بررسی حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد وانکومایسین در استافیلوکوک آرئوس جدا شده از بیماران سرپایی

*دکتر نور امیر مظفری[I]
هما فروهش تهرانی[II]
مریم ساعدی[III]

چکیده

زمینه و هدف: استافیلوکوک آرئوس، یکی از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی بوده که در عفونت‌های اکتسابی از محیط‌های غیر بیمارستانی نیز نقش دارد. مقاومت دارویی این باکتری به متی‌سیلین که از سال ۱۹۶۱ در بسیاری از نقاط دنیا گزارش شد، باعث گردید که نقش وانکومایسین به‌عنوان آخرین دارو در زنجیره درمان عفونت ناشی از استافیلوکوک آرئوس مورد توجه قرار گیرد.

با توجه به موارد کاهش حساسیت یا مقاومت به وانکومایسین که به ترتیب از سال ۱۹۹۶ و ۲۰۰۲ میلادی گزارش شده است، هدف از این مطالعه بررسی حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (Minimum Inhibitory Concentration-MIC) وانکومایسین در استافیلوکوک آرئوس جدا شده از بیماران بستری و مقایسه آن با موارد جدا شده از بیماران سرپایی می‌باشد.

روش بررسی: در یک مطالعه مقطعی ـ تحلیلی از فروردین ۱۳۸۵ تا مهر ۱۳۸۶، ۲۰۰ نمونه استافیلوکوک آرئوس از نمونه‌های کلینیکی شامل خون، خلط، ادرار و ترشحات سینوس جدا شد. سپس با روش استاندارد شده انتشار از دیسک، ابتدا حساسیت آن به وانکومایسین مورد بررسی قرار گرفت و پس از اندازه‌گیری منطقه ممانعت از رشد، حداقل غلظت ممانعت کنندگی (MIC) وانکومایسین توسط نوارهای E- test تعین شد. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS V. 11 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای آنالیز آماری از آزمون t استفاده گردید.

یافته‌ها: در ۱۲۵ استافیلوکوک آرئوس جدا شده از بیماران بستری، MIC وانکومایسین (µg/ml) ۲-۱ میکروگرم در هر میلی‌لیتر و اندازه منطقه عدم رشد وانکومایسین ۱۸mm-۱۴ بود. در ۷۵ استافیلوکوک آرئوس جدا شده از بیمارن سرپایی، MIC وانکومایسین ۱/۵µg/ml-۰/۷۵ و اندازه منطقه عدم رشد و انکومایسین ۲۰mm-۱۶ بود.

نتیجه‌گیری: نتیجه کلی حاصل از این مطالعه نشان دهنده افزایش میزان حداقل غلظت ممانعت از رشد وانکومایسین (MIC) در بیماران بستری نسبت به بیماران سرپایی است.

کلیدواژه‌ها: ۱ـ وانکومایسین ۲ـ حداقل غلظت ممانعت از رشد (MIC) ۳ـ استافیلوکوک آرئوس

مقدمه

استافیلوکوک آرئوس (Staphylococcus aureus- S.aureus) کوکسی گرم مثبت و بی‌هوازی اختیاری است که در بسیاری از عفونت‌ها از جمله عفونت پوست، خون، مننژ، ریه، استخوان و مسمومیت غذایی نقش دارد و همچنین یکی از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی نیز می‌باشد.[۱ و ۲] یکی از ویژگی‌های استافیلوکوک آرئوس توانایی کسب مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها است که این ویژگی سبب اهمیت عفونت‌های استافیلوکوکی گردیده است.

در سال ۱۹۶۱ اولین استافیلوکوک آرئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA- Methicillin Resistant Staphylococcus) از انگلستان گزارش شد[۳] و پس از آن شیوع MRSA در نقاط مختلف دنیا سریعاً افزایش یافت به‌طوری که NCCLS (National Committee For Clinical Laboratory Standards) مقاومت به متی‌سیلین را ۳۵/۹٪ در سال ۱۹۹۲ و ٦٤/٤٪ در سال ۲۰۰۳ گزارش کرده است.[٤و ٥] این امر سبب گردید که آنتی‌بیوتیک‌های گلیکوپپتیدی به‌طور گسترده‌ای

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان‌نامه خانم مریم ساعدی جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد میکروبیولوژی به راهنمایی دکتر نور امیرمظفری و مشاوره خانم فروهش تهرانی، سال ۱۳۸۵.

