





دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی استان اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه دکتری رشته پزشکی

عنوان:

تعیین فراوانی و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های استافیلوکوکوس کواگولاز منفی مقاوم به متی سیلین جدا شده از بیماران بیمارستان امام خمینی (ره) دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

استاد راهنما:

دکتر محسن ارزنلو

استاد مشاور:

دکتر هادی پیری

نگارش:

بهرنگ بحرینی

تابستان ۱۳۹۳

شماره پایان نامه:

۰۴۹۳

تقدیم ہے:

پروماد عزیزم کہ بستریمودن این راه را ہموار کردند و میچکاه در تشویق بہ آموختن کوتاہی نکرند.

شکر و قدردانی

به نام خداوند متعال و سپاس از هر آنچه نعمت بیکران که بهره‌مندم ساخته است.

در اینجا بر خود لازم دانسته که نهایت سپاس و قدردانی را نسبت به تمام عزیزانی که در انجام این پروژه از راهنمایی‌ها و مساعدت‌های با ارزش آنان اعم از

استادان محترم دانشگاه و بیمارستان و مدیران، و همچنین عزیزانی که از حمایت‌های معنوی آن‌ها، بهره‌مند بوده‌ام، ابراز نموده و توفیق روزافزونشان را از

درگاه احدیت آرزو نمایم.

به خصوص از مساعدت‌های بی‌شائبه‌ی استاد گرامی جناب آقای دکتر محسن ارزنلو و قبول زحمت هدایت این مهم کمال سپاس و امتنان را دارم.

تعیین فراوانی و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس کواگولاز منفی مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از بیماران بیمارستان امام خمینی (ره) دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

چکیده:

مقدمه و هدف: استافیلوکوکهای کوآگولاز منفی از شایعترین باکتری‌هایی هستند که از نمونه‌های بالینی در آزمایشگاههای میکروب شناسی جدا سازی می‌شوند. این باکتری‌ها بیماری‌های متنوعی را در انسان ایجاد می‌کنند. امروزه بدلیل استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها درصد بالایی از این باکتری‌ها در مقابل آنتی‌بیوتیک‌های مختلف مقاوم شده‌اند و درمان عفونت‌های ناشی از آنها به ویژه در سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین بسیار مشکل است. عفونت‌های ناشی از این سویه‌ها با مرگ و میر زیادی همراه هستند. این مطالعه با هدف تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های استافیلوکوک کوآگولاز منفی جدا شده از نمونه‌های بالینی بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی (ره) مختلف انجام شد. همچنین در این مطالعه میزان MIC اگزاسیلین در ایزوله‌های مورد مطالعه تعیین شد.

مواد و روشها: در این مطالعه توصیفی مقطعی، ایزوله‌های جدا شده از نمونه‌های کلینیکی با استفاده از روشهای استاندارد میکروب شناسی در حد جنس شناسایی شدند. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش انتشار از دیسک نسبت به ۱۴ آنتی‌بیوتیک مختلف با استفاده از روش انتشار از دیسک تعیین شد. مقاومت به اگزاسیلین با استفاده از دیسک سفوکسیتین تعیین شد و حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) اگزاسیلین با استفاده از روش رقت در آگار تعیین گردید.

نتایج: در این مطالعه از میان ۵۸ باکتری جدا شده ۵۷ (۹۸/۳٪) مقاوم به متی‌سیلین بودند. اکثریت سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین دارای MIC برابر یا بیشتر از ۲۵۹ میکروگرم در میلی‌لیتر بودند. عمده باکتری‌های جدا شده دارای مقاومت‌های چندگانه بودند و بطور همزمان نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف مقاوم بودند. آنتی‌بیوتیک اریترومايسين و کلیندامایسین بیشترین و آنتی‌بیوتیک لینزولید و کلرامفنیکل کمترین میزان را به خود اختصاص دادند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد درصد زیادی از ایزوله‌های استافیلوکوک کوآگولاز منفی جدا شده نسبت به متی‌سیلین مقاوم هستند. همچنین این سویه‌ها در مقابل کلاسهای مختلف آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بودند.

