بررسی میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی آسینتوباکتر بومانی جدا شده از بیماران بستری شده در بیمارستان‌های قائم (عج) و امام رضا (ع) مشهد نسبت به کلیستین و ایمیپنم به روش E-test

هادی صفدری[1*]، ابوالفضل مقرونی[2]، دکتر هادی فارسیانی[3]

۱. مربی گروه باکتری‌شناسی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۲. کارشناس علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۳. استادیار گروه باکتری‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۱۰ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۷/۱۱/۰۸

خلاصه

مقدمه: آسینتوباکتر بومانی، یکی از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی است. افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، نگرانی‌ها را درباره درمان این عفونت‌ها افزایش داده است. مطالعه حاضر با هدف تعیین حساسیت آسینتوباکتر بومانی نسبت به کلیستین و ایمیپنم با استفاده از حداقل غلظت مهاری (MIC) انجام شد.

روش‌کار: در این مطالعه ۲۷۴۵ نمونه (۲۷۴۵ پلیت) از بیماران بخش‌های مختلف بیمارستان‌های قائم (عج) و امام رضا (ع) شهر مشهد در فاصله مهر ۱۳۹۵ تا مهر ۱۳۹۶ جمع‌آوری گردید. در صورتی‌که نمونه زخم بود، با استفاده از سواپ استریل پس از ضد عفونی کردن سطح زخم، از قسمت عمقی نمونه‌برداری انجام گرفت. در مورد ادرار، وسط ادرار در یک ظرف استریل جمع‌آوری شد و نمونه برنش توسط پزشک توسط سرنگ نمونه گرفته شد. ۱۰۰ آسینتوباکتر بومانی از نمونه‌ها با تست‌های بیوشیمیایی همچون محیط کلیگلر، اوره، سیترات، تست اندول و لیزین شناسایی گردید. بررسی حساسیت به آنتی‌بیوتیک با دیسک دیفیوژن انجام گرفت و توسط MIC (نوارهای E-test) ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج دیسک دیفیوژن مقاومت کامل نمونه‌های جدا شده به ایمیپنم را نشان داد که به‌وسیله نوارهای E-test این نتیجه تأیید گردید. تمامی نمونه‌ها به کلیستین حساس بودند. کمترین میزان MIC به‌دست آمده ۰/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بیشترین میزان MIC، ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که بر اساس استاندارد CLSI، این نمونه‌ها حساس در نظر گرفته شدند.

نتیجه‌گیری: مقاومت بالای آسینتوباکتر بومانی به ایمیپنم، نشان‌دهنده تغییر الگوی مقاومت این باکتری و ناکارآمدی آنتی‌بیوتیک مذکور برای درمان است، اما کلیستین همچنان مؤثر می‌باشد. برای جلوگیری از گسترش گونه‌های مقاوم به کلیستین، باید از این دارو حدالمقدور کمتر استفاده شود تا مقاومت نسبت به این دارو در آینده ایجاد نگردد.

کلمات کلیدی: آسینتوباکتر بومانی، ایمیپنم، کلیسیتین، MIC، E-test

* **نویسنده مسئول مکاتبات:** هادی صفدری؛ دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. **تلفن:** ۰۵۱-۳۸۸۴۶۷۱۱؛ **پست الکترونیک:** SafdariH@mums.ac.ir

مقدمه

آسینتوباکتر بومانی پاتوژنی فرصت‌طلب متعلق به کلاس گاماپرتئوباکتر می‌باشد؛ این گونه در خاک و محیط‌های بیمارستانی فراوان است. آسینتوباکتر بومانی یک کوکوباسیل هوازی و گرم منفی است. این باکتری غیرمتحرک، غیرتخمیری و اکسیداز منفی است و بیشتر به‌صورت دوتایی یافت می‌شود (۱، ۲). این باکتری جزء فلور نرمال پوست نیز می‌باشد. به‌نظر می‌رسد که ۲۵٪ افراد سالم ناقل آسینتوباکتر بومانی می‌باشند (۳، ۴).