I) دانشیار و متخصص میکروب‌شناسی، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه‌های شهید همّت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران، تهران (*مولف مسؤول).
II) مربی و عضو هیات علمی، گروه میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران، تهران، ایران
III) کارشناس ارشد میکروب‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، زنجان، ایران

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-20]

برای عفونت‌های MRSA مورد استفاده قرار گیرند.

در ماه می سال ۱۹۹٦، اولین عفونت ثبت شده با یکی از سویه‌های S. aureus همراه با کاهش مقاومت به وانکومایسین (VISA – Vancomycin Intermediate Staphylococcus aureus) از ژاپن گزارش [٦] و کمی بعد از آمریکا[۷]، اروپا[۸] و کره[۹] گزارش گردید. در ماه جولای ۲۰۰۲، دو سویه از استافیلوکوک آرئوس مقاوم به وانکومایسین برای اولین بار از میشیگان و پنسیلوانیای آمریکا گزارش گردید[۱۰ و ۱۱].

دستورالعمل انستیتوی استانداردهای آزمایشگاه‌های بالینی (Clinical Laboratory Standards Institute – CLSI) استافیلوکوک‌هایی که دارای غلظت مهارکننده از رشد وانکومایسین MIC ≤ ٤μg/ml می‌باشند را به‌عنوان حساس (VSSA – Vancomycin Sensitive Staphylococcus aureus)، MIC=١٦-١٨ μg/ml را حد وسط (VISA) و MIC ≥ ٣٢ μg/ml را مقاوم (VRSA–Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus) تعریف می‌کند.[۱۲]

با توجه به گزارش موارد کاهش حساسیت به وانکومایسین و یا مقاومت به وانکومایسین، هدف از این مطالعه بررسی حداقل غلظت ممانعت از رشد وانکومایسین در استافیلوکوک آرئوس جدا شده از بیماران بستری و مقایسه آن با موارد جدا شده از بیماران سرپایی بوده است، تا کنون در این مورد مطالعات علمی و تحقیقاتی در کشور انجام نشده است.

روش بررسی

این مطالعه از نوع مقطعی ـ تحلیلی می‌باشد. از فروردین ۱۳۸۵ تا مهر ۱۳۸٦، ۲۰۰ نمونه استافیلوکوک آرئوس از نمونه‌های کلینیکی بیماران بستری (که دارو مصرف می‌کردند) و سرپایی (که دارو مصرف نمی‌کردند) شامل زخم، خون، خلط، ادرار و ترشحات سینوس به‌وسیله‌ی کشت بر روی محیط‌های اختصاصی و غیر اختصاصی شامل نوترینت آگار، مانیتول سالت آگار، DNase (دی ان از) و بلاد آگار جهت بررسی فعالیت همولیتیک و انجام آزمایش کوآگولاز، (Voges-proskauer) VP، ONPG (بتا گالاکتوزیداز) و تعیین حساسیت به نوبیوسین تشخیص و جداسازی شدند.

جهت انجام تست حساسیت دارویی با روش انتشار از دیسک (Standardized Agar Plate Method) از کدورت ۰/۵ مک‌فارلند، باکتری استاندارد S.aureus ATCC 25923، محیط مولر هینتون‌آگار و دیسک ۳۰ μg وانکومایسین استفاده گردید. پس از انکوباسیون ٢٤ ساعته، قطر منطقه ممانعت از رشد وانکومایسین اندازه‌گیری شد و همه انواعی که منطقه ممانعت از رشد بزرگ‌تر یا مساوی با ١٤ میلی‌متر (mm) داشتند به وسیله نوارهای E-test جهت تعیین MIC (حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد) مورد بررسی قرار گرفتند. هدف این بررسی انجام روش مولکولی نبوده است که به واسطه‌ی آن به توان وجود یا فقدان ژن مقاومت به وانکومایسین را تأیید نمود.

یافته‌های این بررسی با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS V. 11 مورد تجزیه و تحلیل آمار قرار گرفت.

برای آنالیز آماری از آزمون t استفاده شد.

یافته‌ها

از ۲۰۰ استافیلوکوک آرئوس جدا شده، ۱۲۵ مورد (٦٤ نمونه از خون- ۱۵ نمونه از خلط- ٢٤ نمونه از ادرار و ۲۲ نمونه از زخم) از بیماران بستری و ۷۵ مورد (٢٤ نمونه از خون- ۳۱ نمونه از خلط- ۲۰ نمونه از ادرار و ٢٤ نمونه از ترشحات سینویس) از بیماران سرپایی مورد بررسی قرار گرفتند.

