

Detection of antibiotic resistance patterns in *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients admitted to Isfahan hospitals during 2014-2015

Nourbakhsh F, Momtaz H*

Department of Microbiology, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, I. R. Iran.

Received February 28, 2015; Accepted September 16, 2015

Abstract:

Background: *Staphylococcus aureus* is one of the most important pathogens that cause disease and death in humans and animals in Iran and around the world. This study was conducted to detect antibiotic resistance genes and antibiotic susceptibility patterns in *S. aureus* strains isolated from patients admitted to Isfahan hospitals during 2014-2015.

Materials and Methods: In this cross-sectional study, *S. aureus* isolates were collected from patients referred to the health centers in Isfahan Province, Iran. The isolates were separated using the laboratory standard methods. Antibiotic susceptibility patterns of the isolates were determined using the disk-diffusion method. Furthermore, the presence of genes responsible for antibiotic resistance including *tet M*, *tet K*, and *mec A* were investigated using the multiplex-polymerase chain reaction method.

Results: Phenotypic evaluation showed that the highest antibiotic resistance was seen for methicillin (90.2%), erythromycin (89.7%), ciprofloxacin (89.5%), penicillin (88%), tetracycline (82.4%), and gentamycin (75.8%) and the lowest resistance levels were seen for nitrofurantoin (2%) and vancomycin (10%). Molecular study showed the presence of *mec A* (93%), *tet M* (78%) and *tet K* (21%) in the isolates.

Conclusion: The results of this study compared with the results of other studies show an increase in drug resistance of *S. aureus* isolates.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Antibiotic resistance, Nosocomial infectious

* Corresponding Author.

Email: hamomtaz@yahoo.com

Tel: 0098 383 361 045

Fax: 0098 383 361 064

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, October, 2015; Vol. 19, No 4, Pages 356-363

Please cite this article as: Detection of antibiotic resistance patterns in *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients admitted to Isfahan hospitals during 2014-2015. *Feyz* 2015; 19(4): 356-63.

الگوی مقاومت آنتیبیوتیکی در ایزوله‌های استافیلکوکوس اورئوس جداسازی شده از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌های استان اصفهان طی سال ۱۳۹۳

*۱ فهیمه نوربخش ، حسن متاز

خلاصه:

سابقه و هدف: استافیلکوکوس اورئوس یکی از پاتوزن‌های مهم در ایجاد بیماری و مرگ و میر در ایران و جهان می‌باشد. مطالعه حاضر با هدف ردبایی ژن‌های کدکننده مقاومت آنتیبیوتیکی در ایزوله‌های استافیلکوکوس اورئوس و بررسی الگوی حساسیت آنتیبیوتیکی در ایزوله‌های جداسازی شده از عفونت‌های بیمارستانی در بیمارستان اصفهان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی-توصیفی در طول یک سال ایزوله‌های استافیلکوکوس اورئوس جداسازی شده از بیماران مراجعه کننده به مرکز درمانی استان اصفهان جمع‌آوری شد. این ایزوله‌ها با استفاده از روش‌های استاندارد آزمایشگاهی جداسازی شدند. به منظور ارزیابی الگوی حساسیت آنتیبیوتیکی ایزوله‌ها، از روش انتشار دیسک استفاده گردید. هم‌چنین، حضور ژن‌های کدکننده مقاومت آنتیبیوتیکی شامل *tet M*, *tet K*, *mec A* در ایزوله‌های مورد مطالعه با استفاده از روش multiplex-PCR مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: ارزیابی فنوتیپی نشان داد که بیشترین مقاومت آنتیبیوتیکی نسبت به آنتیبیوتیک‌های متی‌سیلین (۹۰/۲ درصد)، اریتورمایسین (۸۹/۷ درصد)، سپروفلوکسازین (۸۹/۵ درصد)، پنی‌سیلین (۸۸ درصد)، تتراسایکلین (۸۲/۴ درصد)، جنتامایسین (۷۵/۸ درصد) و کمترین مقاومت نسبت به آنتیبیوتیک‌های نیتروفورانتئین (۲ درصد) و نونکومایسین (۱۰ درصد) وجود دارد. بررسی‌های مولکولی نشان دهنده حضور ۹۳ درصدی ژن *mec A* هم‌چنین فراوانی ۷۸ درصدی حضور ژن *tet K* و ۲۱ درصدی حضور ژن *tet M* در ایزوله‌ها بود.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه در مقایسه با نتایج سایر مطالعات، بیان‌گر افزایش میزان مقاومت دارویی در ایزوله‌های استافیلکوکوس اورئوس می‌باشد.