آسینتوباکتر بومانی یکی از عوامل عفونت‌های بیمارستانی به همراه پسودوموناس آئروژینوزا[1]، استافیلوکوکوس اورئوس[2]، انتروکوکوس فکالیس[3] و اشریشیا کلی[4] می‌باشد. آسینتوباکتر بومانی می‌تواند باعث عفونت‌های بیمارستانی شدید از جمله پنومونی مرتبط ونتیلاتور (VAP)[5] سپتی سمی، مننژیت ثانویه، عفونت‌های پوست و بافت‌های نرم و عفونت مجاری ادراری به‌خصوص در بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) شود (۱۱-۸). عوارض ناشی ونتیلاتور و سپتی سمی در میان مهم‌ترین عفونت‌های ذکر شده با بیشترین میزان مرگ‌ومیر هستند (۱۲).

آسینتوباکتر بومانی در محیط پراکنده است و می‌تواند در شرایط سخت زنده باقی بماند و به طیف وسیعی از آنتی بیوتیک‌ها مقاومت نشان می‌دهد (۵). آسینتوباکتر بومانی توسط مؤسسه ملی آلرژی و بیماری‌های عفونی (NIAID)[6] به‌عنوان یکی از شش میکروارگانیسم مقاوم به چند دارو (MDR)[8] در بیمارستان‌ها شناخته می‌شود (۶). آسینتوباکتر بومانی می‌تواند سبب عفونت‌های اکتسابی شود. این باکتری باعث عفونت‌های متوسط تا شدید می‌شود که شدت این عفونت با توجه به بافت درگیر، مقاومت بدن بیمار و بیماری‌های زمینه‌ای بیمار متفاوت است (۷). افراد با سیستیک فیبروزیس، نوتروپنی، سیستم ایمنی سرکوب شده و یا سیستم ایمنی معیوب، در خطر بیشتری برای ابتلاء به عفونت‌های مذکور هستند. با این وجود، افراد با بیماری‌های زمینه‌ای یا بستری شده در بیمارستان به‌علت ورود راحت‌تر باکتری به‌وسیله زخم، کاتتر و یا ونتیلاتور مستعدتر به ایجاد عفونت هستند (۳، ۴).

مقاومت‌های آنتی‌باکتریال در نتیجه استفاده نابجا یا استفاده بیش از حد آنتی‌بیوتیک‌ها ایجاد می‌شود. مقاومت آسینتوباکتر بومانی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها از سال ۱۹۷۰ به‌صورت فزاینده‌ای افزایش یافته است (۱۳). تا پیش از سال ۲۰۰۷، بیشتر گونه‌های آسینتوباکتر نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها حساس بودند. در سال ۲۰۰۷ بیشتر از ۷۰٪ آسینتوباکترهای جدا شده (از منابع مختلف) به چندین دارو مقاومت نشان دادند؛ از جمله کارباپنم‌ها که داروهای مؤثری در درمان عفونت‌های حاصل از آسینتوباکتر بودند (۱۴). چندین مکانیسم برای توضیح مقاومت آسینتوباکتر بومانی نسبت به کارباپنم‌ها ارائه شده است که می‌توان به تولید کارباپنماز شبه اکساسیلیناز[5]، کاهش نفوذپذیری غشای خارجی توسط کاهش یا حذف بیان پورین‌های 29 KDa و 33 KDa و تغییرات در پروتئین متصل شونده به پنی‌سیلین اشاره کرد (۱۷-۱۵).

به‌نظر می‌رسد که کلیستین، مؤثرترین آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت‌های حاصل از آسینتوباکتر بومانی باشد، اما استفاده از کلیستین عوارض متعددی دارد (۱۸). با این وجود، گونه‌های مقاوم به کلیستین از سراسر دنیا گزارش شده‌اند. مقاوم‌ترین گونه‌ها در آسیا و اروپا پیدا شده‌اند. پیشنهاد شده است که به‌منظور جلوگیری از ایجاد گونه‌های مقاوم جدید از مونوتراپی با کلیستین خودداری شود و کلیستین همزمان با دیگر داروهایی که نتایج بهتری در درمان نشان می‌دهند، استفاده شود (۱۹).

مقاومت به کلیستین می‌تواند توسط جهش در یکی از سه ژنی که دخیل در سنتز لیپید A (lpx A، lpx C، lpx D)، یا جابه‌جایی در توالی تداخلی 1sAba11 هستند، رخ دهد. این جهش‌ها می‌توانند ژن‌های دخیل در سنتز لیپید A را غیر فعال کنند و منجر به ساخت

[1] Pseudomonas aeruginosa
[2] Staphylococcus aureus
[3] Enterococcus faecalis
[4] Escherichia coli
[5] ventilator
[6] National Institute of Allergy and Infectious Diseases
[7] OXA enzyme
[8] Multi-drug-resistant

ناقص لیپو پلی‌ساکاریدهای باکتریایی شوند. مکانیسم مذکور در نهایت به مقاومت به کلیستین ختم می‌شود (۲۰، ۲۱).

