Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 12, Number 3 (July - August)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Identification and Characterization of *Staphylococcus aureus* Methicillin and Vancomycin Resistance from Patients in Sari and Ghaemshahr Injuries and Burn Hospitals in 2015

Mohammad Movagharnezhad, **Mohammad Reza Khataminezhad**

Department of Microbiology, Faculty of Biology, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran

Article Information

Article history:
Received: 2016/01/28
Accepted: 2016/10/16
Available online: 2018/10/11

Article Subject:
Antibiotic Resistance

IJMM 2018; 12(3): 160-168

Corresponding author:

Mohammad Movagharnezhad
Department of Microbiology, Faculty of Biology, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran
Tel: 09112283835
Email:
mohammadmovagharnezhad@yahoo.com

Use your device to scan and read the article online

Abstract

Background and Aims: *Staphylococcus aureus* is the most common and important nosocomial pathogens and due to potential virulence and increasing resistance to anti-microbial medicines, they become one of the most important health problems through worldwide. So the aim of this study was identification and characterization of *S. aureus* resistant to Methicillin and Vancomycin from patients hospitalized in Razi hospital of Ghaemshahr and Shahid Zare of Sari and characteristics antibiotics susceptibility pattern in 2015.

Materials and Methods: In this cross-sectional descriptive study, 134 strains of *S. aureus* from hospitalized patients in infectious diseases and burns were collected randomly from the hospital laboratory and transferred to the research laboratory. The specimens were incubated in Blood Agar medium for 24 hours at 37 ° C. The colonies were examined for morphology, biochemical properties, resistance to polymixin and sensitivity to Novobiocin. For isolates, antibiotic test was performed using disk diffusion method and PCR detection was performed. PCR results were approved for sequencing.

Results: 100 out of 134 samples were positive for *S. aureus*; 51 samples were methicillin-resistant and 2 samples were resistant to all of the antibiotics and Vancomycin with vanA and vanB resistance gene.

Conclusions: Determination of new resistance factor in nosocomial infection is one of the major challenges in treating these infections. 25.37% of the samples, weren't *S. aureus*. This study showed 51% prevalence of methicillin-resistance.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Resistance, Methicillin, Vancomycin

Copyright © 2018 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Movagharnezhad M, khataminezhad M R. Identification and Characterization of Staphylococcus Aureus Methicillin and Vancomycin Resistance From Patients in Sari and Ghaemshahr Injuries and Burn Hospitals in 2015. Iran J Med Microbiol. 2018; 12 (3) :160-168

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۱۲ – شماره ۳ – مرداد-شهریور ۱۳۹۷

Journal homepage: www.ijmm.ir

شناسایی و بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین و وانکومایسین در بیماران بستری در بخش‌های عفونی، سوانح و سوختگی بیمارستان‌های ساری و قائم‌شهر در سال ۱۳۹۴

محمد موقرنژاد، محمدرضا خاتمی‌نژاد

گروه میکروبیولوژی، دانشکدهٔ علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچهٔ مقاله

دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۰۸

پذیرش:۱۳۹۵/۰۷/۲۵

انتشار آنلاین: ۱۳۹۷/۰۷/۱۹

موضوع:

مقاوم پادزیستی (آنتی بیوتیکی)

IJMM1397;12(3): 160-168

نویسندهٔ مسئول:

محمد موقرنژاد

گروه میکروبیولوژی، دانشکدهٔ علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران

تلفن: ۰۹۱۱۲۲۸۳۸۳۵

پست الکترونیک:

Mohammadmovagharnezhad@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: *استافیلوکوکوس اورئوس* از مهم‌ترین و شایع‌ترین پاتوژن‌های بیمارستانی است و به‌دلیل قدرت بیماری‌زایی بالقوه و مقاومت روزافزون در برابر داروهای ضدمیکروبی به یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی در جهان تبدیل شده است. هدف از این مطالعه جداسازی *استافیلوکوکوس اورئوس*‌های مقاوم به متی‌سیلین و وانکومایسین از بیماران بستری در بخش‌های عفونی و سوانح و سوختگی بیمارستان‌های رازی قائم‌شهر و شهید زارع ساری و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتکی آنها در سال ۱۳۹۴ است.