وازگان کلیدی: استافیلکوکوس اورئوس، مقاومت آنتیبیوتیکی، عفونت‌های بیمارستانی

دو ماهنامه علمی-پژوهشی فیض، دوره نوزدهم، شماره ۴، مهر و آبان ۱۳۹۴، صفحات ۳۶۳-۳۵۶

مقاومت آنتیبیوتیکی در این باکتری از طریق کروموزوم و پلاسمید حمل می‌شود که با مصرف بی‌رویه آنتیبیوتیک‌ها افزایش می‌یابد [۴]. در اوایل دهه ۱۹۸۰ سویه‌های استافیلکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی مطرح گردید [۵]. با توجه به گستردگی مقاومت‌های آنتیبیوتیکی در ایران و جهان، هم‌چنین تفاوت در الگوی مقاومت آنتیبیوتیکی به روش فنوتیپی و ژنوتیپی، مقاومت آنتیبیوتیکی به متی‌سیلین و تتراسایکلین با دو روش ژنتیکی و فتوتیپی در ایزوله‌های بالینی بیمارستان‌های استان اصفهان مورد سنجش قرار گرفت. هدف از این مطالعه ارزیابی فنوتیپی مقاومت دارویی و هم‌چنین بررسی حضور ژن‌های *mec* در ایزوله‌های استافیلکوکوس اورئوس *tet M*, *tet K*, *tet A* جداسازی شده از نمونه‌های عفونی بیماران مراجعه کننده به مرکز درمانی استان اصفهان می‌باشد. ژن *tet A* بر روی ناحیه متحرک ژنومی به نام *SCCmec* قرار گرفته است. این قطعه دارای اندازه‌ای در حدود ۲/۱ کیلو باز می‌باشد. این ژن دارای نواحی خاصی جهت تغییر در پروتئین متصل شونده به پنی‌سیلین (PBP2a) می‌باشد که باعث کاهش میل ترکیبی در اتصال به سایر بتا-لакتام‌ها می‌شود [۶]. بیماران آلووده به سویه‌های استافیلکوکوس اورئوس

مقدمه

استافیلکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) به عنوان یک پاتوزن چند ظرفیتی و از عوامل ایجاد کننده بیماری در بیمارستان‌ها و سطح جامعه می‌باشد [۱]. این باکتری قادر است از عفونت‌های نسبتاً خفیف تا عفونت‌های سیستمیک تهدید کننده حیات را ایجاد کند. با توجه به ساختار ژنوم این باکتری، سویه‌های مقاوم و بیماری‌زا در حال گسترش می‌باشند. استافیلکوکوس اورئوس در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی و جامعه طیف گسترده‌ای را در بر می‌گیرد [۲]. این عفونت‌ها شامل عفونت‌های بافت نرم، عفونت‌های پوستی، کورک، کنگره‌ک، اندوکاردیت، استنومیلت و مسمومیت‌های غذایی می‌باشد [۳].

ادانش آموخته کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳ دانشیار میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

* دشمنی نیسلنده مسئول؛

شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، گروه میکروبیولوژی

تلفن: ۰۳۸۳۳۳۶۱۰۴۵ - ۰۳۸۳۳۳۶۱۰۶۴

پست الکترونیک: hamomtaz@yahoo.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۴/۶/۲۵ تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۱۹