کلمات کلیدی: استافیلوکوکهای کوآگولاز منفی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، مقاومت به متی‌سیلین

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول: کلیات	
۱-۱- بیان مسئله	۲
۲-۱- تعریف واژه ها	۳
۳-۱- اهداف	۴
۱-۳-۱- اهداف کلی	۴
۲-۳-۱- اهداف جزئی	۴
۳-۳-۱- اهداف کاربردی	۴
۴-۱- سوالات تحقیق	۵
۵-۱- مقدمه	۶
۷-۱- شناسایی گونه ها	۷
۸-۱- پاتوژنز	۹
۹-۱- بروز باکتری می	۱۰
۱۰-۱- کلونیزاسیون با ارگانیزم های مقاوم	۱۲
۱۱-۱- مقاومت به متی سیلین	۱۲
۱۲-۱- اپیدمیولوژی	۱۲
۱۳-۱- تشخیص آزمایشگاهی مقاومت به متی سیلین	۱۳
۱۴-۱- وانکومایسین	۱۴
۱۵-۱- سایر مقاومت ها	۱۵
۱۶-۱- درمان	۱۵

۱-۱۶-۱- انتخاب درمان ۱۵

فصل دوم: بررسی متون

۱-۲- مروری بر مطالعات گذشته ۱۸

فصل سوم: مواد و روش ها

۱-۳- طرح مطالعه و نمونه های بالینی ۲۲

۲-۳- تأیید ایزوله های استافیلوکوکوس جدا شده از نمونه های بالینی ۲۲

۱-۲-۳- مواد و وسایل ۲۲

۲-۲-۳- رنگ آمیزی گرم ۲۲

۳-۲-۳- آزمایش کاتالاز ۲۳

۴-۲-۳- آزمایش کواگولاز به روش لوله ای ۲۳

۳-۳- نگهداری باکتریهای جدا شده ۲۴

۱-۳-۳- مواد و وسایل ۲۴

۲-۳-۳- روش کار ۲۵

۱-۲-۳-۳- روش تهیه محیط تریپتی کیس سوی براث ۲۵

۴-۳- تعیین الگوی مقاومت دارویی ۲۵

۱-۴-۳- تعیین الگوی مقاومت به روش دیسک دیفیوژن ۲۶

۱-۱-۴-۳- مواد و وسایل لازم ۲۶

۵-۳- روش انجام دیسک دیفیوژن ۲۷

۱-۵-۳- روش تهیه لوله ۰/۵ مک فارلند ۲۸

۲-۵-۳- آماده سازی مایع تلقیح ۲۸

۳-۵-۳- تلقیح محیطهای کشت ۳۰

- ۳-۵-۴ - قرار دادن دیسکها ۳۰
- ۳-۶-۶ - تعیین MIC اگزااسیلین ۳۱
- ۳-۶-۱ - رقت در آگار (آگار دایلوشن) ۳۱
- ۳-۶-۱-۱ - مواد و وسایل ۳۱
- ۳-۶-۱-۲ - تهیه آنتیبیوتیکها ۳۲
- ۳-۶-۱-۳ - توزین پودرهای آنتیبیوتیک ۳۲
- ۳-۶-۱-۴ - تعیین MIC به روش رقت در آگار ۳۳
- ۳-۶-۱-۱-۱ - محیط کشت ۳۴
- ۳-۶-۱-۱-۲ - آماده سازی نمونه تلقیحی ۳۵
- ۳-۶-۱-۱-۳ - گرمخانه گذاری پلیتها ۳۶
- ۳-۶-۱-۱-۴ - قرائت پلیت ها و تعیین MIC ۳۶
- ۳-۶-۱-۱-۵ - استفاده از سویه های رفرانس ۳۷

فصل چهارم: نتایج

فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری

- ۵-۱-۱ - بحث ۴۵
- ۵-۲-۲ - نتیجه گیری ۴۷
- منابع ۴۸
- چکیده انگلیسی ۶۱

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۴. توزیع فراوانی ایزوله های استافیلوکوک گواگولاز منفی جدا شده از نمونه های کلینیکی بر اساس نوع نمونه	۳۹
جدول ۲-۴. توزیع فراوانی ایزوله های استافیلوکوک گواگولاز منفی جدا شده از نمونه های کلینیکی در ارتباط با نوع بخش	۴۰
جدول ۳-۴. الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی سویه های استافیلوکوک گواگولاز منفی جدا شده از نمونه های بالینی با استفاده از روش انتشار از دیسک	۴۱
جدول ۴-۴. فراوانی و محدوده MIC ⁻ های اگزاسیلین و ونکومایسین را در میان ایزوله های استافیلوکوک گواگولاز منفی جدا شده از نمونه های بالینی را با استفاده از روش رقت آگار	۴۲

