Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 6:00 +0330 on Wednesday November 21st 2018

Semnan University of Medical Sciences

KOOMESH

Journal of Semnan University of Medical Sciences

Volume 20, Issue 4 (Autumn 2018), 603-807

ISSN: 1608-7046

Full text of all articles indexed in:
Scopus, Index Copernicus, SID, CABI (UK), EMRO, Iranmedex, Magiran, ISC, Embase

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 6:00 +0330 on Wednesday November 21st 2018

بررسی شیوع و تشخیص ملکولی باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک منتقله توسط هوا در بخش‌های مراقبت ویژه

سید حامد میرحسینی [۱*](Ph.D)، مهناز نیک آیین [۲](Ph.D)، زهرا شمسی زاده [۳](Ph.D student)، رحیم عالی [۴](Ph.D)

۱- گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

۲- گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- مرکز تحقیقات علوم و فناوری های محیط زیست، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

۴- مرکزتحقیقات سلولی وملکولی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۸۳۴۹۵۵۷۵ dr.mirhoseini@arakmu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹٦/۸/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۲/۱۰

چکیده

هدف: طی دو دهه گذشته اهمیت انتقال از طریق هوا در اپیدمیولوژی عفونت‌های اکتسابی در بیمارستان مورد توجه قرار گرفته است. به دلیل حضور بیماران دارای شرایط کلینیکی ناپایدار و حساس به عفونت در بخش مراقبت ویژه (ICU) انتقال از طریق هوا در این بخش از اهمیت و حساسیت بیش‌تری برخوردار است. این مطالعه با هدف بررسی شیوع و تشخیص ملکولی باکتری‌های هوابرد مقاوم به آنتی‌بیوتیک در بخش‌های مراقبت ویژه چهار بیمارستان آموزشی انجام شده است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه به‌صورت مقطعی در بخش مراقبت‌های ویژه در چهار بیمارستان آموزشی انجام شد. تعداد ۳۲ نمونه هوا با استفاده از نمونه‌بردار ایمپینجر (AGI) برداشت شد. تشخیص باکتری‌های هوابرد با استفاده از محیط کشت دارای آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی و بدون آنتی‌بیوتیک صورت گرفت. آزمون Polymerase Chain Reaction (PCR) جهت بررسی حضور هفت ژن متداول بر روی ایزوله‌های مقاوم انجام شد.

یافته‌ها: درصد شیوع باکتری‌های مقاوم بین ۶٪ تا ۳۷٪ متغیر بود. بیش‌ترین شیوع ایزوله‌های مقاوم باکتریایی به ترتیب مربوط به اگزاسیلین، سفتازیدیم، ونکومایسین، جنتامایسین و سفازولین بوده است. همه ژن‌های انتخابی در باکتری‌های هوابرد مقاوم شناسایی شد که بیش‌ترین و کم‌ترین فراوانی به ترتیب مربوط به ژن OXA23 و AAC (3)-I بود. فراوانی بالایی از ژن mecA (۲۱٪) و blaTEM (۳۴٪) در ایزوله‌ها تشخیص داده شد. شناسایی ژن OXA51 نشان‌دهنده این است که گونه اسینتوباکتر، اسینتوباکتر بومانی است. استافیلوکک مقاوم به متی‌سیلین (MRS) دومین گونه غالب در بین ایزوله‌های بخش ICU بوده است.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه شناسایی گونه‌های استافیلوکوک و اسینتوباکتربومانی به‌عنوان غالب‌ترین پاتوژن‌ها، احتمال انتقال هوابرد این باکتری‌ها و نقش آن‌ها را در گسترش عفونت بیمارستانی در بخش‌های ICU نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌ها، مقاومت باکتری به دارو، بخش مراقبت ویژه

مقدمه

عفونت بیمارستانی در هر زمان با حدود ۱/۴ میلیون نفر مبتلا در سرتاسر جهان یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های بهداشتی محسوب می‌شود [۱]. حدود ۷۰٪ این عفونت‌ها ناشی از گونه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک است. این عفونت‌ها از راه‌های مختلف منتقل می‌شوند. علی‌رغم این‌که تماس مستقیم، مهم‌ترین راه انتقال برای اکثر عفونت‌های بیمارستانی شناخته شده است، لیکن شواهدی وجود دارد که انتقال از طریق هوا یک مسیر شناخته شده برای انتشار عفونت‌های بیمارستانی ناشی از استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، سودوموناس آئروژینوزا، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس و اسینتو باکتر بومانی محسوب می‌شود [۴،۳،۲]. در حقیقت می‌توان گفت ۲۰-۱۰٪ از عفونت‌های بیمارستانی از طریق هوا منتقل می‌شوند [۵]. میکروارگانیسم‌ها از بدن، ترشحات تنفسی و.. بیماران جدا و در هوا پراکنده می‌گردند و به دلیل استفاده نادرست و نابه‌جا از آنتی‌بیوتیک‌ها جهت درمان، این میکروب‌ها اغلب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌باشند.

بخش مراقبت‌های ویژه بخشی است که بدحال‌ترین بیماران را به دلیل امکانات ویژه و خاصش تحت مراقبت و معالجه قرار

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 6:00 +0330 on Wednesday November 21st 2018

می‌دهد. استفاده از روش‌های جدید و معالجه بدون وجود بخش مراقبت ویژه کامل نیست. بیماران این بخش معمولاً شامل بیماران با اختلال تنفسی (نارسایی‌های بعد از عمل جراحی، ضربات و تصادفات به‌ویژه ضربه به سر، شکستگی‌های دنده و بیماری‌های عمومی که موجب مشکلات تنفسی می‌شوند مانند: بیماران با جراحی مغز و اعصاب، جراحی قلب، پیوند اعضا) می‌باشند تاکید و توجه بیش‌تر به بخش مراقبت‌های ویژه بیانگر این حقیقت است که بیمارستان‌ها بیش از پیش به این بخش نیاز خواهند داشت و در سال‌های اخیر بسیاری از بیمارستان‌ها به تخت‌های بیش‌تر در بخش مراقبت ویژه مجهز شده‌اند [۶].

افزایش بروز مقاومت میکروب‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها به‌ویژه در بخش‌های مراقبت ویژه بیمارستان‌ها (ICU) مشهود است و بروز استافیلوکوک آرئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA)، انتروکوک مقاوم به ونکومایسین (VRE)، و باسیل‌های گرم منفی مقاوم درICU رو به افزایش می‌باشد [۶] و طبق آمار موجود حداقل در ۷۰٪ موارد عفونت بیمارستانی، مقاومت به یک آنتی‌بیوتیک وجود دارد [۷]. در همه‌گیری عفونت بیمارستانی نیز مقاومت میکروبی وجود دارد. همه‌گیری بیمارستانی، ۵ تا ۱۰٪ تمام موارد عفونت بیمارستانی را شامل شده و شیوعی معادل یک در هر ۱۰۰۰۰ پذیرش بیمارستانی دارد. حین مطالعه همه‌گیری مشخص گردید که ۸۵٪ باکتری‌های استافیلوکوک آرئوس، به متی‌سیلین و ۶۹٪ موارد انتروکوک به ونکومایسین مقاوم بوده‌اند [۸].

عفونت در بیمارستان‌ها رابطه نزدیکی با به وجود آمدن استافیلوکوک‌های مقاوم دارد. زیرا این استافیلوکوک‌ها بین ناقلین، بیماران و پرستاران و در محیط بیمارستان موجود بوده و باعث سندرم زخم‌های چرکی شده و گاهی اوقات سبب تولید عفونت‌های متعدد به صورت اپیدمی در محیط بیمارستان می‌شوند و در نتیجه به تدریج محیط خارج از بیمارستان را هم آلوده می‌نمایند. بیمارانی که با سویه‌های MRSA عفونی شده‌اند بالاترین خطر برای گسترش عفونت ناشی از این باکتری را دارند زیرا این سویه‌ها دارای مقاومتی چندماهیتی بوده و باعث ایجاد مقاومت هم‌زمان به آنتی‌بیوتیک‌های گروه بتالاکتام، آمینوگلیکوزیدها و ماکرولیدها می‌شوند [۹]. علت بروز این نوع مقاومت حضور ژن کروموزومی (mecA) در این سویه‌ها می‌باشد [۱۰،۹]. MRSA در سیستم تنفسی بیمار کلونیزه شده و می‌تواند به‌صورت هوابرد در بخش‌های مختلف بیمارستانی گسترش یابد. از طرفی تنوع منابع بالقوه آلودگی یا عفونت به اسینتوباکتر بومانی در محیط بیمارستان، کنترل عفونت ناشی از این باکتری‌ها را به یکی از دشوارترین چالش‌های کنترل عفونت بیمارستانی تبدیل کرده است. در حال حاضر تعدادی از سویه‌های اسینتوباکتر نسبت به همه عوامل ضد میکروبی در دسترس مقاوم شده‌اند. این سویه‌های مقاوم مجموعه‌ای از ژن‌های کدکننده مقاومت نسبت به چند خانواده آنتی‌بیوتیکی را حمل می‌کنند [۱۰]. شواهد بسیاری وجود دارد که اسینتوباکتر بومانی قادر است برای مدت طولانی (چند روز) در شرایط معمول اتاق زنده بماند و از طریق هوا در محیط بیمارستان منتقل شود [۹]. مقاومت آسینتوباکتر بومانی به گروه پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها از طریق آنزیم بتالاکتامازی است که توسط ژنOXA کد می‌گردد [۱۱]. ژن‌های OXA23 و OXA51 از کلاس D بتالاکتامازها هستند. ژن OXA51 اولین بار در سال ۲۰۰۴ میلادی در اسینتوباکتر بومانی تشخیص داده شد و منحصراً مربوط به این باکتری عفونت‌زا می‌باشد [۱۲].

اگر چه بر روی فاکتورهای مقاومت میکروبی در بیمارستان‌ها زیاد کار شده است اما بر روی باکتری‌های مقاوم در محیط بیمارستان، به‌ویژه میکروارگانیزم‌های منتقله توسط هوای تنفسی کار زیادی انجام نشده است. با توجه به نقش بالقوه هوای بیمارستان در انتقال باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، این مطالعه با هدف جداسازی و شناسایی باکتری‌های هوابرد مقاوم به آنتی‌بیوتیک و ژن‌های مقاوم در هوای بخش‌های مراقبت ویژه انجام شد.