به‌منظور تعیین اپیدمیولوژی مقاومت دارویی آسینتوباکتر بومانی، به چندین مطالعه در مناطق مختلف دنیا نیاز است. مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان مقاومت آسینتوباکتر بومانی‌های جدا شده از نمونه‌های بالینی در شهر مشهد (شمال شرق ایران) نسبت به کلیستین و ایمیپنم به‌وسیله MIC انجام شد.

روش‌کار

در این مطالعه ۲۷۴۵ نمونه (۲۷۴۵ پلیت) از بیمارستان‌های قائم (عج) و امام رضا (ع) شهر مشهد در فاصله مهر ۱۳۹۵ تا مهر ۱۳۹۶ جمع‌آوری گردید. نمونه‌های ادرار، زخم و مایعات بدن بیماران بستری از بخش‌های مختلف داخلی، سوختگی، اعصاب، جراحی و اورژانس به‌صورت استریل جمع‌آوری شد و سپس نمونه‌ها در محیط ائوزین متیلن بلو (EMB) به‌صورت ایزوله در سطح محیط کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. در نهایت جهت تشخیص آسینتوباکتر بومانی از رنگ‌آمیزی گرم و تست‌های تشخیصی بیوشیمیایی استفاده شد. ویژگی‌های آسینتوباکتر بومانی به شرح زیر می‌باشد.

۱- کوکوباسیل گرم منفی ۲- غیر تخمیری ۳- سیترات منفی ۴- اندول منفی ۵- الکالن/ الکالن در محیط کلیگلرایرون اگار ۶- غیرمتحرک ۷- H_2S منفی ۸- اوره آز منفی ۹- کاتالاز مثبت ۱۰- اکسیداز منفی ۱۱- فلوئورسنت منفی ۱۲- زیلوز مثبت ۱۳- نیترات منفی در این مطالعه تعداد ۱۰۰ آسینتوباکتر بومانی جدا گردید (۳/۶۴٪). باکتری‌های تأیید شده توسط تست‌های فوق تا زمان انجام بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

از ۱۰۰ آسینتوباکتر جدا شده از نمونه بیماران در بخش‌های مختلف به‌ترتیب ۶۰ نمونه (۶۰٪) از ترشحات برونش، ۲۵ نمونه (۲۵٪) از زخم بیماران بستری شده در بخش ICU، ۱۰ نمونه (۱۰٪) از ترشحات زخم بیماران در بخش سوختگی و در نهایت ۵ نمونه (۵٪) از ادرار بیماران بستری شده در بخش داخلی جدا گردید و نسبت به آنها تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن[1] ارزیابی گردید. همچنین MIC به‌وسیله نوارهای E-test (Italy Liofilchem) طبق دستورالعمل شرکت سازنده تعیین شد. به‌منظور انجام تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی، غلظت نیم مک فارلند نمونه‌ها تهیه شد. گونه‌ها بر روی محیط مولر- هینتون (Merck, Germany) آگار به‌وسیله سواب استریل طبق توصیه‌های شرکت سازنده کشت داده شدند. در مرحله بعد دیسک دیفیوژن و نوارهای E-test ایمیپنم به‌طور مناسبی بر روی آگار قرار داده شدند. فرآیند مشابهی برای دیسک دیفیوژن و نوارهای E-test مربوط به کلیستین صورت گرفت. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و متعاقباً نتایج بر اساس دستورالعمل مؤسسه استاندارد آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) تفسیر شدند.

یافته‌ها

تعداد ۱۰۰ آسینتوباکتر جدا شده با استفاده از روش دیسک دیفیوژن به ایمیپنم مقاومت نشان دادند که نوارهای E-test نیز همین نتیجه را تأیید کردند. تمام نمونه‌ها MIC بیشتر از ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر را نشان دادند. تمامی نمونه‌ها با استفاده از روش دیسک دیفیوژن و نوارهای E-test به کلیستین حساس بودند. میزان MIC کلیستین برای تمام باکتری‌های کشت شده به‌صورت کوچک‌تر یا مساوی ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که طبق استاندارد CLSI، این نمونه‌ها حساس به کلیستین محسوب می‌شوند. به‌علاوه، کمترین و بیشترین میزان MIC به‌دست آمده به‌ترتیب ۰/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج در جدول ۲ نشان داده شده‌اند.