در نتایج تست حساسیت دارویی با روش انتشار از دیسک از ۱۲۵ نمونه بیمارستانی ۱۰ مورد، منطقه ممانعت از رشد ١٤ میلی‌متر داشتند که در محدوده مقاوم قرار می‌گرفتند. قطر منطقه ممانعت از رشد در بقیه موارد در محدوده ۱۸ ـ ۱۵ میلی‌متر بود که در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. در استافیلوکوک آرئوس جدا شده از بیماران سرپایی، منطقه ممانعت از رشد در محدوده ۲۰ ـ ١٦ میلی‌متر قرار

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-20]

داشت که در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

نتایج حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC) با نوار E-test در استافیلوکوک آرئوس جدا شده از موارد بیمارستانی ۲μg-۱ بود که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است و MIC استافیلوکوک آرئوس جدا شده از بیماران سرپایی در محدوده ۱/۵μg-۰/۷۵ بود که باز در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

آزمون t با در نظر گرفتن p-value<۰/۰۵۴۳ نشان داد که مقادیر MIC وانکومایسین در بیماران بستری بیشتر از بیماران سرپایی می‌باشد (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۱- مقادیر منطقه ممانعت از رشد نمونه‌های جداشده از بیماران سرپایی و بستری

مقادیر منطقه ممانعت از رشد نمونه‌های جداشده از بیماران سرپایی		مقادیر منطقه ممانعت از رشد نمونه‌های جداشده از بیماران بستری	
اندازه منطقه عدم رشد وانکومایسین (mm)	تعداد	اندازه منطقه عدم رشد وانکومایسین (mm)	تعداد
۱۶	۸	۱۴	۱۰
۱۷	۱۵	۱۵	۴۲
۱۸	۱۶	۱۶	۳۲
۱۹	۱۷	۱۷	۳۸
۲۰	۱۹	۱۸	۳

جدول شماره ۲- مقادیر MIC وانکومایسین نمونه‌های جداشده از بیماران سرپایی و بستری

مقادیر MIC وانکومایسین نمونه‌های جداشده از بیماران سرپایی							مقادیر MIC وانکومایسین نمونه‌های جداشده از بیماران بستری	
۲	۱/۵	۱	۰/۷۵	۲	۱/۵	۱	۰/۷۵	مقادیر MIC وانکومایسین (μg/ml)
۰	۱۵	۱۶	۴۴	۳۱	۵۲	۴۲	۰	تعداد استافیلوکوک آرئوس

جدول شماره ۳- مقایسه آماری مقادیر MIC وانکومایسین نمونه‌های جداشده از بیماران سرپایی و بستری

انحراف معیار میانگین	انحراف معیار	میانگین	تعداد نمونه	
۱۰/۴۹	۲۰/۹۹	۳۱/۲۵	۴	بیماران بستری
۹/۱۷	۱۸/۳۵	۱۸/۷۵	۴	بیماران سرپایی
۱۸/۲۵	۳۶/۵۱	۱۲/۵	۴	مقایسه

95% CI for mean difference: (-45.6105, 70.6105)
T-Test of mean difference = 0 (vs not = 5): T-Value = 0.68
P-Value < 0.0543

بحث

براساس نتایج این مطالعه، مقادیر منطقه ممانعت از رشد نمونه‌های جدا شده از بیماران بستری در مقایسه با بیماران سرپایی کمتر می‌باشد و مقادیر حداقل غلظت ممانعت از رشد وانکومایسین در بیماران بستری در مقایسه با بیماران سرپایی بیشتر می‌باشد، که این اختلاف از نظر آماری حائز اهمیت می‌باشد (P-value<۰/۰۵). علت افزایش میزان حداقل غلظت ممانعت از رشد وانکوماسین (MIC) و کاهش منطقه ممانعت از رشد وانکومایسین در بیماران بستری به دلیل تحت درمان بودن بیماران بستری با انواع داروها و وجود بیماری زمینه‌ای است. در ۱۰ نمونه جدا شده از خون بیماران بستری، منطقه ممانعت از رشد وانکوماسیسن ۱۴ میلی‌متر بود که در محدوده مقاوم قرار می‌گرفت، ولی حداقل غلظت ممانعت کنندگی وانکومایسین این نمونه‌ها با روش E-test MIC=۲μg/ml را نشان داد که حساس گزارش می‌شود. در این مطالعه، نمونه ای همراه با کاهش حساسیت به وانکومایسین (VISA) و یا مقام به وانکومایسین (VRSA) جداسازی نشد.