بر روی محیط بلاد آگار (به مدت یک شبانه روز در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد) جهت تهیه سوسپانسیون معادل لوله نیم مک فارلنده استفاده شد. آزمایش آنتی بیوگرام برای دیسکهای آنتی بیوتیک (پادن طب) شامل دیسکهای با غلظت استاندارد و نکومایسین (μg)^(۳۰)، سپرروفلوکسازین (μg)^(۵)، تری متوفپرم ($۲/۵ \mu\text{g}$)^(۲)، تراساپیکلین ($۱۰ \mu\text{g}$)^(۱۰)، جتامایسین ($۱۰ \mu\text{g}$)^(۱۰)، ارتروموایسین ($۱۵ \mu\text{g}$)^(۱۵)، متی سیلین ($۱۰ \mu\text{g}$)^(۵)، کاتامایسین ($۱۵ \mu\text{g}$)^(۳۰)، کلرافنیکل ($۱۰ \mu\text{g}$)^(۳۰)، پنی سیلین ($۱۰ \mu\text{g}$)^(۱۰)، ایمی پنم ($۱۰ \mu\text{g}$)^(۱۰)، سفازولین ($۱۵ \mu\text{g}$)^(۳۰)، سفالوتین ($۱۵ \mu\text{g}$)^(۳۰)، سفتریاکسون ($۱۵ \mu\text{g}$)^(۳۰)، کلیندامایسین ($۱۵ \mu\text{g}$)^(۳۰)، آزتروموایسین ($۱۵ \mu\text{g}$)^(۱۵)، موپیروسین ($۱۵ \mu\text{g}$)^(۳۰)، ریفارمیسین ($۱۵ \mu\text{g}$)^(۵)، نیتروفوراتئوئین ($۱۵ \mu\text{g}$)^(۳۰) و سفکسیتیم ($۱۵ \mu\text{g}$)^(۳۰) انجام گردید. جهت تعیین مقاومت دارویی سویه‌ها نسبت به متی سیلین از روش میکرودایلوشن استفاده گردید [۹]. این روش با تهیه رقت‌های متواالی از آنتی بیوتیک متی سیلین به همراه غلظت ثابتی از سوسپانسیون باکتری (با کدورت نیم مک فارلنده) در میکروپلیت انجام گرفت. پس از مرحله گرم‌آذاری به مدت ۲۴ ساعت چگالی نوری در هر رقت بررسی شد. کمترین غلظتی از آنتی بیوتیک که مانع از رشد باکتری می‌گردید به عنوان MIC آنتی بیوتیک در نظر گرفته شد [۱۰]. تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیک و حساسیت ایزوله‌های استافیلکوکوس اورئوس مورد بررسی مطابق با دستورالعمل Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) در اساس قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها به صوت حساس، نیمه حساس و مقاوم بیان شد [۱۲]. سویه استاندارد استافیلکوکوس اورئوس ATCC3391 و ATCC25923 به عنوان سوش کنترل در این تحقیق استفاده گردید [۱۱]. پس از استخراج DNA ژنومی از سویه‌های باکتریابی توسط کیت استخراج DNA (سیناژن ایران) انجام شد و جهت ارزیابی ژن‌های مزبور از پرایمرهای موجود در جدول شماره ۱ از روش multiplex-PCR استفاده شد.

مقاوم به متی سیلین (MRSA) به عنوان گسترش دهنده گان عفونت در سطح جامعه می‌باشد. از طرفی این سویه‌ها امکان ایجاد مقاومت همزمان نسبت به سایر آنتی بیوتیک‌های گروه بتالاکتم و آمینوگلیکوزیدها را دارند [۷]. سویه‌های استافیلکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از عوامل ایجاد‌کننده عفونت مرتبط با جامعه (Community Associated-MRSA) می‌باشد. عفونت‌هایی که پس از پذیرش بیمار در بیمارستان (بعد از ۴۸ ساعت) ایجاد می‌شود سویه‌های مرتبط با بیمارستان (Health Care Associated-MRSA) می‌باشد. بنابر اهمیت موضوع مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه‌های باکتریابی مولد عفونت‌های بیمارستانی و هم‌چنین شیوع ایزوله‌های مقاوم به متی سیلین و تراساپیکلین در ایزوله‌های استافیلکوکوس اورئوس به مطالعه ایزوله‌های مقاوم به متی سیلین پرداخته شد. جهت ارزیابی و سنجش تفاوت در روش فنوتیپی و ژنوتیپی، مقاومت آنتی بیوتیکی به متی سیلین و تراساپیکلین با دو روش ژنوتیپی و فنوتیپی مورد سنجش قرار گرفت. هدف از این مطالعه ارزیابی فنوتیپی مقاومت دارویی و هم‌چنین بررسی حضور ژن‌های *tet M*, *tet K*, *mec A* در ایزوله‌های استافیلکوکوس اورئوس جداسازی شده از نمونه‌های عفونت بیماران مراجعه کننده به مرکز درمانی استان اصفهان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش مقطعی-توصیفی بر روی ۱۱۰ ایزوله استافیلکوکوس اورئوس انجام گرفت. ایزوله‌ها از مکان‌های مانند زخم، زخم بستر، آسپیره تراشه، خون، مایع مغزی نخاعی، آبše، صفاق، مایع مفصلی و کاتتر با استفاده از روش‌های استاندارد آزمایشگاهی جداسازی و شناسایی شدند. ایزوله‌های مورد تایید در محیط آبگوشت مغذی حاوی ۱۵ درصد گلیسرول و شیر بدون چربی در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی گراد ذخیره شدند [۸]. به منظور بررسی حساسیت دارویی از روش انتشار دیسک-Kirby (Bauer) استفاده گردید. در این بررسی از محیط مولر هیتوون آگار فاقد نمک استفاده شد. بدین صورت که از باکتری رشد کرده