فصل اول

کلیات

۱-۱- بیان مسئله

استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی در بر گیرنده تعداد زیادی از گونه‌های مختلف هستند که بیماری‌های مختلفی را به ویژه در افراد با ضعف سیستم ایمنی ایجاد می‌کنند. این میکروارگانیسم بخشی از فلور نرمال پوست انسان بوده و در مخاط بینی و بخش فوقانی مجاری تنفسی نیز مستقر می‌باشد (۱). استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مهم‌ترین عضو گروه استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی و عامل ۷۵ درصد از عفونت‌های وابسته به این گروه از میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. به دلیل بیماری‌زایی نسبتاً ضعیف، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس تا مدت‌ها بعنوان ساپروفیت معرفی می‌شد. در طی دهه‌های اخیر بویژه با گسترش استفاده از وسایل پزشکی تعبیه‌شونده در بدن مثل سوندهای صفاقی، کاتتر درون رگی، پروتزهای مفصلی و دریچه‌های مصنوعی قلب، این باکتری بعنوان پاتوژن بیمارستانی غالب، بخصوص در افراد با درمان‌های سرکوب سیستم ایمنی، در افراد پیر یا خیلی جوان و در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستانها ظهور کرد (۲).

استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به عنوان شایع‌ترین گونه استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی به ندرت چرک تولید کرده اما گاهی ضایعات چرکی را بعد از اعمال جراحی ارتوپدی یا قلب و عروق یا بیماری‌های دیگری را در افراد مبتلا به نقص ایمنی ایجاد می‌کند. همچنین این باکتری باعث ایجاد عفونت در افرادی می‌کند که از سوند ادراری استفاده می‌کنند (۳). این باکتری مهم‌ترین و فراوان‌ترین گونه باکتریایی جداشده مسبب عفونت‌های خون بیمارستانی است (۴).

بیماری‌های ناشی از استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس شامل: باکتری‌می، اندوکاردیت، زخم‌های جراحی، عفونت‌های دستگاه ادراری، عفونت‌های فرصت طلب کاترها، شتتها، وسایل مصنوعی و دیالیز صفاقی می‌باشند (۵).

استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس پلی ساکارید خارج سلولی تولید می‌کند که باعث تشکیل بیوفیلم می‌شود و این بیوفیلم در ایجاد عفونت‌های این باکتری بسیار موثر می‌باشد (۶،۷). بیوفیلم، باکتری را در برابر آنتی‌بیوتیکها، آنتی‌بادیها و سلول‌های فاگوسیتز مقاوم می‌کند (۸،۹).

مسئله بسیار مهم در میان استافیلوکوک‌ها جود مقاومت به متی‌سیلین می‌باشد این سویه‌ها از این جهت اهمیت دارند که معمولاً به غیر از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام همزمان به چند کلاس آنتی‌بیوتیکی دیگر مثل ماکرولیدها، آمینوگلیکوزیدها، فلوروکوئینولونها و... مقاومت نشان می‌دهند. این ویژگی، درمان عفونت‌های ناشی از این باکتریها را با مشکل جدی روبرو کرده است. این عفونت‌ها معمولاً با مرگ و میر زیادی همراه هستند. براساس مطالعات انجام شده در برخی از کشورها بیش از ۸۰٪ از ایزوله‌های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به متی‌سیلین یا اگزاسیلین مقاومت دارند (۱۰).

این مطالعه با هدف بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های استافیلوکوک کوآگولاز منفی جدا شده از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی (ره) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اردبیل طراحی شده است. در این مطالعه علاوه بر تعیین الگوی مقاومت در برابر کلاسهای مختلف آنتی‌بیوتیکی مقاومت به متی‌سیلین و نیز ونکومايسين نیز با استفاده از روش آگاردایلوشن تعیین خواهد شد.

۱-۲- تعریف واژه‌ها

استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی:

- گروهی از گونه‌های مربوط به جنس استافیلوکوک هستند که برخی از آنها می‌توانند در انسان ایجاد بیماری کنند.