در مطالعه‌ای که توسط Hong Bin Kim و همکارانش در کره از سال ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۱ انجام شد، ۶۸۲ نمونه استافیلوکوک آرئوس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج MIC وانکومایسین ۲μg/ml-۱ بود و بدین ترتیب کاهش حساسیت و یا مقاومت به وانکومایسین گزارش نشد.[۱۳]

در مطالعه‌ای که توسط Guiqing Wang و همکارانش در مرکز پزشکی UCLA آمریکا از سال ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۴ انجام شد، ۶۰۳ استافیلوکوک آرئوس جداسازی و بررسی شد. در این مطالعه یک مورد VISA با MIC=۸ μg/ml گزارش گردید و MIC وانکومایسین بقیه موارد ۱ μg/ml-۰/۱۲۵ بود و هیچ مورد مقاوم به وانکومایسین گزارش نشد.[۱۴]

در مطالعه‌ای که توسط Banu SanCak و همکارانش در بیمارستان دانشگاه ترکیه در ماه مارس ۲۰۰۵ انجام شد، ۲۵۶ نمونه استافیلوکوک آرئوس بررسی شد که دارای مقادیر MIC = ۰/۱۲۵-۴ μg/ml نسبت به وانکومایسین بودند و با روش Macro E- test، ۴۶ نمونه hetro-VISA تشخیص داده شد.[۱۵]

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-20]

در مطالعه‌ای که توسط Hare Krishna Tiwari و Malay Ranjan Sen در قسمتی از شمال هندوستان در ماه جولای ۲۰۰۶ انجام شد، ۷۸۳ نمونه استافیلوکوک آرئوس بررسی شد. در این تحقیق، ٦ مورد کاهش حساسیت به وانکومایسین با MIC=١٦μg/ml و ۲ مورد مقاوم به وانکومایسین با MIC=٣٢-٦٤ μg/ml گزارش شد.[١٦] در این مطالعات علت جداسازی نمونه‌هایی که با کاهش حساسیت و مقاومت به وانکومایسین همراه بودند، بی‌توجهی به استفاده گسترده از طیف وسیع آنتی‌بیوتیک‌ها گزارش شده است.

محدودیت عمده این مطالعه، کم بودن زمان بررسی و تعداد نمونه‌ها می‌باشد. در مطالعات انجام شده در سایر نقاط دنیا زمان بررسی طولانی‌تر و به‌صورت طرح ملی در سراسر آن کشورها انجام گرفته است. بنابراین جهت پایش و مراقبت از کاهش حساسیت و یا مقاومت استافیلوکوک آرئوس نسبت به وانکومایسین انجام یک طرح ملی لازم و ضروری است.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این بررسی نشان داد که میزان حداقل غلظت ممانعت از رشد وانکومایسین (MIC) استافیلوکوک آرئوس در بیماران بستری نسبت به بیماران سرپایی بیشتر است، بنابراین توصیه می‌شود که میزان حداقل غلظت ممانعت از رشد وانکومایسین (MIC) در بیماران بستری تعیین شود.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از زحمات خانم دکتر عشاقی و آقایان دکتر پرویز کنعانی و دکتر محسن غریب دوست و پرسنل آزمایشگاه آزادی که در اجرای این پژوهش یاری نمودند، تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

فهرست منابع

1- Centers for Disease Control and Preventation. National Nosocomial Infection Surveilance, Report data summary from January 1992- June 2000. Am J Infect Control 2001; 29:404-421.

2- Lowy F. Staphylococcus aureus infection. N Engl J Med 1998; 339: 520-32.

3- Jevons MP. "Celbenin" - resistant staphylococci. BMJ 1961; 1:124-126.

4- Klevens RM, Edwards JR, Tenover FC, McDonald LC, Horan T, Gaynes R. Changes in the epidemiology of Methicillin - Resistant Staphylococcus aureus in intensive care units in US hospital. Clin Infect Dis 2006; 42: 389-391.

5- National Nosocomial Infection surveillance System. National Nosocomial Infection Surveillance system report, data summary from January 1992 through June 2004. Am J Infect Control 2004; 32:470-485.

6- Hiramastu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin – Resistant Staphylococcus aureus clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J Antimicrob Chemother 1997; 40: 135-136.