جدول شماره ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت ریدیابی ژن‌های *mec A*, *tet M*, *tet K* در ایزوله‌های استافیلکوکوس اورئوس

اندازه محصول	توالی نوکلوتیدی (۵ [►] ۳ [▶])	ژن
532 (bp)	F: AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC R: AGTTCTGCAGTACCGGATTTC	<i>MecA</i>
360 (bp)	F : GTAGCGACAATAGGTAATAG R: GTAGTGACAATAAACCTCCTA	<i>TetK</i>
158 (bp)	F : AGTGGAGCGATTACAGA R: CATATGTCCTGGCGTGTCTA	<i>TetM</i>

از عمل جراحی (۴۹ درصد) بیشترین و ایزوله‌های مایع مفصلی با ۳ درصد کمترین ایزوله‌های عفونی را تشکیل می‌دهند. در این مطالعه ۱۱۰ ایزوله در بیماران بستری و سرپایی در بیمارستان‌های مختلف استان اصفهان مورد مطالعه قرار گرفتند. ایزوله‌های استافیلکوکوس اورئوس جداسازی شده در بیماران زن مورد مطالعه با ۷۳ درصد و بیماران مرد با ۲۷ درصد مورد بررسی قرار گرفتند.

جدول شماره ۲- فراوانی ایزوله‌های استافیلکوکوس اورئوس جدا شده از بخش‌های بستری بیماران مورد مطالعه

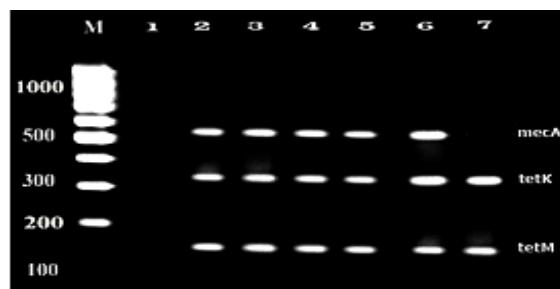
محل جداسازی	تعداد و درصد ایزوله
ارتودی	۳۵(۳۵/۳)
داخلی	۳۳(۳۳/۳)
ICU	۲۰(۲۰/۲)
ویژه ICU	۱۱(۱۱/۲)

بر اساس الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی نمونه‌ها، بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به متی سیلین، سیپروفلوکسازین، اریتروماسین، پنی سیلین، تتراسایکلین و جنتاماکسین مشاهده شد. کمترین میزان مقاومت مربوط به آنتی بیوتیک‌های ونکومایسین و نیتروفوراتوئین بود. کلیه ایزوله‌های بالینی مورد مطالعه دارای مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه بودند. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله‌های استافیلکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی استان اصفهان در جدول شماره ۴ ارائه شده است.

جدول شماره ۳- فراوانی حضور استافیلکوکوس اورئوس در نمونه‌های اخذ شده از عفونت‌های بالینی در انسان

نوع بیمار (بستری/سرپایی)	محل جداسازی نمونه (بستری/سرپایی)	تعداد و درصد ایزوله
بستری: ۴۰ سرپایی:	زخم	۴۹(۴۴/۵)
بستری: ۲ سرپایی: ۱	آبese	۳(۲/۷)
بستری: ۲۵	آسپیره تراشه	۲۵(۲۲/۷)
بستری: ۱۶ سرپایی: ۱	خون	۱۷(۱۵/۴)
بستری: ۴	کاتر	۴(۳/۶)
بستری: ۶	زخم بستر	۶(۵/۴)
بستری: ۳	مایع مفصلی	۳(۲/۹)
بستری: ۳	مایع مغزی نخاعی	۳(۲/۸)

واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر و با استفاده از برنامه حرارتی زیر انجام گرفت: مرحله واسرشت ابتدایی یک سیکل با دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، به مدت ۶ دقیقه؛ مرحله واسرشت شامل ۳۳ سیکل تکراری با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد، به مدت ۴۰ ثانیه؛ مرحله اتصال پرایمر با دمای ۵۷ درجه سانتی گراد، به مدت ۱ دقیقه؛ مرحله تکثیر با دمای ۷۲ درجه سانتی گراد، به مدت ۷۵ ثانیه؛ و تکثیر نهایی با دمای ۷۲ درجه سانتی گراد، به مدت ۶ دقیقه. محصولات حاصل از PCR به ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی ایدیوم بر ماید منتقل و الکتروفورز گردید. اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از آمار توصیفی و با به کارگیری آزمون‌های مجدد کاری و دقیق فیشر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج حاصل از تکثیر ژنهای *tetM*, *tetK*, *mecA* در تصویر شماره ۱ ارائه شده است.