مواد و روش کار: در این مطالعهٔ توصیفی ـ مقطعی، تعداد ۱۳۴ نمونه کشت *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌دست‌آمده از بیماران بستری در بخش‌های عفونی و سوانح و سوختگی، به روش تصادفی ساده از آزمایشگاه بیمارستان تهیه و به آزمایشگاه تحقیقاتی منتقل شد. نمونه‌ها در محیط بلاد آگار به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سلسیوس انکوبه شد. کلنی‌ها از نظر مورفولوژی، خصوصیات بیوشیمیایی و مقاومت به پلی‌میکسین و حساسیت به نووبیوسین بررسی شدند. برای جدایه‌ها تست آنتی‌بیوگرام به روش دیسک دیفیوژن انجام شد و شناسایی به روش PCR صورت گرفت. نتایج PCR برای تأیید سکانس شد.

یافته‌ها: از مجموع ۱۳۴ نمونه کشت به‌دست آمده از آزمایشگاه بیمارستان، تعداد ۱۰۰ نمونه به‌عنوان *استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی* شدند که تعداد ۵۱ نمونه مقاوم به متی‌سیلین و ۲ نمونه مقاوم به تمام آنتی‌بیوتیک‌ها و وانکومایسین و واجد ژن‌های *vanA* و *vanB* بودند. ۴۵/۰۹ درصد سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین از بخش مراقبت‌های ویژه به‌دست آمد.

نتیجه‌گیری: شناسایی مقاومت به آنتی‌بیوتیک در عوامل عفونی بیمارستانی یک چالش اصلی در درمان عفونت‌ها است. ۲۵/۳۷ درصد نمونه‌های به‌دست‌آمده از بیمارستان، *استافیلوکوکوس اورئوس* نبودند. این مطالعه همچنین شیوع ۵۱درصدی مقاومت به متی‌سیلین را نشان داد.

کلمات کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس*، مقاومت، متی سیلین، وانکومایسین

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفادهٔ علمی از این مقاله برای مجلهٔ میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس کوکسی گرم مثبت است که در زیر میکروسکوپ، ظاهری شبیه به خوشهٔ انگور دارد (۱) و کلنی‌های نسبتاً درشت زردرنگ در محیط کشت تولید می‌کند (۲). *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌طور معمول از پوست و بینی افراد سالم جدا می‌شود؛ اما ممکن است از دیگر نواحی آناتومیک بدن مثل دهان و دستگاه گوارش نیز جدا شود (۳). این باکتری یکی از عوامل عمدهٔ عفونت‌های بیمارستانی، عفونت پوست و بافت نرم، عفونت‌های داخل عروقی، پنومونی، آرتریت سپتیک، اندوکاردیت، استئومیلیت، عفونت جسم خارجی و سپسیس است (۵-۴).

این باکتری می‌تواند به‌صورت مؤثر ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک را از محیط دریافت کند. در دهۀ ۱۹۶۰ بلافاصله پس از معرفی متی‌سیلین، سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به این دارو ظاهر شدند و *استافیلوکوکوس اورئوس*‌های مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*:

MRSA) نام گرفتند (۶). عواقب عفونت با *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین بسیار خطرناک است؛ به‌ویژه اینکه درمان دارویی مؤثری نیز در این زمینه وجود ندارد (۸-۷). از ابتدای دهۀ ۱۹۹۰ میلادی سویه‌های MRSA در مراکز بهداشتی و درمانی شایع شدند. سویه‌هایی که در مراکز بهداشتی ـ درمانی و بیمارستان‌ها بودند HA_MRSA (Health care-associated MRSA) نامیده شدند؛ به‌تدریج تعدادی از عفونت‌های MRSA در میان افرادی که تماسی با مراکز بهداشتی درمانی نداشتند نیز گزارش شد و این سویه‌های جدید MRSA را CA_MRSA (Community-associated MRSA) نام‌گذاری کردند، سویه‌های CA_MRSA به‌سرعت در میان جمعیت زیادی از مردم دنیا منتشر شد و بیمارانی که هیچ‌گونه تماسی با مراکز بهداشتی درمانی نداشتند را درگیر کرد (۱۰- ۹). با ظهور سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین *استافیلوکوکوس اورئوس* در دهۀ ۱۹۶۰ و شیوع آن در دو دهه بعد، وانکومایسین به‌عنوان اولین خط درمان عفونت‌های ناشی از این سویه‌ها استفاده شد (۱۱،۱۲). لذا مقاومت کامل به وانکومایسین در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌علت محدودیت‌های مربوط به استفاده از داروهای جایگزین، اهمیتی جهانی پیدا کرده است (۱۳،۱۴). مقاومت به وانکومایسین نیز در سال‌های اخیر گزارش شده است.