7- Centers for Disease Control and prevention. Staphylococcus aureus with reduced susceptibility to Vancomycin. United States. Morb Mortal Wkly Rep 1997; 46: 765-6.

8- Ploy CM, Grelaud C, Martin C, Lumley L, Denis F. First clinical isolate of vancomycin Intermediate Staphylococcus aureus in a French hospital. Lancet 1998; 351: 1212.

9- Kim MN, Pai CH, Woo JH, Ryu JS, Hiramastu K. Vancomycin - Intermediate Staphylococcus aureus in Korea. J Clin Microbiol 2000; 38:3879-3881.

10- Center for Disease Control and prevention. Staphylococcus aureus Resistant to Vancomycin - United States. Morb Mortal Wkly Rep 2002; 51:565-567.

11- Centers for Disease Control and prevention. Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus - Pennsylvania. Morb Mortal Wkly Rep 2002; 51:902.

12- Srinivasan A, Disk, JD, Perl T M. Vancomycin Resistance in Staphylococci. Clin Microb Rev 2002; 15(3): 430-438.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-20]

13- Kim HB, Park WB, Lee KD, Choi YJ, Park SW, MD, et al. National Surveillance for Staphylococcus aureus with reduced susceptibility to Vancomycin in Korea. J Clin Microbiol 2003; 41(6): 2279-2281.

14- Wang G, Hindler GF, Ward KW, Brunckner DA. Increased Vancomycin MICs for Staphylococcus aureus clinical isolates from a university hospital during a 5 year period. J Clin Microbiol 2006; 44 (11): 3883-3886.

15- Sancack B, Ercis S, Menemenlioglu D, Colakoglu S, Hascelik G. Methicillin - Resistant Staphylococcus aureus heterogeneously resistant to vancomycin in a Turkish university hospital. J Antimicrob Chemother 2005; 56: 519-523.

16- Tiwari, HK, San MR. Emergence of Vancomycin Resistan Staphylococcus aureus (VRSA) from a tertiary care hospital from northern part of India. BMC Infect Dis 2006; 6:156.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-20]

Minimal Inhibitory Concentration of Vancomycin in Staphylococcus aureus strains Isolated from Hospitalized Patients Versus Those Recovered from Out Patients

***N. Amirmozafari, PhD[I] H. Forouhesh Tehrani, MSc[II] M. Saedii, MSc[III]**

Abstract

Background and Aim: Staphylococcus aureus (S.aureus) is one of the most prevalent causes of nosocomial infections. It is also involved in community acquired infections. The resistance of this bacterium towards methicillin which has been reported since 1961, made Vancomycin the last choice for treatment of Staphylococcal infections.

Considering the reduced sensitivity or resistance to vancomycin which has been observed since 1996, this study was conducted with the aim of evaluating the vancomycin MIC values (Minimun Inhibitory Concentration) of S. aureus cells isolated from hospitalized patients and compared with those recovered from outpatients.

Materials and Methods: A cross sectional – analytic survey was conducted from 2006 till 2007. A total of 200 S.aureus strains were isolated from various clinical sources including blood, sputum, urine and sinus secretions. Their susceptibilities to vancomycin were initially surveyed by disk diffusion method. Subsequently, the MIC values of each individual strain towards vancomycin were determined by E-test strips, and the obtained data was analyzed by SPSS (V. 11) software. For statistical analysis, t-test was used.

Results: In 125 S. aureus strains isolated from hospitalized patients, the growth inhibition zones were 14-18 mm and the MIC values were 1-2μg/ml. In 75 S. aureus strains isolated from outpatients, the growth inhibition zones were 16-20 mm and the MIC values were 0.75-1.5 μg/ml.

Conclusion: The result of this survey shows increased MIC values for vancomycin in hospitalized patients as compared to outpatients.

Key Words: 1) Vancomycin 2) Minimum Inhibitory Concentration (MIC) 3) Staphylococcus aureus

This article is the summary of the thesis of M. Saedii, MSc under supervision of N. Amirmozafari, Ph.D. (2007)

***I)** Associate Professor of Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Science and Health Services, Tehran, Iran (*Corresponding Author)*

***II)** MSc in Microbiology, Instructor and Faculty member Microbiology Department, Iran University of Medical Science and Health Services, Tehran, Iran*

***III)** MSc in Microbiology, Azad Islamic University, Zanjan, Iran*

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-20]