

## 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 *استافیلوکوکوس اورئوس* جداسازی شده از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌های استان اصفهان طی سال ۱۳۹۳

فهمیه نوربخش<sup>۱</sup>، حسن ممتاز<sup>۲\*</sup>

## خلاصه:

**سابقه و هدف:** *استافیلوکوکوس اورئوس* یکی از پاتوژن‌های مهم در ایجاد بیماری و مرگ و میر در ایران و جهان می‌باشد. مطالعه حاضر با هدف ردیابی ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و بررسی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های جداسازی شده از عفونت‌های بیمارستانی در بیماران مراجعه کننده به مراکز درمانی استان اصفهان انجام گرفت. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه مقطعی-توصیفی در طول یک سال ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جداسازی شده از بیماران مراجعه کننده به مراکز 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)، اریترومايسين (۸۹/۷ درصد)، سیپروفلوکساسین (۸۹/۵ درصد)، پنی‌سیلین (۸۸ درصد)، تتراسایکلین (۸۲/۴ درصد)، جنتامایسین (۷۵/۸ درصد) و کمترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های نیتروفورانتوئین (۲ درصد) و ونکومايسين (۱۰ درصد) وجود دارد. بررسی‌های مولکولی نشان‌دهنده حضور ۹۳ درصدی ژن *mec A* هم‌چنین فراوانی ۷۸ درصدی ژن *tet M* و ۲۱ درصدی حضور ژن *tet K* در ایزوله‌ها بود. **نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از این مطالعه در مقایسه با نتایج سایر مطالعات، بیان‌گر افزایش میزان مقاومت دارویی در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** *استافیلوکوکوس اورئوس*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، عفونت‌های بیمارستانی

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

## مقدمه

### *استافیلوکوکوس اورئوس (Staphylococcus aureus)*

به‌عنوان یک پاتوژن 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. *استافیلوکوکوس اورئوس* در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی و جامعه طیف گسترده‌ای را در بر می‌گیرد [۲]. این عفونت‌ها شامل عفونت‌های بافت نرم، عفونت‌های پوستی، کورک، کفگیرک، اندوکاردیت، استئومیلیت و مسمومیت‌های غذایی می‌باشد [۳].

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 *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) به‌عنوان 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 فنوتیپی در ایزوله‌های بالینی بیمارستان‌های استان اصفهان مورد سنجش قرار گرفت. هدف از این مطالعه ارزیابی فنوتیپی مقاومت دارویی و هم‌چنین بررسی حضور ژن‌های *mec A*، *tet K*، *tet M* در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جداسازی شده از نمونه‌های عفونی بیماران مراجعه کننده به مراکز درمانی استان اصفهان می‌باشد. ژن *mec 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 بتالاکتام‌ها می‌شود [۶]. بیماران آلوده به سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*

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

<sup>۲</sup> دانشیار میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

### \* نشانی نویسنده مسئول:

شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، گروه میکروبیولوژی

تلفن: ۰۳۸۳۳۳۶۱۰۴۵ | دورنویس: ۰۳۸۳۳۳۶۱۰۶۴

پست الکترونیک: hamomtaz@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۱۹ | تاریخ پذیرش نهایی: ۹۴/۶/۲۵

بر روی محیط بلاد آگار (به مدت یک شبانه روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد) جهت تهیه سوسپانسیون معادل لوله نیم مک فارلند استفاده شد. آزمایش آنتی‌بیوگرام برای دیسک‌های آنتی‌بیوتیک (پادتن طب) شامل دیسک‌های با غلظت استاندارد ونکومايسين (۳۰ µg)، سبیروفلوکساسین (۵ µg)، تری متوپریم (۲/۵ µg)، تتراسایکلین (۱۰ µg)، جنتامایسین (۱۰ µg)، اریترومايسين (۱۵ µg)، متی‌سیلین (۵ µg)، کانامایسین (۳۰ µg)، کلرامفنیکل (۳۰ µg)، پنی‌سیلین (۱۰ µg)، ایمپنم (۱۰ µg)، سفازولین (۳۰ µg)، سفالوتین (۳۰ µg)، سفتریاکسون (۳۰ µg)، کلیندامایسین (۲ µg)، آزیترومایسین (۱۵ µg)، موپروسین (۳۰ µg)، ریفاپیسین (۵ µg)، نیتروفورانتوئین (۳۰ µg) و سفکسیم (۳۰ µg) انجام گردید. جهت تعیین مقاومت دارویی سویه‌ها نسبت به متی‌سیلین از روش MIC (Minimum Inhibitory Concentration) با روش میکرودايلوشن استفاده گردید [۹]. این روش با تهیه رقت‌های متوالی از آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین به همراه غلظت ثابتی از سوسپانسیون باکتری (با کدورت نیم مک فارلند) در میکروپلیت انجام گرفت. پس از مرحله گرماگذاری به مدت ۲۴ ساعت چگالی نوری در هر رقت بررسی شد. کمترین غلظتی از آنتی‌بیوتیک که مانع از رشد باکتری می‌گردد به عنوان MIC آنتی‌بیوتیک در نظر گرفته شد [۱۰]. تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و حساسیت ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی مطابق با دستورالعمل NCCLS (Committee for Clinical Laboratory Standards) و بر اساس قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها به صوت حساس، نیمه حساس و مقاوم بیان شد [۱۲]. سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC3391 و ATCC25923 به عنوان سوش کنترل در این تحقیق استفاده گردید [۱۱]. پس از استخراج DNA ژنومی از سویه‌های باکتریایی توسط کیت استخراج DNA (سیناژن ایران) انجام شد و جهت ارزیابی ژن‌های مزبور از پرایمرهای موجود در جدول شماره ۱ و از روش multiplex-PCR استفاده شد.