مواد و روش‌ها

محل و روش نمونه‌برداری. این مطالعه توصیفی- مقطعی در بخش مراقبت ویژه در چهار بیمارستان آموزشی تحت پوشش دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد. مشخصات مربوط به محل‌های نمونه‌برداری در جدول ۱ ارائه شده است. عمل نمونه‌برداری باکتری‌های منتقله توسط هوا با استفاده از یک نمونه بردار ایمپینجر حاوی ۲۰ میلی‌لیتر از بافر فسفات انجام شد. در هر بار نمونه‌بردای تقریباً ۳۰۰۰ لیتر از هوا با استفاده از یک پمپ نمونه‌بردار با دبی ۱۲/۵ لیتر بر دقیقه جمع‌آوری گردید. نمونه‌برداری از ارتفاع ۱/۵ متری از سطح زمین (ارتفاع تنفسی) انجام شد. از هوای تنفسی ICU هر بیمارستان چهار نمونه با تکرار و بنابراین در مجموع ۳۲ نمونه هوا برداشت شد. پس از انجام نمونه‌برداری، نمونه‌ها با رعایت زنجیره سرد ۴ درجه سانتی‌گراد فوراً به آزمایشگاه منتقل شدند.

روش تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و محیط کشت مورد استفاده.

جهت ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی از روش شمارش پلیت هتروترفیک (Heterotrophic plate count) استفاده شد. به این ترتیب که بخشی از محتوی ایمپینجر بعد از ورتکس کامل به

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 6:00 +0330 on Wednesday November 21st 2018

روش پخش کردن، روی محیط کشت (Tryptic Soy Agar) TSA حاوی پنل آنتی‌بیوتیکی شامل: اگزاسیلین (OX)، سفازولین (CFZ)، سفتازیدیم (CAZ)، ونکومایسین (VA) و جنتامایسین (Gn) پخش گردید. در این مطالعه غلظت آنتی‌بیوتیک‌های اگزاسیلین، سفازولین، سفتازیدیم، ونکومایسین و جنتامایسین با توجه به استاندارد CLSI 2012 (Clinical Laboratory Standard Institute) به ترتیب برابر ۴ mg/l، ۳۲ mg/l، ۳۰ mg/l، ۱۶ mg/l و ۱۰ mg/l تعیین شد [۱۳]. و از گونه‌های استاندارد اشرشیاکلی (ATCC25922) و استافیلوکوک اورئوس (ATCC25923) جهت کنترل کیفی استفاده شد. به‌طور هم‌زمان جهت تعیین تعداد کلنی باکتری‌های منتقله توسط هوا، مقداری از هر نمونه بر روی محیط کشت بدون آنتی‌بیوتیک پخش گردید. پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳-۲ روز انکوبه شدند. با توجه به این‌که در هر مورد نمونه‌برداری، دو پلیت حاوی محیط کشت یکسان (duplicate) برای نمونه‌برداری مورد استفاده قرار گرفته بود، میانگین تعداد شمارش شده دو پلیت به عنوان تعداد باکتری‌های موجود در هوا استفاده گردید. سپس تراکم کلنی‌های شمارش شده بسته به حجم هوای نمونه‌برداری شده بر اساس واحد CFU/m^3 محاسبه گردید. میزان شیوع باکتری‌های مقاوم هوابرد از تقسیم تعداد باکتری‌های رشد کرده روی محیط کشت TSA حاوی آنتی‌بیوتیک به تعداد کل باکتری رشد کرده روی محیط TSA بدون آنتی‌بیوتیک به دست آمد.

انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) و تشخیص ژن‌های انتخابی. برای استخراج DNA و شناسایی ژن‌های مقاوم، از ایزوله‌های مقاوم به‌صورت خطی بر روی محیط کشت مولر هینتون حاوی آنتی‌بیوتیک مخصوص آن، کشت مجدد داده شد. جهت استخراج DNA ژنومی از روش ترسیب اتانول استفاده شد [۱۴] و ۵۰ µL آب مقطر استریل به آن اضافه شد. با توجه به شیوع و اهمیت بتالاکتامازها و به‌ویژه بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در بیمارستان‌های کشور، ۴ ژن از این گروه انتخاب شدند. ژن‌های انتخابی و پرایمرهای اختصاصی آن‌ها عبارت بودند از: bla-TEM، CTX-m32، OXA-23، OXA-51، mecA [۱۵] وآنتی‌بیوتیک‌های مرتبط با این ژن‌ها اگزاسیلین، سفازولین و سفتازیدیم بودند. هم‌چنین دو ژن مهم A Van[۱۶] و Aac3-I [۱۷] به ترتیب مرتبط با آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین و جنتامایسین انتخاب شدند.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل: ۲/۵ µl از بافر ۱۰ X (2mmol.l-. $mgcl_2$) PCR، ۰/۲ Mµ از هر پرایمر، ۲۰۰ میکرومولار از dNTPS، ۲ واحد از DNA پلیمراز Taq و ۲ µl از DNA الگو بود. سیکل حرارتی تکثیر ژن‌ها بر اساس دناتوراسیون اولیه در ۹۴°C برای مدت ۵ دقیقه و ۳۵ سیکل شامل (۹۴°C به مدت ۴۵ ثانیه، ۴۵ ثانیه در دمای اتصال پرایمر بسته به نوع پرایمر انتخابی (جدول۲) و ۴۵ ثانیه در دمای ۷۲°C)، سیکل نهایی در ۷۲ °C به مدت ۱۰ دقیقه بود. محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵٪ حاوی اتیدیوم بروماید، الکتروفورز گردید و برای مشاهده و عکس‌برداری از دستگاه UV Tech فرانسه استفاده شد.

