جراحی (۲۰٪)، کشت خون (۱۷٪) و پروتزها (۱۴٪) بودند.*

نتیجه‌گیری: *در مطالعه ما دو آزمون ۱۰۰٪ با هم همخوانی داشتند که نشانگر قابل اعتماد بودن روش disk diffusion (در صورت کاربرد دقیق آن) جهت تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌باشد.*

واژگان کلیدی: *استافیلوکوک اورئوس، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، Disk diffusion test، E test*

مقدمه

استافیلوکوک اورئوس یکی از مهم‌ترین عفونت‌های بیمارستانی است که روز به روز بر مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن به گروه بتالاکتام و وانکومایسین افزوده می‌شود (۳-۱).

روش قابل اجرا در اکثر آزمایشگاه‌ها جهت تعیین حساسیت به آنتی بیوتیک روش disk diffusion است. در این روش، جواب آزمایش بصورت کیفی و به سه حالت مقاوم، بینابینی و حساس گزارش می‌شود. این روش برای تعیین حداقل دوز دارویی مهار کننده (MIC) کمک‌کننده نیست. یکی از روش‌های استاندارد در تعیین MIC، روش E test است (۳).

همخوانی مناسبی بین دو روش disk diffusion (DDT) و E test گزارش شده است، به‌طوری که توافق دو روش E test و Disk Diffusion جهت حساسیت آنتی بیوتیکی روی استافیلوکوک اورئوس در مطالعه‌ای که در ایتالیا در سال ۲۰۰۲ صورت گرفت، ۸۹/۷٪ محاسبه شد (۴). در مطالعه‌ای دیگر، در بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیک mupirocin بر

آدرس نویسنده مسئول: تهران، بیمارستان امام خمینی (ره)، آزمایشگاه ولی عصر (عج)، دکتر زهره ملکی، سلامت (**email**: zohrehmaleki2000@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۱/۲۳
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۵/۹/۲۵

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-10-12]

استافیلوکوک اورئوس دو روش E test و Disk Diffusion همخوانی ۹۵٪ داشتند (۵). در مطالعه دکتر ضیاء حق‌بشر در دو بیمارستان امام خمینی و سینای شهر تهران در بررسی حساسیت چهار میکروب سودوموناس، E coli و اسینتوباکتر و کلبسیلا به آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، ایمی‌پنم و سفپیم، ارتباط معنی‌دار و همخوانی مناسبی بین دو روش در تمامی موارد وجود داشت (۶).

در این مطالعه ضمن بررسی فراوانی سوش‌های استافیلوک اورئوس بیمارستانی مقاوم در برابر اگزاسیلین و وانکومایسین، میزان همخوانی دو روش تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی مورد بررسی قرار گرفت تا ضرورت انجام روتین E test، که به علت ساده بودن در اکثر آزمایشگاه‌ها قابل اجرا است ولی با توجه به هزینه بالای آن به صورت روتین انجام نمی‌گیرد، در عفونت استافیلوکوک اورئوس ارزیابی شود.

مواد و روشها

این مطالعه مقطعی بر روی ۱۰۰ نمونه‌ای که به بخش میکروب‌شناسی مجتمع بیمارستانی امام خمینی ارسال شده بود و با روش های دقیق آزمایشگاهی (کاتالاز، کواگولاز، DNAase مثبت ورشد در مانیتول سالت آگار به همراه ایجاد هاله زرد رنگ و ایجاد ناحیه مهار رشد در اطراف دیسک تشخیصی نوبیوسین) استافیلوکوک اورئوس آنها محرز شده بود، انجام گرفت (۷). از زمان بستری بیمار باید بیش از ۴۸ ساعت می گذشت تا وارد مطالعه گردد. اگر از یک بیمار دو یا چند جایگاه کشت از نظر استافیلوکوک اورئوس مثبت می‌شد، اولین نمونه وارد مطالعه می‌گردید و نمونه‌های دیگر از همان بیمار مورد بررسی قرار نمی‌گرفت.

جهت انجام Disk diffusion وتعیین MIC با E test از محیط Muller-Hinton و سوسپانسیون 0.5Mc farland استفاده شد که کنترل آن توسط سوش استاندارد انتروکوک فکالیس با (ATCC 29212) وحساسیت با ناحیه مهاری ≤ ۲۰ میلی‌متر نسبت به دیسک SXT صورت می‌گیرد. مدت انکوباسیون محیط مولر هینتون ۲۴ ساعت بود.