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

### مواد و روش‌ها

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

جدول شماره ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی ژن‌های *tet M*، *tet K* و *mec A* در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس

اندازه محصول	توالی نوکلئوتیدی (۳-۵)	ژن
532 (bp)	F:AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC R:AGTTCCTGCAGTACCGGATTTGC	<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 *استافیلوکوکوس 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 *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا

شده از بخش‌های بستری بیماران مورد مطالعه

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

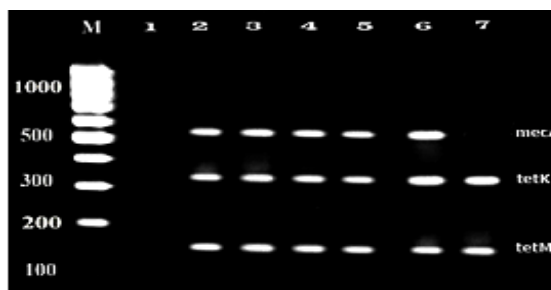
بر اساس الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نمونه‌ها، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به متی‌سیلین، سیپروفلوکساسین، اریترومیسین، پنی‌سیلین، تتراسایکلین و جنتامایسین مشاهده شد. کمترین میزان مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین و نیتروفورانتوئین بود. کلیه ایزوله‌های بالینی مورد مطالعه دارای مقاومت آنتی-بیوتیکی چندگانه بودند. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه‌های بالینی استان اصفهان در جدول شماره ۴ ارائه شده است.

جدول شماره ۳- فراوانی حضور *استافیلوکوکوس اورئوس* در

نمونه‌های اخذ شده از عفونت‌های بالینی در انسان

نوع بیمار (بستری/سرپایی)	محل جداسازی نمونه	تعداد و درصد ایزوله
بستری: ۴۰ سرپایی: ۹	زخم	۴۹(۴۴/۵)
بستری: ۲ سرپایی: ۱	آبسه	۳(۲/۷)
بستری: ۲۵	آسپیره تراشه	۲۵(۲۲/۷)
بستری: ۱۶ سرپایی: ۱	خون	۱۷(۱۵/۴)
بستری: ۴	کاتتر	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 سانتی‌گراد، به مدت ۶ دقیقه؛ مرحله واسرشت شامل ۳۳ سیکل تکراری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۴۰ ثانیه؛ مرحله اتصال پرایمر با دمای ۵۷ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۱ دقیقه؛ مرحله تکثیر با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۷۵ ثانیه؛ و تکثیر نهایی با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۶ دقیقه. محصولات حاصل از PCR به ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی اتیدیوم برآمید منتقل و الکتروفورز گردید. اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از آمار توصیفی و با به‌کارگیری آزمون‌های مجذور کای و دقیق فیشر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج حاصل از تکثیر ژن‌های *tet M* *tet K* *mec A* در تصویر شماره ۱ ارائه شده است.