[1] Rosco Diagnostica, Denmark

جدول ۲- میزان مقاومت آسینتوباکتر بومانی نسبت به کلیسیتن و ایمیپنم

اندازه هاله ایجاد شده نسبت به ایمیپنم			اندازه هاله ایجاد شده نسبت به کلستین			
بیشتر از ۳۲ میگروگرم/میلی لیتر	۲	۱/۵	۱	۰/۷۵	۰/۵	۰/۲۵	MIC (میکروگرم/میلی‌لیتر)
۱۰۰	۶	۴۸	۲۸	۱۰	۶	۲	درصد

بحث

این مطالعه مقاومت ۱۰۰٪ آسینتوباکتر بومانی نسبت به ایمیپنم را نشان داد که در مقایسه با مطالعات مشابه در ایران و سایر کشورها به‌طور معناداری بالاتر است. علاوه بر این، آسینتوباکتر بومانی کاملاً به کلیستین حساس بود که این یافته با مطالعات گذشته تقریباً مشابه بود. در مطالعه قاسمیان و همکاران (۲۰۱۶) میزان مقاومت به کلیستین و ایمیپنم به ترتیب ۸٪ و ۱۰۰٪ بود (۲۲). در مطالعه تانیاپانیت و همکاران (۲۰۱۴)، میزان مقاومت و MIC به‌ترتیب ۳٪ و ۵۵٪ نشان داده شد (۲۳). همچنین در مطالعه سهیلی و همکاران (۲۰۱۶)، میزان مقاومت به ایمیپنم ۹۰/۹٪ و کلستین ۰/۱ بود (۲۴). در مطالعات مشابه مانند موسیو و همکاران (۲۰۱۴) در سایر بخش‌های جهان، میزان مقاومت به کارباپنم ۷۵/۱٪ بود که در مقایسه با کلیستین خیلی بیشتر است. علاوه بر این، سینیراتوس و همکاران (۲۰۰۹) حساسیت ۱۰۰٪ آسینتوباکتر بومانی نسبت به کلیستین را نشان داد (۲۶، ۲۷).

نتیجه‌گیری

آسینتوباکتر بومانی نسبت به ایمیپنم که در سال‌های گذشته آنتی‌بیوتیک مؤثری بوده است، مقاوم شده است. این مسئله برای کنترل عفونت‌های ناشی از آسینتوباکتر بومانی نگران‌کننده است، درحالی‌که هنوز هم کلیسین در درمان مؤثر است. درمان ترکیبی آنتی‌بیوتیکی به‌عنوان روش درمانی مطلوب به‌منظور جلوگیری از گسترش گونه‌های مقاوم به کلیستین توصیه می‌گردد. همچنین امید است که این یافته‌ها پزشکان را به اینکه آنتی‌بیوتیک‌ها را با احتیاط بیشتری تجویز و اثرات آن را پایش کنند، تشویق کند تا بتوان این مشکل را کنترل کرد.

تشکر و قدردانی

هزینه‌های مالی این مطالعه توسط دانشگاه علوم پزشکی مشهد تأمین گردید. بدین‌وسیله از تمامی کارکنان آزمایشگاه میکروبیولوژی بیمارستان‌های قائم (عج) و امام رضا (ع) برای تمام کمک‌های ایشان قدردانی می‌شود.

منابع

1. Karageorgopoulos DE, Kelesidis T, Kelesidis I, Falagas ME. Tigecycline for the treatment of multidrug-resistant (including carbapenem-resistant) Acinetobacter infections: a review of the scientific evidence. J Antimicrob Chemother 2008; 62(1):45-55.
2. Karah N, Sundsfjord A, Towner K, Samuelsen O. Insights into the global molecular epidemiology of carbapenem non-susceptible clones of *Acinetobacter baumannii*. Drug Resist Updat 2012; 15(4):237-47.
3. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin Microbiol Rev 1996; 9(2):148-65.
4. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev 2008; 21(3):538-82.
5. Cisneros JM, Reyes MJ, Pachon J, Becerril B, Caballero FJ, Garcia-Garmendia JL, et al. Bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical findings, and prognostic features. Clin Infect Dis 1996; 22(6):1026-32.
6. Talbot GH, Bradley J, Edwards JE Jr, Gilbert D, Scheld M, Bartlett JG. Bad bugs need drugs: an update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2006; 42(5):657-68.
7. Joly-Guillou ML. Clinical impact and pathogenicity of Acinetobacter. Clin Microbiol Infect 2005; 11(11):868-73.
8. Gulati S, Kapil A, Das B, Dwivedi SN, Mahapatra AK. Nosocomial infections due to *Acinetobacter baumannii* in a neurosurgery ICU. Neurol India 2001; 49(2):134-7.
9. Krol V, Hamid NS, Cunha BA. Neurosurgically related nosocomial *Acinetobacter baumannii* meningitis: report of two cases and literature review. J Hosp Infect 2009; 71(2):176-80.