آنتی بیوگرام به روش Disk diffusion با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی اگزاسیلین و وانکومایسین ساخت شرکت High media (Indian) و MIC باروش E test با استفاده از نوارهای E test اگزاسیلین و وانکو مایسین ساخت شرکت Sweden A.B Bio Disk انجام شد و نتایج به صورت کمی و کیفی ثبت گردید. در روش Disk diffusion، برای دیسک اگزاسیلین ۱ میلی‌گرمی ناحیه مهاری بیشتر یا مساوی ۱۳ میلی‌متر حساس، در حد فاصل ۱۲-۱۱ میلی‌متر نیمه حساس و کمتر یا مساوی ۱۰ میلی‌متر مقاوم در نظر گرفته شد. برای دیسک وانکومایسین ۳۰ میلی‌گرمی ناحیه مهاری بیشتر یا مساوی ۱۵ میلی‌متر حساس و کمتر از این مقدار به عنوان مقاوم در نظر گرفته شد. در روش E test، برای اگزاسیلین مقادیرMIC بیشتر یا مساوی ۴ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر مقاوم و مقادیر بیشتر یا مساوی ۲ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر حساس و برای وانکومایسین، مقادیربیشتر یا مساوی ۴ میکروگرم‌دردسی‌لیتر حساس، مقادیر ۱۴-۸ میکروگرم‌دردسی‌لیتر نیمه حساس و مقادیر بیشتر یا مساوی ۳۲ میکروگرم‌دردسی‌لیتر مقاوم در نظر گرفته شد.

کنترل دیسک اگزاسیلین توسط سوش استاندارد استافیلوکوک اورئوس با ATCC 25923 و دیسک اگزاسیلین ۱میلی‌گرم با ناحیه مهاری ۲۴-۱۸ میلی‌متربود. کنترل دیسک وانکومایسین توسط سوش استاندارد استافیلوکوک اورئوس با ATCC25923 و دیسک وانکومایسین۳۰میلی‌گرم با ناحیه مهاری ۲۱-۱۷ میلی‌متر بود. کنترل E test توسط سوش استاندارد استافیلوکوک اورئوس با ATCC29213 بود که برای اگزاسیلین، استاندارد OXA 0.120.5µg/ml وبرای وانکومایسین، استاندارد 0.5-2µg/ml VAV در نظر گرفته شد (۸).

نتایج کشت میکروبی، محل نمونه‌برداری، نتایج مربوط به آنتی‌بیوگرام استافیلوکوک اورئوس و اعداد مربوط به ناحیه مهاری در E test ثبت گردید. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS version 11.5 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای بررسی همخوانی بین دو روش از ضریب کاپا (Kappa) استفاده گردید.

یافته‌ها

در هر دو روش DDT و E test، ۴۲ (۴۲٪) مورد استافیلوکوک اورئوس مقاوم به اگزاسیلین (MRSA) یافت شد، اما تمام نمونه‌ها به وانکومایسین حساسیت نشان دادند.

جدول ۱ به تفکیک بخش بستری بیمارانی که نمونه استافیلوکوک اورئوس از آنها بدست آمده و تعداد نمونه‌ها و درصد مقاومت آنها به اگزاسیلین در روش E test را نشان می‌دهد. بیشترین نمونه‌ها مربوط به بخش‌های داخلی (۲۶٪)،

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-10-12]

بخش جراحی قلب (۲۳٪)، بخش عفونی (۱۲٪) و بخش کودکان و نوزادن (۱۱٪) بود. ۷۳/۹ درصد نمونه‌های مربوط به بخش جراحی قلب و ۸۰ درصد نمونه‌های جدا شده از بیماران بخشهای ICU و NICU مقاوم به اگزاسیلین بودند. نتایج مربوط به DDT نیز کاملاً بر آن منطبق بودند.