تصویر شماره ۱- تصویر حاصل از الکتروفورز محصول PCR مربوط به ردیابی ژنهای *tetM*, *tetK*, *mecA* در ایزوله‌های استافیلکوکوس اورئوس روی ژل آگارز (ستون M مارکر ۱۰۰ بازی، ستون ۱ کنترل منفی، ستون‌های ۲ تا ۷ نمونه‌های مورد مطالعه)

نتایج

در مجموع ۱۱۰ ایزوله استافیلکوکوس اورئوس از نمونه‌های زخم، آبese، آسپیره تراشه، خون، کاتر، زخم بستر، مایع مفصلی، مایع مغزی نخاعی و کاتر جداسازی شد. جهت انجام کشت میکروبی از محیط‌های پایه و اختصاصی باکتری شناسی و هم‌چنین تست‌های بیوشیمیایی ویژه استافیلکوکوس اورئوس استفاده گردید. فراوانی ایزوله‌های استافیلکوکوس اورئوس جدا شده از بخش‌های بستری در بیماران مورد مطالعه، در جدول شماره ۲ ارائه شده است. همانطور که در جدول شماره ۳ نشان داده شده است فراوانی حضور استافیلکوکوس اورئوس در نمونه‌های اخذ شده از زخم‌های جراحی و عفونت‌های جلدی بعد

جدول شماره ۴- درصد مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله های استافیلکوکوس اورئوس مورد بررسی

آنتی بیوتیک	تعداد و درصد نمونه های مقاوم	تعداد و درصد نمونه های حساس	تعداد و درصد نمونه های نیمه حساس
سفلکتین	۳۹ (۴۳)	۱۵/۴۵ (۱۷)	۴۵/۵۵ (۵۰)
ریاباپسین	۱۹ (۲۱)	۲۹ (۳۲)	۵۲ (۵۷)
موپیروسین	۲۸/۲ (۳۱)	۳۷ (۴۱)	۳۴/۸ (۳۸)
آریتروماسین	۶۵ (۷۱)	۱۰ (۱۱)	۲۵ (۲۸)
کلیداما سین	۵۴ (۵۹)	۳۴/۲ (۳۸)	۱۱/۸ (۱۳)
سفرباکسون	۶۴/۹ (۷۱)	۲۱ (۲۳)	۱۴/۱ (۱۶)
سفالوتین	۲۵ (۲۸)	۲۷ (۲۹)	۴۸ (۵۳)
سفازولین	۶۵/۴۵ (۷۲)	۲۰/۹ (۲۳)	۱۳/۶۵ (۱۵)
ایمی پنم	۶۴/۶۴ (۷۱)	۱۹ (۲۱)	۱۶/۳۶ (۱۸)
پنی سیلین	۸۸ (۹۷)	۷ (۸)	۵ (۵)
کلرامفیکل	۴۳ (۴۷)	۱۳ (۱۵)	۴۴ (۴۸)
کاناماسین	۵۴/۳ (۶۰)	۳۲ (۳۵)	۱۳/۷ (۱۵)
متی سیلین	۹۰/۲ (۹۹)	۷/۸ (۸)	۲ (۳)
اریتروماسین	۸۹/۷ (۹۸)	۸/۶ (۱۰)	۱/۷ (۲)
جنتاماسین	۷۵/۸ (۸۳)	۱۲ (۱۳)	۱۲/۲ (۱۴)
تراساکلین	۸۲/۴ (۹۰)	۵/۷ (۷)	۱۱/۹ (۱۳)
تری متیپریم	۲۹ (۳۲)	۳۴ (۳۷)	۳۷ (۴۱)
سپروفلوکساسین	۸۹/۵ (۹۹)	۴/۶ (۵)	۵/۹ (۶)
آمپی سیلین	۶۳ (۷۰)	۲۱/۲ (۲۳)	۱۵/۸ (۱۷)
ونکوماسین	۱۰ (۱۱)	۳/۱ (۴)	۸۶/۹ (۹۵)
نیتروفورانتوئین	۲ (۳)	۵/۵ (۵)	۹۲/۵ (۱۰۲)

جدول شماره ۵- تعداد و درصد بیماران مورد مطالعه در گروه های سنی مختلف

سن بیماران (سال)	تعداد و درصد بیماران
۷ (۶/۳)	۴۱-۵۰
۲۶ (۲۳/۶)	۵۱-۶۰
۴۱ (۳۷/۳)	۶۱-۷۰
۳۳ (۳۰)	۷۱-۸۰
۳ (۲/۸)	۸۱-۹۰