آنالیز آماری. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون کولموگروف- اسمیرنوف جهت تعیین نرمال بودن داده‌ها و آزمون کروسکال- والیس جهت مقایسه غلظت باکتری‌های هوابرد در بخش‌های مراقبت ویژه تحلیل گردید.

جدول ۱. مشخصات بخش های ICU هر بیمارستان

محل نمونه برداری	تعداد افراد فعال	مساحت بخش (m^2)	نوع سیستم تهویه	تعداد تخت
ICU۱	۱۵-۲۰	۱۲۰	*HVAC	۸
ICU۲	۵-۱۰	۹۰	HVAC	۶
ICU۳	۶-۸	۷۰	HVAC	۴
ICU۴	۶-۱۰	۸۰	HVAC	۸

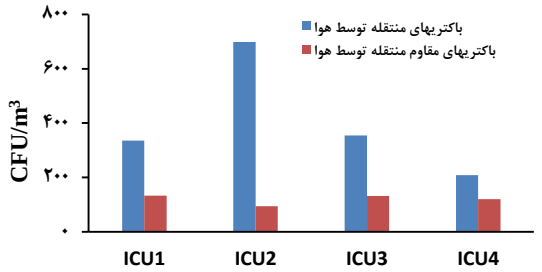
جدول ۲. میانگین غلظت باکتریهای هوابرد و باکتریهای هوابرد مقاوم به آنتی بیوتیک (CFU/m^3) در بخش های مراقبت ویژه

محل نمونه برداری	میانگین تراکم باکتریهای منتقله توسط هوا (cfu/m^3)	میانگین تراکم باکتریهای مقاوممنتقله توسط هوا (cfu/m^3)				
		اگزاسیلین	سفتازیدیم	سفازولین	ونکومایسین	جنتامایسین
ICU۱	۳۱۲ ± ۳۳۵	۷۹	۳۵	۰	۵	۱۴
ICU۲	۳۳۷± ۶۹۹	۴۱	۳۵	۰	۰	۱۸
ICU۳	۲۸۷± ۳۵۴	۶۴	۲۳	۱۴	۲۰	۱۱
ICU۴	۹۲± ۲۰۸	۷۶	۰	۲۰	۱۰	۱۴
میانگین	۳۹۹	۶۵	۳۱	۴	۹	۱۴

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 6:00 +0330 on Wednesday November 21st 2018

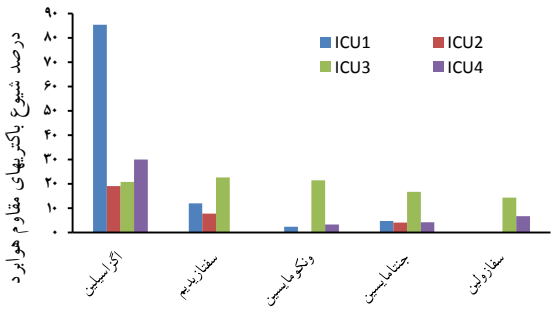
نتایج

در این مطالعه میانگین کلی غلظت باکتری‌های منتقله توسط هوا در بخش‌های مراقبت ویژه برابر (CFU/m^3) ۳۹۹ بود. جدول ۲ به تفکیک میانگین غلظت باکتری‌های منتقله توسط هوا را در بخش ICU بیمارستان‌های مورد بررسی را نشان می‌دهد. بیمارستان شماره ۲ با (CFU/m^3) ۶۹۹ و بیمارستان شماره ۴ با (CFU/m^3) ۲۰۸ به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میانگین غلظت باکتری‌های منتقله توسط هوا را داشتند. لیکن تفاوت آماری معنی‌داری بین چهار بیمارستان وجود نداشت (P>۰/۰۵). مقایسه کلی میانگین تراکم باکتری‌های منتقله توسط هوا با باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های منتخب در بخش‌های مراقبت ویژه بیمارستان‌های مختلف نشان می‌دهد که باوجود بالاتر بودن تراکم باکتری‌ها در ICU بیمارستان شماره ۲، تراکم باکتری‌های مقاوم منتقله توسط هوا در این بخش پایین‌تر بوده است (شکل ۱).



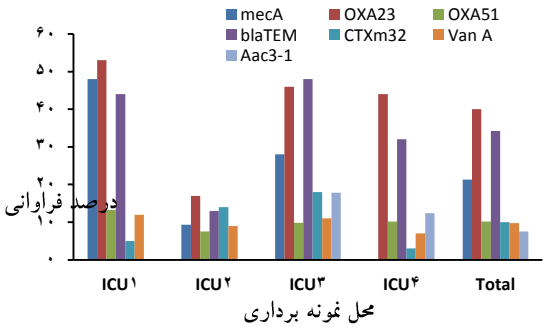
شکل ۱. میانگین کلی تراکم باکتریهای هوابرد در مقایسه با باکتریهای مقاوم هوابرد در همه مکانهای نمونه برداری

شکل ۲ درصد شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های منتقله توسط هوا را در ICUهای مورد بررسی نشان می‌دهد. درصد شیوع مقاومت به پنج آنتی‌بیوتیک انتخابی بین ۵/۹۳ تا ۳۷/۳۴ متغیر بود. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان می‌دهد که بیش‌ترین مقاومت مربوط به اگزاسیلین و به ترتیب سفتازیدیم، جنتامایسین، ونکومایسین و سفازولین می‌باشد. در بین بیمارستان‌های مورد بررسی، ICU بیمارستان شماره ۱ به‌طور معناداری بالاترین درصد شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی را داشت (P<۰/۰۵).