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

## نتایج

در مجموع ۱۱۰ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* از نمونه‌های زخم، آبسه، آسپیره تراشه، خون، کاتتر، زخم بستر، مایع مفصلی، مایع مغزی نخاعی و کاتتر جداسازی شد. جهت انجام کشت میکروبی از محیط‌های پایه و اختصاصی باکتری شناسی و هم‌چنین تست‌های بیوشیمیایی ویژه *استافیلوکوکوس اورئوس* استفاده گردید. فراوانی ایزوله‌های *استافیلوکوکوس 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 *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های اخذ شده از زخم‌های جراحی و عفونت‌های جلدی بعد

جدول شماره ۴- درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی

آنتی‌بیوتیک	تعداد و درصد نمونه‌های مقاوم	تعداد و درصد نمونه‌های نیمه حساس	تعداد و درصد نمونه‌های حساس
سفنکسیم	۳۹ (۴۳)	۱۵/۴۵ (۱۷)	۴۵/۵۵ (۵۰)
ریفامپیسین	۱۹ (۲۱)	۲۹ (۳۲)	۵۲ (۵۷)
موپروسین	۲۸/۲ (۳۱)	۳۷ (۴۱)	۳۴/۸ (۳۸)
آزیترومایسین	۶۵ (۷۱)	۱۰ (۱۱)	۲۵ (۲۸)
کلیندامایسین	۵۴ (۵۹)	۳۴/۲ (۳۸)	۱۱/۸ (۱۳)
سفتراکسون	۶۴/۹ (۷۱)	۲۱ (۲۳)	۱۴/۱ (۱۶)
سفالوتین	۲۵ (۲۸)	۲۷ (۲۹)	۴۸ (۵۳)
سفالوزلین	۶۵/۴۵ (۷۲)	۲۰/۹ (۲۳)	۱۳/۶۵ (۱۵)
ایمی‌پنم	۶۴/۶۴ (۷۱)	۱۹ (۲۱)	۱۶/۳۶ (۱۸)
پنی‌سیلین	۸۸ (۹۷)	۷ (۸)	۵ (۵)
کلرامفنیکل	۴۳ (۴۷)	۱۳ (۱۵)	۴۴ (۴۸)
کانامایسین	۵۴/۳ (۶۰)	۳۲ (۳۵)	۱۳/۷ (۱۵)
متی‌سیلین	۹۰/۲ (۹۹)	۷/۸ (۸)	۲ (۳)
اریترومایسین	۸۹/۷ (۹۸)	۸/۶ (۱۰)	۱/۷ (۲)
جتتامایسین	۷۵/۸ (۸۳)	۱۲ (۱۳)	۱۲/۲ (۱۴)
تتراسایکلین	۸۲/۴ (۹۰)	۵/۷ (۷)	۱۱/۹ (۱۳)
تری‌متوپریم	۲۹ (۳۲)	۳۴ (۳۷)	۳۷ (۴۱)
سیپروفلوکساسین	۸۹/۵ (۹۹)	۴/۶ (۵)	۵/۹ (۶)
آمپی‌سیلین	۶۳ (۷۰)	۲۱/۲ (۲۳)	۱۵/۸ (۱۷)
ونکومایسین	۱۰ (۱۱)	۳/۱ (۴)	۸۶/۹ (۹۵)
نیتروفوراتونین	۲ (۳)	۵/۵ (۵)	۹۲/۵ (۱۰۲)

جدول شماره ۵- تعداد و درصد بیماران مورد مطالعه در گروه‌های

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

## بحث

استافیلوکوک‌ها یکی از گروه‌های باکتریایی هستند که مقاومت بالایی نسبت به گروه‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی دارند. بررسی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی کمک می‌کند تا از پخش سویه‌های مقاوم جلوگیری کرده و همچنین از انتقال سویه‌های مقاوم

میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های جداسازی شده از نمونه‌های زخم ۶۵/۲ درصد، در نمونه‌های آسپیره تراشه ۴۸/۵ درصد و در نمونه‌های خون ۳۵/۴ درصد مشاهده گردید. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که در ایزوله‌های جداسازی شده از آبسه صفاق و مایع مغزی نخاعی هیچ‌گونه مقاومتی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین و نیتروفوراتونین وجود ندارند. بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های استافیلو-کوکوس اورئوس جداسازی شده از نمونه‌های بالینی نشان می‌دهد که بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بیماران با سنین بالا می‌باشند. بر این اساس ارتباط معنی‌داری از نظر شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی با جنسیت و سن بیماران وجود دارد. بیشترین شرکت‌کنندگان در این مطالعه زنان بستری در بخش ارتوپدی بیمارستان‌های 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 بیان‌کننده سیر صعودی در افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سراسر جهان می‌باشد [۱۴]. بر خلاف مطالعه حاضر، در مطالعه Boyce و همکارانش در سال ۱۹۹۱، ۵۷ درصد از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین بودند که این میزان سطح مقاومت وسیع‌تری 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 استافیلوکوکوس 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 کرده است [۱۷-۱۵]. 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 استافیلوکوکوس اورئوس از حدود ۳۰ درصد به حدود ۴۵ درصد افزایش یافته است. در مطالعه‌ای مشابه در هلند، سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین 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 استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین وابستگی زیادی به ناحیه جغرافیایی و الگوهای زیستی دارد. بنابراین بررسی تغییر الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در دوره‌های مشخص می‌تواند بسیار کارآمد باشد. در مطالعاتی که توسط صدری و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام گرفت میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی 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 ۸۲/۴ درصد با روش انتشار از دیسک و در روش multiplex-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 متی‌سیلین 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 آنتی‌بیوتیکی را نشان می‌دهد. با توجه به فراوانی نمونه‌های زخم در مطالعه حاضر در ۷۵/۲ درصد از ایزوله‌های جدا شده از زخم - های عفونی حضور ژن *mec A* به چشم می‌خورد که این میزان