جدول ۱- توزیع فراوانی نسبی مقاومت به اگزاسیلین در استافیلوکوک اورئوس با روش E test در بیمارستان امام خمینی تهران به تفکیک بخش بستری

بخش	موارد مقاوم	موارد حساس
جراحی قلب (n=۲۳)	۱۷ (۷۳/۹)*	۶ (۲۶/۱)
جراحی عمومی، ENT و توراکس (n=۹)	۴ (۴۴/۴)	۵ (۵۵/۶)
کودکان و نوزادان (n=۱۱)	۴ (۳۶/۴)	۷ (۶۳/۶)
ICU و NICU (n=۵)	۴ (۸۰)	۱ (۲۰)
بخش های داخلی (n=۲۶)	۶ (۲۳/۱)	۲۰ (۷۶/۹)
ارتوپدی (n=۴)	۳ (۷۵)	۱ (۲۵)
جراحی ترمیمی (n=۳)	۱ (۳۳/۳)	۲ (۶۶/۷)
جراحی اعصاب (n=۱)	۰	۱ (۱۰۰)
عفونی (n=۱۲)	۳ (۲۵)	۹ (۷۵)
پوست (n=۶)	۰	۶ (۱۰۰)
جمع (n=۱۰۰)	۴۲ (۴۲)	۵۸ (۵۸)

* اعداد داخل پرانتز درصد را نشان می دهند.

جدول ۲- توزیع فراوانی نسبی مقاومت به اگزاسیلین در استافیلوکوک اورئوس با روش E test در بیمارستان امام خمینی تهران بر اساس محل نمونه گیری

محل نمونه گیری	موارد مقاوم	موارد حساس
زخم (n=۲۶)	۵ (۱۹/۲)*	۲۱ (۸۰/۸)
کشت خون (n=۱۷)	۷ (۴۱/۲)	۱۰ (۵۸/۸)
محل جراحی (n=۲۰)	۱۲ (۶۰)	۸ (۴۰)
مایع مفصل (n=۵)	۰	۵ (۱۰۰)
مایع پلور و پریکارد (n=۸)	۳ (۳۷/۵)	۵ (۶۲/۵)
چشم (n=۵)	۳ (۶۰)	۲ (۴۰)
کاتتر و درن و CVP و تراکئوستومی (n=۱۴)	۹ (۶۴/۳)	۵ (۳۵/۷)
خلط و ترشحات خلط (n=۳)	۳ (۱۰۰)	۰
CSF (n=۲)	۰	۲ (۱۰۰)
جمع (n=۱۰۰)	۴۲ (۴۲)	۵۸ (۵۸)

* اعداد داخل پرانتز درصد را نشان می دهند.

بر اساس محلی که نمونه استافیلوکوک اورئوس از آن بدست آمد، بیشترین شیوع مربوط به زخم (۲۶٪)، محل جراحی (۲۰٪)، کشت خون (۱۷٪) و محلهای مربوط به اجسام خارجی از جمله کاتتر، درن، CVP و تراکئوستومی (۱۴٪) بود. بیشترین فراوانی مقاومت، مربوط به محل جراحی (۶۰٪)، نمونه های جدا شده از چشم (۶۰٪) و تمامی نمونه های خلط و ترشحات حلق (۱۰۰٪) بود. در ضمن نمونه های جدا شده از سایتهای استریل مثل مایع مفصل و CSF حساسیت ۱۰۰٪ به گروه بتالاکتام‌ها را نشان دادند که با نتایج روش DDT مطابقت داشت (جدول ۲).

۴۲ (۴۲٪) مورد استافیلوکوک اورئوس مقاوم به اگزاسیلین (MRSA) و ۵۸ نمونه حساس و نیز ۱۰۰ نمونه حساس به وانکومایسین، در هر دو روش DDT و E test با هم هم‌خوانی کامل داشتند و ضریب کاپای آن ۱۰۰ درصد به دست آمد.

بحث

در این مطالعه، در ۴۲٪ موارد مقاومت نسبت به اگزاسیلین در نمونه‌های استافیلوکوک اورئوس بدست آمد، به عبارتی MRSA (استافیلوکوک اورئوس های مقاوم به متی‌سیلین) ۴۲٪ بود. در کتب هاریسون و دیویدسون و نیز آمار منطقه مدیترانه شیوع MRSA بین ۵۰-۴۰٪ ذکر شده است (۱،۳،۹). شیوع MRSA در کشور آرژانتین بالای ۴۵٪ (۱۰)، در آفریقا در سال ۱۹۹۷ بین ۳۰-۲۱٪ (۱۱) و در بیمارستان بزرگ مصطفی پاشا ۳۲/۲٪ بوده است (۱۲) که تا حدودی با مطالعه ما همخوانی دارد. مطالعه ما نشان می‌دهد که فراوانی MRSA در بیمارستان امام خمینی شهر تهران فاصله زیادی با شیوع آن در کشورهایی مثل اسکاندیناوی با شیوع زیر ۲٪ دارد (۹) و جزو مراکز با شیوع نسبتا بالا می‌باشد.