شکل ۲. درصد شیوع مقاومت به آنتی بیوتیک های انتخابی در بخش های مراقبت ویژه بیمارستانهای مورد مطالعه

در این پژوهش هفت ژن از کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی مختلف مورد بررسی قرار گرفت. از بین ژن‌های انتخابی ۴ ژن (TEM, OXA51, OXA23 و CTXm-32) از دسته بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف و سه ژن مهم mecA، VanA و Aac3-I در کلنی‌های ایزوله باکتریایی شناسایی شدند. نتایج کلی مربوط به فراوانی ژن‌های مقاوم (درصد ژن‌های شناسایی شده در ایزوله باکتریایی به مجموع ایزوله‌های مقاوم منتقله توسط هوا) در شکل ۳ آورده شده است.



شکل ۳. درصد فراوانی ژن های مقاوم شناسایی شده در ایزوله های مقاوم هوابرد بخش های مراقبت ویژه

نتایج این مطالعه نشان داد که میانگین کلی ژن‌های شناسایی شده از کلنی‌های ایزوله برابر ۱۹٪ بود. به‌طور کلی در ایزوله‌های مقاوم بیش‌ترین و کم‌ترین درصد فراوانی ژن‌ها به ترتیب مربوط به ژن OXA23 (۴۰٪) و ژن Aac3-I (۸٪) بوده است. ترتیب ژن‌های مورد بررسی از نظر درصد فراوانی در کل ICUها به صورت زیر به دست آمد:

OXA23> TEM > mecA>OXA51> CTXm-32> VanA> Aac3-I

فراوانی ژن‌های OXA23، OXA51، mecA و VanA به ترتیب با ۴۰، ۱۳، ۴۸ و ۱۲٪ در بخش مراقبت ویژه بیمارستان ۱ از سایر بخش‌ها بالاتر بود (شکل ۳). ژن CTXm-32 فقط در دو بخش ICU بیمارستان‌های ۳ و ۴ شناسایی شد.

بحث و نتیجه‌گیری

کیفیت هوای بیمارستان به دلیل گسترش عفونت‌های منتقله از هوا بین بیماران و یا پرسنل هم‌چنین گسترش عفونت به خارج از بیمارستان اهمیت ویژه‌ای دارد [۸]. همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است میانگین غلظت باکتری‌های منتقله توسط هوا در بخش‌های مراقبت ویژه نوسانات زیادی داشت. در این تحقیق غلظت باکتری‌های هوابرد بین مقادیر $46CFU/m^3$ تا ۱۰۸۳ (میانگین CFU/m^3 ۳۹۹) متغیر بود. که با نتایج گزارش شده توسط تعدادی از مطالعات مشابه هم‌خوانی دارد [۱۸،۱۹]. Augustowska و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که میانگین غلظت باکتری‌های هوابرد در یک بخش

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 6:00 +0330 on Wednesday November 21st 2018

بیمارستانی در لهستان از CFU/m^3 ۴۳۶-۲۵۷ متغیر بود [۲۰]. در محیط‌های بیمارستانی مجموعه‌ای از فاکتورهای مختلف مانند طراحی بیمارستان، سیستم تهویه، دما، رطوبت نسبی، تراکم جمعیت و روش گندزدایی بر میزان ترکم باکتری‌های منتقله توسط هوا تأثیرگذار است [۲۱].

ICU بیمارستان ۱ دارای بالاترین درصد شیوع باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی می‌باشد (شکل ۱) که دلیل آن می‌تواند عدم کارایی مناسب سیستم تهویه به‌دلیل نگهداری نامناسب و عدم تعویض فیلترهای آن، تعداد زیاد مراجعین به این بیمارستان آموزشی و تعداد زیاد بیماران، پرسنل و دانشجویان باشد.