10. Rodriguez Guardado A, Maradona JA, Asensi V, Carton JA, Perez F, Blanco A, et al. Postsurgical meningitis caused by *Acinetobacter baumannii*: study of 22 cases and review of the literature. Rev Clin Esp 2001; 201(9):497-500.
11. Wang KW, Chang WN, Huang CR, Tsai NW, Tsui HW, Wang HC, et al. Post-neurosurgical nosocomial bacterial meningitis in adults: microbiology, clinical features, and outcomes. J Clin Neurosci 2005; 12(6):647-50.
12. Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Nat Rev Microbiol 2007; 5(12):939-51.
13. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. Clin Microbiol Infect 2006; 12(9):826-36.
14. Kempf M, Rolain JM. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. Int J Antimicrob Agents 2012; 39(2):105-14.
15. Hsueh PR, Teng LJ, Chen CY, Chen WH, Yu CJ, Ho SW, et al. Pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* causing nosocomial infections in a university hospital, Taiwan. Emerg Infect Dis 2002; 8(8):827-32.
16. Li J, Rayner CR, Nation RL, Owen RJ, Spelman D, Tan KE, et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50(9):2946-50.
17. Olaitan AO, Berrazeg M, Fagade OE, Adelowo OO, Alli JA, Rolain JM. Emergence of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 carbapenemase, Nigeria. Int J Infect Dis 2013; 17(6):e469-70.
18. Falagas ME, Rafailidis PI. Nephrotoxicity of colistin: new insight into an old antibiotic. Clin Infect Dis 2009; 48(12):1729-31.
19. Cai Y, Chai D, Wang R, Liang B, Bai N. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. J Antimicrob Chemother 2012; 67(7):1607-15.
20. Moffatt JH, Harper M, Adler B, Nation RL, Li J, Boyce JD. Insertion sequence ISAba11 is involved in colistin resistance and loss of lipopolysaccharide in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2011; 55(6):3022-4.
21. Moffatt JH, Harper M, Harrison P, Hale JD, Vinogradov E, Seemann T, et al. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54(12):4971-7.
22. Ghasemian R, Ahanjan M, Fatehi E, Shokri M. Prevalence and antibiotic resistance pattern of *acinetobacter* isolated from patients admitted in ICUs in Mazandaran, Northern Iran. Global J Health Sci 2016; 8(11):54569.
23. Tunyapanit W, Pruekprasert P, Laoprasopwattana K, Chelae S. Antimicrobial susceptibility of Acinetobacter baumannii isolated from hospital patients. Sci Asia 2014; 40:28-34.
24. Sohail M, Rashid A, Aslam B, Waseem M, Shahid M, Akram M, et al. Antimicrobial susceptibility of Acinetobacter clinical isolates and emerging antibiogram trends for nosocomial infection management. Rev Soc Bras Med Trop 2016; 49(3):300-4.
25. Safari M, Saidijam M, Bahador A, Jafari R, Alikhani MY. High prevalence of multidrug resistance and metallo-beta-lactamase (MbetaL) producing *Acinetobacter baumannii* isolated from patients in ICU wards, Hamadan, Iran. J Res Health Sci 2013; 13(2):162-7.
26. Moisoiu A, Ionita M, Sarbu L, Stoica C, Grigoriu L. Antibiotic resistance of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from clinical specimens in the "Marius Nasta" Pneumology Institute, Bucharest. Pneumologia 2014; 63(2):109-11.
27. Sinirtas M, Akalin H, Gedikoglu S. Investigation of colistin sensitivity via three different methods in *Acinetobacter baumannii* isolates with multiple antibiotic resistance. Int J Infect Dis 2009; 13(5):e217-20.