بحث

استافیلکوک ها یکی از گروه های باکتریایی هستند که مقاومت بالایی نسبت به گروه های مختلف آنتی بیوتیکی دارند. بررسی مقاومت های آنتی بیوتیکی کمک می کند تا از پخش سویه های مقاوم جلوگیری کرده و همچنین از انتقال سویه های مقاوم

میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله های جداسازی شده از نمونه های زخم ۶۵/۲ درصد، در نمونه های آسپریه تراشه ۴۸/۵ درصد و در نمونه های خون ۳۵/۴ درصد مشاهده گردید. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که در ایزوله های جداسازی شده از آبse صفاق و مایع مغزی نخاعی هیچ گونه مقاومتی نسبت به آنتی بیوتیک های ونکوماسین و نیتروفورانتوئین وجود ندارند. بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های استافیلکوکوس اورئوس جداسازی شده از نمونه های بالینی نشان می دهد که بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در بیماران با سنین بالا می باشدند. بر این اساس ارتباط معنی داری از نظر شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی با جنسیت و سن بیماران وجود دارد. بیشترین شرکت کنندگان در این مطالعه زنان بستری در بخش ارتوپدی بیمارستان های استان اصفهان بودند. اطلاعات مربوط به فراوانی سن بیماران مورد مطالعه در جدول شماره ۵ ارائه شده است.

جنوبی، ۳۵ درصد در آمریکای لاتین، ۳۲ درصد در آمریکا، ۲۶ درصد در اروپا و ۲۳ درصد در استرالیا گزارش کرد. این مساله بیان کننده سیر صعودی در افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در سراسر جهان می‌باشد [۱۴]. بر خلاف مطالعه حاضر، در مطالعه Boyce و همکارانش در سال ۱۹۹۱، ۵۷ درصد از سویه‌های است-افیلکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین بودند که این میزان سطح مقاومت وسیع تری را نشان می‌دهد. گزارشات مشابهی توسط Totsuka و همکارانش در سال ۱۹۹۹، و همچنین Yamazaki و همکارانش در سال ۲۰۰۸ به چشم می‌خورد. در مطالعه‌ای که در سال‌های ۲۰۰۱ تا ۲۰۰۲ در هلند انجام شد، ۴۲ درصد از سویه‌های استافیلکوکوس اورئوس MRSA تشخیص داده شده‌اند. مطالعه‌ای مشابه در آمریکا در سال‌های ۲۰۰۴ تا ۲۰۰۵ شیوع MRSA در مناطق مختلف را بین ۱۰ تا ۴۹ درصد گزارش کده است [۱۵-۱۷]. تحقیق جامعی که در انگلستان بین سال‌های ۱۹۹۱ تا ۲۰۰۱ صورت گرفته است نشان می‌دهد که عفونت‌های ناشی از MRSA و شیوع آن در سال‌های اخیر تقریباً سال به سال در حال افزایش است؛ به طوری که در سال‌های ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۱ میزان شیوع MRSA در بین عفونت‌های ناشی از استافیلکوکوس اورئوس از حدود ۳۰ درصد به حدود ۴۵ درصد افزایش یافته است. در مطالعه‌ای مشابه در هلند، سویه‌های استافیلکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین ۴۲ درصد گزارش شدند که نسبت به مطالعه حاضر روند افزایشی بالایی داشته است [۱۸]. مطالعات مشابهی در کشورمان نیز انجام گردیده که نشان می‌دهد شیوع استافیلکوکوس اورئوس‌های مقاوم به متی سیلین وابستگی زیادی به تأثیه جغرافیایی و الگوهای زیستی دارد. بنابراین بررسی تغییر الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در دوره‌های مشخص می‌تواند بسیار کارآمد باشد. در مطالعاتی که توسط صدری و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام گرفت میزان مقاومت آنتی بیوتیکی به تتراسایکلین با روش انتشار دیسک ۴۲ درصد گزارش شد؛ این در حالی است که مطالعات انجام شده در تحقیق حاضر میزان مقاومت به تتراسایکلین multiplex-PCR ۸۲/۴ درصد با روش انتشار از دیسک و در روش PCR از نظر حضور ژن *tet M* ۷۸ درصد و به واسطه حضور ژن *tet K* ۲۱ درصد گزارش گردیده است [۱۹]. در مطالعه حاضر مقاومت به متی سیلین ۹۰/۲ درصد با روش انتشار از دیسک اما در روش مولکولی جهت تعیین فراوانی ژن *mec A* ۹۳ درصد گزارش گردید که نسبت به سایر مطالعات روند افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی را نشان می‌دهد. با توجه به فراوانی نمونه‌های زخم در مطالعه حاضر در ۷۵/۲ درصد از ایزوله‌های جدا شده از زخم‌های عفونی حضور ژن *mec A* به چشم می‌خورد که این میزان