بر اساس نتایج به دست آمده در این تحقیق شیوع نسبتاً بالایی (حدود ۸۵- ۳۰٪) از باکتری‌های مقاوم هوابرد در یک گروه از آنتی‌بیوتیک‌های دسته بتالاکتام (اگزاسیلین) نشان داده شد (شکل ۲). اگزاسیلین یک آنتی‌بیوتیک رایج است که برای درمان انواع زیادی از عفونت‌هایی مثل سینوزیت یا عفونت‌های پوستی و تنفسی استفاده می‌شود. در مطالعه Yadav و همکاران (۲۰۱۳) حدود ۱۷٪ (۵۲ از ۳۰۰) باکتری هوابرد ایزوله شده از هوای یک منطقه مسکونی در مرکز هند به اگزاسیلین مقاوم بودند [۲۲]. مطالعه Patrikis و همکاران (۲۰۰۹) در یک اداره با تهویه طبیعی نشان داد که در حدود ۷/۸-۰/۹٪ از باکتری‌های هوابرد به غلظت‌های µg/ml ۲/۵-۵ آمپی‌سیلین مقاوم بودند [۲۴]. در بین باکتری‌های هوابرد مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های دسته بتالاکتاماز، مقاومت به سفازولین (CFZ) کم‌ترین میزان شیوع را در چهار ICU مورد بررسی داشت. (شکل ۲). تغییرات در شیوع باکتری‌های هوابرد مقاوم می‌تواند ناشی از فشار انتخابی آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در یک بیمارستان باشد. آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام از پرمصرفترین آنتی‌بیوتیک‌ها در اغلب کشورها هستند و حدود ۷۰-۵۰٪ از کل مصارف آنتی‌بیوتیک را به خود اختصاص می‌دهند [۲۴]. افزایش مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند اثرات جدی منفی بر درمان و کنترل بیماری‌ها داشته باشد چرا که به‌دلیل پائین بودن سمیت، این گروه از آنتی‌بیوتیک‌ها برای بدن گزینه مطلوب می‌باشند [۲۴]. کاربرد وسیع و طیف زیاد این خانواده باعث شده است که بسیاری از گروه‌های میکروبی نسبت به این ترکیبات مقاومت نشان دهند. ژن مقاوم TEM نیز یکی از آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف (ESBL) معمول تولیدی به‌وسیله انتروباکتریاسه است. با این وجود این ژن در باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا نیز یافت شده است [۲۴]. این ژن بعد از OXA23 بیش‌ترین فراوانی را در نمونه‌های هوای مربوط به بخش مراقبت ویژه داشت (شکل ۳). نتایج این مطالعه نشان داد که از بین ژن‌های کدکننده بتالاکتاماز مربوط به ایزوله‌های مقاوم هوابرد، ژن OXA-23 بیش‌ترین فراوانی را داشت (شکل۳). OXA 23 متداول‌ترین ژن یافت شده در اسینتوباکترهاست [۲۵]. OXA51 یک ژن ذاتی بر روی کروموزوم‌های اسینتوباکتر بومانی است و اگزاسیلیناز OXA51 به‌طور طبیعی فقط در گونه‌ی اسینتوباکتر بومانی موجود است. بنابراین تشخیص OXA23 همراه با OXA51 نشان‌دهنده این است که اسینتوباکتر شناسایی شده از گونه اسینتوباکتر بومانی است. نتایج مطالعات گذشته نشان می‌دهد که اسینتوباکتر یکی از ارگانیسم‌های بسیار مهم بخش مراقبت‌های ویژه محسوب می‌شود و بیش‌ترین شیوع را در این بخش دارد [۲۶]. بر اساس مطالعات انجام شده یکی از ویژگی‌های قابل توجه این ارگانیسم مقاومت ذاتی داروئی و یا تمایل بالای آن در کسب فاکتورهای مختلف مقاومت داروئی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مصرفی در بیمارستان است. این امر در حال حاضر مشکلات فراوانی را برای پزشکان در درمان بیماران آلوده به این ارگانیسم‌های مقاوم ایجاد کرده است. از طرف دیگر قابلیت بالای بقای این ارگانیسم نیز امروزه متخصصان کنترل عفونت را در پاک‌سازی بخش‌های مختلف بیمارستان‌ها با نگرانی‌های زیادی مواجه ساخته است. پنومونی بیمارستانی، شایع‌ترین عفونت بیمارستانی ایجاد شده توسط این میکروارگانیسم است. شناسایی ژن mecA به‌عنوان یک عامل ژنتیک یافت شده در استافیلوکک مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) در همه ICUهای مورد بررسی با فراوانی نسبتاً بالا نشان‌دهنده پتانسیل انتقال MRSA از طریق هوا در این بخش بیمارستانی است. ژن mecA ژن مقاومت به متی‌سیلین است. این ژن پروتئینی به نام PBP2a (پروتئین‌های باندشونده با پنی‌سیلین) را کد می‌نماید. که میل ترکیبی آن در اتصال به متی‌سیلین کم‌تر از سایر پروتئین‌های متصل‌شونده به پنی‌سیلین در دیواره باکتری می‌باشد. در باکتری حساس (فاقد ژن mecA) متی‌سیلین با میل ترکیبی بیش‌تری به پروتئین PBP در دیواره سلول متصل می‌شود که سبب لیز دیواره سلول باکتری و سرانجام مرگ آن می‌گردد [۲۷]. سویه‌هایی که دارای این ژن هستند به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های دیگر هم مقاومت نشان می‌دهند (مقاومت چندداروئی) که علاوه بر ایجاد مشکلات در درمان بیماری، سبب کلونیزاسیون و انتشار در محیط بیمارستان، انتشار به سایر بیماران می‌گردند. در مطالعه حاضر، حدود ۲۱٪ از ایزوله‌های مقاوم حامل ژن mecA بودند. تحقیقات مختلف انتقال هوابرد MRSA را در بخش‌های بیمارستانی به ویژه بخش مراقبت ویژه گزارش کرده‌اند که بر طبق نتایج آن‌ها ۴۰٪ از عفونت‌های

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 6:00 +0330 on Wednesday November 21st 2018

ناشی از استافیلوکوک اورئوس در آمریکا مقاوم به متی‌سیلین هستند [۲۸].

Drudge و همکاران (۲۰۱۲) ژن mecA را در غبار حاصل از پیش فیلتر سیستم تهویه اتاق ایزوله شناسایی کردند و با شناسایی این ژن در همه نمونه‌ها به این نتیجه رسیدند که MRSA یک باکتری شایع در همه اتاق‌های ایزوله بیمارستان می‌باشد [۱۰].