در این مطالعه، هیچ موردی از VISA (استافیلوکوک اورئوس با سطح متوسط حساسیت به وانکومایسین) و VRSA (مقاومت استافیلوکوک اورئوس نسبت به وانکومایسین) دیده نشد و ۱۰۰٪ سوش‌های استافیلوکوک اورئوس به وانکومایسین حساس بودند. در مطالعه بزرگی که در طی ۴ سال روی ۷۹۲۰ نمونه استافیلوکوک اورئوس به عمل آمد، تنها ۱/۶۷٪ نمونه‌ها با سطح متوسط حساسیت به وانکومایسین (VISA) گزارش شدند (۲). در مطالعه کشور برزیل در سال ۲۰۰۲ نیز کلیه سوش‌های استافیلوکوک اورئوس به وانکومایسین با هر دو روش Disk Diffusion و E test حساس بودند (۱۰).

با توجه توزیع فراوانی نسبی استافیلوکوک اورئوس جدا شده از بخش‌های مختلف مجتمع بیمارستانی و بر حسب محل نمونه گیری، توجه ویژه به بخش‌های پرخطر و سایت‌های جراحی، زخم‌ها و پروتزها ضروری است. فراوانی مقاومت به اگزاسیلین در استافیلوکوک اورئوس (MRSA) برحسب بخش بستری و محل نمونه گیری نشان داد که توجه به دو بخش جراحی قلب

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-10-12]

و بخش‌های مراقبت ویژه و نیز سایت‌های جراحی از نظر کنترل عفونت بیمارستانی استافیلوکوک اورئوس مخصوصاً از نوع مقاوم به بتالاکتام‌ها (MRSA) ضروری است.

در این مطالعه، دو روش E test و Disk Diffusion با همخوانی ۱۰۰٪ داشتند. در مطالعه‌ای دیگر، دو روش E test و Disk Diffusion در بررسی حساسیت استافیلوکوک اورئوس به آنتی‌بیوتیک mupirocin همخوانی ۹۵٪ داشتند (۵). در مطالعه ای که در ایتالیا در سال ۲۰۰۲ صورت گرفت، توافق این دو روش ۸۹/۷٪ محاسبه شد (۴). در مطالعه دکتر ضیاء حق‌بشر در دو بیمارستان امام خمینی و سینای شهر تهران در بررسی حساسیت چهار میکروب سودوموناس، E coli و اسینتوباکتر و کلبسیلا به آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، ایمی‌پنم و سفپیم، ارتباط معنی‌دار و همخوانی مناسبی بین دو روش در تمامی موارد وجود داشت (۶).

اما بر خلاف مطالعه ما، Jansen و همکاران بین MIC مقاوم و متوسط استافیلوکوک اورئوس در روش E test با DDT در مورد آنتی‌بیوتیک تیکوپلانین ارتباط معنی داری پیدا نکردند و به این نتیجه رسیدند که MIC با روش E test برای بدست آوردن گونه‌های مقاوم از DDT قابل اعتمادتر است (۱۳). در مطالعه‌ای در کشور برزیل در سال ۲۰۰۲، علی‌رغم حساسیت تمام وانکومایسین با هر دو روش E test و Disk Diffusion، در مورد آنتی بیوتیکی دیگر (تیکوپلانین) ۲مورد با DDT حساسیت متوسط گزارش شد که در MIC به روش E test حساس بود و ۲ مورد در DDT حساس به تیکوپلانین گزارش شده بود که در MIC به روش E test حساسیت متوسط داشت (۱۴). درمطالعه Dillard و همکاران بر روی مقاومت استافیلوکوک اورئوس به اگزاسیلین با روش‌های مختلف، حداکثر میزان خطا (major error rate) برای Disk Diffusion ۲/۴٪ و برای E test ۱/۲٪ گزارش شد و عملی‌ترین و به‌صرفه‌ترین روش جهت تعیین MRSA، روش E test معرفی شد (۱۵).