جلوگیری کنیم. آگاهی از میزان توسعه مقاومت به چند آنتی‌بیوتیک (MDR) و هم‌چنین عوامل موثر در ایجاد مقاومت‌های چندگانه، می‌تواند به‌عنوان 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 کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی 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 آنتی‌بیوتیک‌های موثر و مفید داشته باشد. در غیر این صورت با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های غیر ضروری در سویه‌های حساس، با افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی روبرو خواهیم شد. نظر به این‌که سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین تنها به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین حساسیت دارند، مصرف بی‌رویه این آنتی‌بیوتیک در درمان مبتلایان به عفونت‌های MRSA می‌تواند عواقب خطرناکی به دنبال داشته باشد. این مساله می‌تواند ناشی از عوامل ویژه‌ای مثل آلودگی وسایل مورد استفاده در حین جراحی، آلوده بودن محیط‌های بیمارستانی و هم‌چنین استفاده بیش از حد و به کارگیری نامناسب آنتی‌بیوتیک‌ها باشد. مطالعه حاضر نشان می‌دهد که ظهور سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک، در بیماران بستری در بیمارستان‌های استان اصفهان، به‌ویژه بیماران بخش‌های مراقبت‌های ویژه و ارتوپدی در حال افزایش می‌باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که بیش از نیمی از ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین هستند. در ۹۳ درصد از ایزوله‌ها ژن *mec* قابل جداسازی بود. اولین بار شیوع استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین در سال ۱۹۶۱ 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 نشان‌دهنده 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 واجد ژن *mec A* ۵۲/۳ درصد می‌باشد [۲۲].

#### نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان‌دهنده مقاومت بالای سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به متی‌سیلین، تتراسایکلین، پنی‌سیلین و اریترومایسین دارد. با توجه به افزایش روز افزون 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 بدین وسیله 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 Nigera. *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

مشابه با مطالعه‌ی Akpaka در سال ۲۰۰۶ می‌باشد که بیشترین موارد از نمونه‌های عفونی جداسازی شده واجد ژن *mec A* بودند [۲۰]. در مطالعاتی که در کشورمان انجام شده است نیز میزان مقاومت در نقاط مختلف از جمله تهران، همدان، شیراز، بابل و یا سایر نقاط تفاوت‌هایی داشته است که به آن اشاره می‌شود. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۱ در شهر تهران انجام شد شیوع MRSA ۳۳/۴ درصد گزارش گردید. در بررسی مشابه در سال ۲۰۰۶ در بابل شیوع MRSA ۴۲ درصد گزارش شده است. این نتایج به این نکته اشاره دارد که شیوع سویه‌های MRSA با گذشت زمان نه تنها در جهان بلکه در کشور ما نیز رو به افزایش است. همراه با سیر صعودی این میزان مقاومت در سال ۲۰۰۹ در شهر تهران MRSA ۳۹ درصد گزارش شد، در حالی که میزان مقاوت به متی‌سیلین در سال ۲۰۰۵ در همدان ۵۰ درصد گزارش شده بود [۲۱]. در مطالعه انجام شده توسط کیانی‌نیا در سال ۲۰۱۳ میزان مقاومت به ونکومایسین ۱۲ درصد گزارش گردیده که در مقایسه با مطالعه حاضر که میزان مقاومت به این آنتی‌بیوتیک ۱۰ درصد می‌باشد، قابل توجه می‌باشد. در مطالعه کیانی‌نیا و همکاران بیشترین میزان مقاومت در ایزوله‌های جدا شده از لوله تراشه و

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 Antimicrob 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, Pfaller 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 PantonValentine 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.