در سراسر دنیا سطح بالایی از مقاومت باکتریایی به آمینوگلیکوزیدازها به‌ویژه جنتامایسین گزارش شده است. در تحقیق ما میانگین شیوع مقاومت باکتری‌های هوابرد به جنتامایسین در چهار بیمارستان مورد بررسی بین ۱۶-۴٪ متغیر بود و تنها یک ایزوله حامل ژن Aac3-I بود (شکل ۲). در مقابل یک بررسی در ایران توسط سلطان دلال و همکاران در سال ۲۰۱۲ بر روی ۱۰۲ نمونه ترشحات گوش میانی انجام شد میزان فراوانی استرپتوکک پنومونیه با روش کشت ۱۴/۷٪ گزارش شد و میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین ۸۶٪ گزارش شد [۲۹].

نتایج حاصل از این مطالعه، شیوع نسبتاً بالای باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک منتقله توسط هوا در بخش‌های ICU را نشان می‌دهد. هفت ژن انتخابی این پژوهش شامل ۵ ژن کدکننده آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتاماز و دو ژن مقاوم کدکننده ونکومایسین و جنتامایسین با فراوانی‌های مختلف در ایزوله‌های مقاوم شناسایی شدند. ایزوله‌های مقاوم استافیلوکوکوس و اسینتوباکتر بومانی از غالب‌ترین باکتری‌های هوابرد مقاوم بودند که نشان‌دهنده پتانسیل نقش هوا در انتقال این باکتری‌های مقاوم و انتشار عفونت‌های بیمارستانی است. شیوع نسبتاً بالای مقاومت باکتری‌های هوابرد در بخش مراقبت ویژه می‌تواند بیش‌ترین نگرانی را از نظر سلامت بیماران این بخش‌ها ایجاد کند. نتایج این مطالعه بر ضرورت کاربرد معیارهای کنترلی مؤثر در جهت کاهش پتانسیل انتقال عفونت‌های بیمارستانی از طریق هوا تأکید دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از طرح پژوهشی مصوب به شماره ۲۹۰۰۳۰ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است. نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از حمایت‌های مادی و معنوی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان قدردانی نمایند.

منابع

[1] Pittet D, Donaldson L. Clean care is safer care: a worldwide priority. Lancet 2005; 366: 1246-1247.

[2] Curtis LT. Prevention of hospital-acquired infections: review of nonpharmacological interventions. J Hosp Infect 2008; 69: 204-219.

[3] Fernstrom A, Goldblatt M. Aerobiology and its role in the transmission of infectious diseases. J Pathogens 2013; 2013: 493960.

[4] Beggs CB. The airborne transmission of infection in hospital buildings: fact or fiction? Indoor Built Environ 2003; 12: 9-18.

[5] Mirhoseini SH, Nikaeen M, Khanahmad H, Hatamzadeh M, hassanzadeh A. Monitoring of airborne bacteria and aerosols in different wards of hospitals – Particle counting usefulness in investigation of airborne bacteria. Ann Agr Env Med 2015; 22: 670-673.

[6] Zhang YZ, Singh S. Antibiotic stewardship programmes in intensive care units: Why, how, and where are they leading us. World J Crit Care Med 2015; 4: 13-28.

[7] Gilbert Y, Veillette M, Duchaine C. Airborne bacteria and antibiotic resistance genes in hospital rooms. Aerobiologia 2010; 26: 185-194.

[8] Tang JW, Li Y, Eames I, Chan PK, Ridgway GL. Factors involved in the aerosol transmission of infection and control of ventilation in healthcare premises. J Hosp Infect 2006; 64: 100-114.

[9] Barbut F, Yezli S, Mimoun M, Pham J, Chaouat M, Otter JA. Reducing the spread of Acinetobacter baumannii and methicillin-resistant Staphylococcus aureus on a burns unit through the intervention of an infection control bundle. Burns 2013; 395: 403-439.

[10] Drudge C, Krajden S, Summerbell R, Scott J. Detection of antibiotic resistance genes associated with methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and coagulase-negative staphylococci in hospital air filter dust by PCR. Aerobiologia 2012; 28: 285-289.

[11] Perez HR, Johnson R, Gurian PL, Gibbs SG, Taylor J, Burstyn I. Isolation of airborne oxacillin-resistant Staphylococcus aureus from culturable air samples of urban residences. J Occup Environl Hyg 2011; 8: 80-85.

[12] Cecchini T, Yoon EJ, Charretier Y, Bardet C, Beaulieu C, Lacoux X, et al. Deciphering multifactorial resistance phenotypes in Acinetobacter baumannii by genomics and targeted label-free proteomics. Mol Cell Proteomics 2017; 17: 442-456.

[13] CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-Second Informational Supplement.Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012. CLSI document M100-S22.

[14] Sambrook J, Russell D, et al. Extraction, purification, and analysis of RNA from eukaryotic Cells345. In: Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 4th ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2012.

[15] Mirhoseini SH, Nikaeen M, Shamsizadeh Z, Khanahmad H. Hospital air: A potential route for transmission of infections caused by β-lactam–resistant bacteria. Am J Infect Control 2016; 44: 898-904.

[16] Borhani K, Ahmadi A, Rahimi F, Pourshafie MR, Talebi M. Determination of vancomycin resistant enterococcus faecium diversity in Tehran sewage using plasmid profile, biochemical fingerprinting and antibiotic resistance. Jundishapur J Microbiol 2014; 7: e8951. (Persian).

[17] Szczepanowski R, Linke B, Krahn I, Gartemann KH, Gu¨tzkow T, Eichler W, et al. Detection of 140 clinically relevant antibioticresistance genes in the plasmid metagenome of wastewater treatment plant bacteria showing reduced susceptibility to selected antibiotics. Microbiology 2009; 155: 2306-2319.