لذا با توجه به اینکه نتایج دو روش دیسک دیفیوژن و E test برای بررسی مقاومت ارگانیسم‌ها همخوانی مناسبی دارد و با در نظر گرفتن دسترسی آسان و به صرفه بودن روش دیسک دیفیوژن، هنوز هم می‌توان برای بررسی مقاومت ارگانیسم‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها به روش دیسک دیفیوژن اعتماد کرد. البته کاربرد صحیح و دقیق روش دیسک دیفیوژن برای بررسی مقاومت ارگانیسم‌ها به آنتی بیوتیک‌ها نقش بسیار مهمی دارد. توصیه می‌گردد مطالعاتی جهت تعیین ژنوتیپ و زیرگروه‌های استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) برحسب ژن با روش‌های بیوتکنولوژی و مولکولیار به صورت گسترده صورت گیرد.

REFERENCES

1. Weinstein R. Hospital-acquired infections. In: Kasper D, Fauci A, Longo D. Harrison's principles of internal medicine. 16th edition. New york: MC Graw-Hill; 2005: 775-821.
2. Liu C, Henry F. Staphylococcus aureus with heterogenous resistance to vancomycin, epidemiology, clinical significance and critical assessment of diagnostic methods. Antimicrobial Agents Chemother 2003;47(10):3040-45.
3. Michael B, Gail L. In vitro testing of antimicrobial agents. In: John Bernard H. Clinical diagnosis and management by Laboratory methods. 20th ed, Philadelphia: WB Saunders; 2001:1119-23.
4. Di Bonaventura G, D'Antonio D, Catamo G, Ballone E, Piccolomini R. Comparison of Etest, agar dilution, broth microdilution and disk diffusion methods for testing in vitro activity of levofloxacin against Staphylococcus spp. isolated from neutropenic cancer patients. Int J Antimicrob Agents 2002;19(2):147-54.
5. Palepou MF, Johnson AP, Cookson BD, Beattie H, Charlett A, Woodford N. Evaluation of disk diffusion and E test for determining the susceptibility of staphylococcus aureus to Mupirocin. J Antimicrobial chemotherapy 1998;42(5):577-83.
6. ضیاء بشرحق ندا، بررسی الگوی مقاومت باسیلهای گرم منفی بدست آمده از نمونه های بالینی بیماران بستری در ICU بیمارستانهای سینا و امام با روش E test از فروردین ۸۳ لغایت فروردین ۸۴. پایان نامه دکتری عمومی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، سال۱۳۸۴.
7. Annonymous. Staphylococcus aureus resistance to vancomycin, US, 2002. Centers for Disease control and prevention (CDC) 2002 July;51(26):565-567.
8. Clinical and laboratory standards institute, 2005. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing :5th informational supplement. CLSI/NCCLS M100-S15.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-10-12]

9. Stefani S, Varaldo PE. Epidemiology of methicillin-resistant staphylococci in Europe. Clin Microbiol Infect 2003;9(12):1179

10. Sola C, Cortes P, Saka H, Cordoba MRSA Collaborative Study Group, Vindel A, Bocco JL. Evoluation and molecular characterization of methicillin-resistant staphylococcus aureus epidemic and sporadic clones in Cordoba, Argentina. J clin Microbiol 2006;44(1):192-200.

11. Kesab CS, Ben Redieb TO, Odugbemi CS. Prevalence of methicillin-resistant staphylococcus aureus in African hospitals and Malta. Clin Microbial Infect 2003; 9: 153-56.

12. Ramdani-Bouguessa N, Bes M, Meugnier H. Detection of methicillin resistant staphylococcus aureus strains to multiple antibiotics and carrying the panton-valentine leukocidin genes in an Algiers Hospital. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50(3): 1083-85.

13. Jansen B, Schumacher-Perdreau F, Pulverer G. Susceptibility of staphylococci and enterococci to glycopeptides comparison of 3 test methods. Zentrabl Bakterio 1995; 282(4): 402-8.

14. Ferreira Nunes AP, Martins Teixeira L, Reis Bastos CC. Susceptibility of Brazilian staphylococcal strain to glycopeptides evaluated by different testing methods. Curr Microbiol 2002; 44(6): 385-90.

15. Dillard SC. Detection of oxacillin-resistance in staphylococcus aureus by microscan MIC panels in comparison to four other method. J Dian Microbial Infect Dis 1996; 24(2): 93-100.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-10-12]