جلوگیری کنیم. آگاهی از میزان توسعه مقاومت به چند آنتی بیوتیک (MDR) و همچنین عوامل موثر در ایجاد مقاومت‌های چندگانه، می‌تواند به عنوان روش موثری در جلوگیری از شیوع چنین ایزوله‌های عفونی به حساب آید. یافته‌های این مطالعه نشان‌دهنده حساسیت بالا و دقت روش‌های مولکولی از جمله روش multiplex-PCR در تعیین و ردیابی ژن‌های کد کننده مقاومت آنتی بیوتیکی است. در این پژوهش تمامی ایزوله‌ها مقاومت چند دارویی داشتند. بدین ترتیب استفاده از روش‌های استاندارد و دقیق در آزمایشگاه‌های بالینی می‌تواند کمک شایانی در انتخاب آنتی بیوتیک‌های موثر و مفید داشته باشد. در غیر این صورت با استفاده از آنتی بیوتیک‌های غیر ضروری در سویه‌های حساس، با افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی رو برو خواهیم شد. نظر به این که سویه‌های مقاوم به متی سیلین تنها به آنتی بیوتیک و نکومایسین حساسیت دارند، مصرف بی‌رویه این آنتی بیوتیک در درمان مبتلایان به عفونت‌های MRSA می‌تواند عواقب خطرونکی به دنبال داشته باشد. این مساله می‌تواند ناشی از عوامل ویژه‌ای مثل آلودگی وسائل مورد استفاده در حین جراحی، آلوده بودن محیط‌های بیمارستانی و همچنین استفاده بیش از حد و به کارگیری نامناسب آنتی بیوتیک‌ها باشد. مطالعه حاضر نشان می‌دهد که ظهور سویه‌های استافیلکوکوس اورئوس مقاوم به چند آنتی بیوتیک، در بیماران بستری در بیمارستان‌های استان اصفهان، به ویژه بیماران بخش‌های مراقبت‌های ویژه و ارتوپدی در حال افزایش می‌باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که بیش از نیمی از ایزوله‌های استافیلکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در سال ۱۹۶۱ از ایزوله‌ها ژن *mec* قابل جداسازی بود. اولین بار شیوع استافیلکوکوس اورئوس‌های مقاوم به متی سیلین در سال ۱۹۸۰ مورد بررسی قرار گرفت و از سال ۱۹۸۰ به بعد در سراسر جهان گسترش یافت. به دنبال آن در سال ۱۹۹۱ در انگلستان تحقیق جامعی انجام شد که شیوع MRSA ها را رو به گسترش اعلام کرد [۱۲]. مطالعات انجام شده در آمریکا طی سال ۱۹۹۹ نشان-دهنده شیوع MRSA در نمونه‌های کشت خون به میزان ۲۶/۱ درصد بود که نسبت به آمار ارائه شده در سال ۱۹۹۶ به میزان ۱۸/۱ درصد افزایش داشته است. با توجه به افزایش روز افزون این عفونت در سال‌های ۲۰۰۴ تا ۲۰۰۵ شیوع MRSA در برخی مناطق آمریکا حدود ۴۹ درصد گزارش شد. هم‌چنین، سویه‌های MRSA در مطالعه‌ای مشابه در آمریکا از ۲/۹ درصد در سال ۱۹۷۵ به ۲۹ درصد در سال ۱۹۹۱ رسیده است [۱۳، ۱۲]. مطالعات انجام شده طی سال‌های ۱۹۹۷ تا ۱۹۹۹ در بیمارستان‌های سراسر دنیا، شیوع MRSA در ژاپن را ۶۷ درصد، ۴۰ درصد در آمریکای

کمترین میزان مقاومت در ایزوله‌های جداسازی شده از زخم بوده است، در حالی که در مطالعه حاضر میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های جدا شده از لوله تراشه ۴۸/۵ درصد و فراوانی ایزوله‌های واحد ژن *AmpC* درصد می‌باشد [۲۲].

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان‌دهنده مقاومت بالای سویه‌های استافیلکوکوس اورئوس نسبت به متی‌سیلین، ترازاکلین، پنی‌سیلین و اریتروماسین دارد. با توجه به افزایش روزافزون مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، باید از تجویز بدون نسخه و استفاده غیر ضروری از آنتی‌بیوتیک‌ها خودداری نمود.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد بوده که بدین‌وسیله از همکاری حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد و پرسنل محترم بیمارستان‌های مورد مطالعه قدردانی می‌گردد.