[18] Park DU, Yeom JK, Lee WJ, Lee KM. Assessment of the levels of airborne bacteria, gram-negative bacteria, and fungi in hospital lobbies. Int J Environ Res Public Health 2013; 10: 541-555.

[19] Verde SC, Almeida SM, Matos J, Guerreiro D, Meneses M, Faria T. Microbiological assessment of indoor air quality at different hospital sites. Res Microbiol 2015; 166: 557-563.

[20] Augustowska M, Dutkiewicz J. Variability of airborne microflora in a hospital ward within a period of one year. Ann Agr Environ Med 2006; 13: 99-106.

[21] Hota B. Contamination, disinfection, and cross-colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection? Clin Infect Dis 2004; 39: 1182-1189.

[22] Yadav J, Kumar A, Mahor P, Goel AK, Chaudhary HS, Yadava PK, et al. Distribution of airborne microbes and antibiotic susceptibility pattern of bacteria during Gwalior trade fair, Central India. J Formos Med Assoc 2015; 114: 639-646.

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 6:00 +0330 on Wednesday November 21st 2018

[23] Patrikis N, Lazaridis M, Katsivela E. Antibiotic resistant airborne microbial concentrations and indoor/outdoor particulate matter levels. In CEST 2009; B-725-729.

[24] Murugan N, Malathi J, Therese KL, Madhavan H NR. Application of six multiplex PCR's among 200 clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa for the detection of 20 drug resistance encoding genes. Kaohsiung J Med Sci 2018; 34: 79-88.

[25] Pajand O, Rezaee MA, Nahaei MR, Mahdian R, Aghazadeh M, Soroush MH, et al. Study of the carbapenem resistance mechanisms in clinical isolates of Acinetobacter baumannii: Comparison of burn and non-burn strains. Burns 2013; 39: 1414-1419.

[26] Shamsizadeh Z, Nikaeen M, Nasre Esfahani B, Mirhoseini SH, Hatamzadeh M, Hassanzadeh A. Detection of antibiotic resistant Acinetobacter baumannii in various hospital environments: potential sources for transmission of Acinetobacter infections. Environ Health Prev 2017; 22: 44.

[27] Abdal N, Ghaznavirad, Hamidi A, Hosseini D. Prevalence of genes encoding aminoglycoside resistant in methicillin-sensitive Staphylococcus aurous and coagulase-negative staphylococci isolated from hospital infectious. Koomesh 2014; 16: 82-89. (Persian).

[28] Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG Jr. Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clin Microbiol Rev 2015; 28: 603-661.

[29] Dallal MM, Jabbari H, Forushani AR, Heidarzadeh S, Afrogh P, Yazdi MK. Frequency and resistance patterns of streptococcus pneumoniae in acute otitis media. J Mazandaran Univ Med Sci 2013; 22 (Persian).

Prevalence and molecular identification of antibiotic resistant airborne bacteria at intensive care units

Seyed Hamed Mirhoseini (Ph.D)[*1], Mahnaz Nikaeen (Ph.D)[2], Zahra Shamsizadeh (Ph.D Student)[3], Rahim Aali (Ph.D)[3]

1- Dept. of Environmental Health, School of Health, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran
2 – Dept. of Environmental Health, School of Health, Isfahan University of medical sciences, Isfahan, Iran
3- Environmental Science and Technology Research Center, Department of Environmental Health Engineering, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
4- Cellular and Molecular Research Center, Urmia university of Medical Sciences, Urmia, Iran

* Corresponding author. +98 9183495575 dr.mirhoseini@arakmu.ac.ir
Received: 11 Nov 2017; Accepted: 30 Apr 2018

***Introduction**:* The importance of airborne transmission in the epidemiology of hospital acquired infections (HAI) has gained attention in the past two decades.The airborne transmission may have more effect on intensive care units (ICUs), because the patients who require intensive care have unstable clinical conditions and are more sensitive to infections.This study was designed to evaluate the prevalence of antibiotic resistant airborne bacteria in intensive care units.

***Materials and Methods**:* A cross-sectional study was conducted at four teaching hospitals.The 32 air samples were collected by using all-glass impingers (AGI). Identification of airborne bacteria was conducted using cultured plates with and without five selected antibiotics. The resistant isolates were analyzed by Polymerase Chain Reaction (PCR) for the presence of seven most common antibiotic resistance genes.

Results: The prevalence of antibiotic resistance airborne bacteria ranged from 6% to 37%. The oxacillin resistant isolates had the highest prevalence followed by ceftazidime-, vancomycin-, gentamicin- and cefazolin- resistant bacteria. Selected genes were detected in airborne resistant isolate with the highest and lowest frequency for OXA23 and AAC (3) -I, respectively. A high frequency of mecA (21%) and blaTEM (34%) genes was detected in isolates. Identification of OXA-51 demonstrated that the species of Acinetobacter were A. baumannii. Methicillin-resistant Staphylococcus (MRS) spp were the second most predominant resistant bacteria in all ICUs isolates.

Conclusion: In this study, identification of Staphylococcus spp and A. baumannii as the most dominant antibiotic resistant bacteria indicated the potential role of airborne bacteria in dissemination of nosocomial infections in ICUs.

***Keywords**:* Bacteria, Bacterial Drug Resistance, Intensive Care unit.

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 6:00 +0330 on Wednesday November 21st 2018