References:

- [1] Hamdan– Partida A, Sainz-Espunes T, Bustos-Martinez J. Characterization and persistence of *Staphylococcus aureus* strains isolated from the anterior nares and throats of healthy carriers in a Mexican community. *J Clin Microbiol* 2010; 48(5): 1701-5.
- [2] Shittu AO, Okon K, Adesida S, Oyedara O, Witte W, Strommenger B, et al. Antibiotic resistance and molecular epidemiology of *staphylococcus aureus* in Nigeria. *BMC Microbiol* 2011; 11: 92.
- [3] Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest* 2003; 111(9): 1265-73.
- [4] Espinal MA, Laszlo A, Simonsen L, Boulahbal F, Kim SJ, Reniero A, et al. Global trends in resistance to anti tuberculosis drugs. *J New Engl Med* 2001; 344(17): 1294-303.
- [5] Rubin RJ, Harrington CA, Poon A, Dietrich K, Greene JA, Moiduddin A. The economic impact of *Staphylococcus aureus* infection in New York City hospitals. *Emerg Infect Dis* 1999; 5(1): 9-17.
- [6] Oliveira DC, Lencastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the *mec* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(7): 2155-61.
- [7] Robinson DA, Enright MC. Multilocus sequence typing and the evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Mic Infect* 2004; 10(2): 92-7.
- [8] Baba T, Takeuchi F, Kuroda M, Yuzawa H, Aoki K, Oguchi A, et al. Genomic and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *Lancet* 2002; 359(9320): 1819-27.
- [9] Brown DFJ, Edward DI, Hawkey PM. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Antimic Chem* 2005; 56: 1000-118.
- [10] Cui L, Ma X, Sato K, Okuma K, Tenover FC, Mamizuka EM, et al. Cell wall thickening is a common feature of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2003; 41(1): 5-14.
- [11] Rahimi-Alang S, Asmar M, Cheraghali F, Yazarlou S, Amini A, Shakeri F, et al. Frequency of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in health care workers in Gorgan. *J Zahedan Res Med Sci* 2010; 13(1): 17-22.
- [12] Diekema DJ, Pfaffer MA, Schmitz FZ. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region. *Clin Infect Dis* 2005; 18(8): 41-5.

- [13] Brown FJ, Edward D, Hawkey P, Morrison D, Ridgway G, Towner K. Guideline for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2005; 65(13): 410-5.
- [14] Tiemersma EW, Bronzwaer SL, Lyytikäinen O, Degener JE, Schrijnemakers P, Bruinsma N, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999-2002. *J Emerg Infect Dis* 2004; 10(9): 1627-34.
- [15] Boyce JM, Papa E, Dickenson R, Medeiros AA. Failure of routine susceptibility tests to detect imipenem resistance among strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35(7): 1495-7.
- [16] Totsuka K, Shiseki M, Kikuchi K, Matsui Y. Combined effects of vancomycin and imipenem against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in vitro and in vivo. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44(4): 455-60.
- [17] Yamazaki H, Koyama N, Omura S, Tomoda H. Structure-activity relationships of stemphones, potentiators of imipenem activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antibiot (Tokyo)* 2008; 61(7): 426-41.
- [18] Francois V, Timothy N, Mark C, Gerard L, Graeme R, Helen H, et al. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Carrying Panton-Valentine Leukocidin Genes: Worldwide Emergence. *Emerg Infect Dis* (2003); 9(8): 978-84.
- [19] Saderi H, Owlia P, Shahrbanooie R. Vancomycin resistance among clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Arch Iranian Med* 2005; 8(2): 100-3.
- [20] Akpaka PE, Kissoon S, Swanston WH, Monteil M. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Trinidad & Tobago. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2006; 3(5): 16-23.
- [21] Fatholahzadeh B, Emaneini M, Gilbert G, Udo E, Aligholi M, Modarressi MH, et al. *Staphylococcal* cassette chromosome *mec* (*SCCmec*) analysis and antimicrobial susceptibility patterns of methicillin -resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolats. *Microb Drug Resist* 2008; 14(3): 217-20.
- [22] KianiNia M, Hasani A, Hasani A, Sharifi Y, Mirza Ahmadi S, Deghani L. Investigation and identification of the nuc, femB *mecA* and *aac* (6')/aph (2")-Iagenes in the *Staphylococcus aureus* isolated from Northwest Iran by multiplex PCR method. *J Tabriz Uni Med Sci* 2013; 35(1): 68-73.