تحقیقات نشان داده است که عفونت‌های بیمارستانی ناشی از ارگانیسم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در مقایسه با سویه‌های حساس، مرگ‌ومیر بیشتر بیماران را به‌همراه داشته است. این مرگ‌ومیرها در اثر بروز مقاومت *استافیلوکوکوس اورئوس* به متی‌سیلین نیز در حال افزایش است. با توجه به اهمیت سویه‌های مقاوم و ارزیابی میزان گسترش آن بین بیماران بستری در بیمارستان‌های شهرهای ساری و قائم شهر و اهمیت آگاهی از چگونگی الگوی حساسیت و مقاومت عوامل عفونی شایع در بیمارستان‌ها، این مطالعه به شناسایی و تشخیص *استافیلوکوکوس اورئوس* از طریق تکنیک PCR پرداخت و سپس الگوی مقاومت *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین و وانکومایسین را از بیماران بستری در بخش‌های عفونی، سوانح و سوختگی بیمارستان های ساری و قائم شهر در سال ۱۳۹۴ پایش کرد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری و بررسی خصوصیات بیوشیمیایی

در این مطالعۀ توصیفی ـ مقطعی تعداد ۱۳۴ نمونه کشت مشکوک به *استافیلوکوکوس اورئوس* از نمونه‌های خون، ادرار و زخم در فاصلۀ زمانی اسفند ۱۳۹۳ الی شهریور ۱۳۹۴ از بیمارستان‌های رازی قائم‌شهر و شهید زارع ساری تهیه شد. ایزوله‌ها از آزمایشگاه تشخیص طبی بیمارستان به‌دست آمده و در گزارش آزمایشگاه به‌عنوان *استافیلوکوکوس اورئوس* تشخیص داده شده بود. نمونه‌ها در شرایط استریل به آزمایشگاه تحقیقاتی منتقل شد. هیچ‌گونه شرط جنسیتی یا سنی در جمع‌آوری نمونه‌ها وجود نداشت. جمع‌آوری و کشت نمونه‌ها به‌صورت تصادفی ساده و از بیماران بستری در بخش‌های عفونی و سوانح و سوختگی بیمارستان‌های رازی قائم‌شهر و شهید زارع ساری صورت پذیرفت.

نمونه‌های به‌دست آمده در مرحلۀ اول با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی (رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، کواگولاز، مانیتول، Dnase) تعیین هویت شدند. از دیسک‌های تشخیصی پلی‌میکسین، نووبیوسین (۵ mcg) شرکت پادتن طب ایران نیز برای بررسی استفاده شد. سپس برای تشخیص قطعی از تکنیک PCR استفاده شد.

استخراج DNA

استخراج DNA ژنومی ایزوله‌ها به کمک کیت تهیه‌شده از شرکت پویاژن آزما (تهران، ایران) مطابق دستورالعمل کیت استخراج شد. DNA استخراج‌شده از طریق لود کردن ۵ میکرولیتر از DNA روی ژل آگاروز ۱ درصد به‌صورت کمّی بررسی شد. همچنین DNA استخراج‌شده به نسبت ۱/۴۹ رقیق شده و از طریق دستگاه بیوفتومتر در طول موج ۲۶۰ نانومتر غلظت آن محاسبه شد.

واکنش زنجیره‌ای پلی مراز تشخیصی با ژن *uidA*

با توجه به مطالعات موجود و بررسی توالی ژنی *استافیلوکوکوس اورئوس*، برای طراحی یک پرایمر تشخیصی، ارزیابی شد. درنهایت ژن uidA *استافیلوکوکوس اورئوس* انتخاب و یک جفت پرایمر ۲۱ جفت بازی طراحی شد. توالی پرایمر Forward 5’-GCGATTGATGGTGATACGGTT-3’ و توالی پرایمر Reverse 5’-AGCCAACCTTGACGACTAAGC-3’ است.

واکنش زنجیره‌ای پلیمر به‌منظور شناسایی دقیق نمونه‌ها *استافیلوکوکوس اورئوس* با غلظت نهایی مواد شامل ۰/۵ میکرولیتر dNTP (10mM)، ۱ میکرولیتر $MgCl_2$ (0/5mM)، ۲/۵ میکرولیتر PCR Buffer(10X)، ۱ میکرولیتر از primer_F(10µM)، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Smar Taq(U/µL) و ۱ میکرولیتر DNA الگو (100ng/ul) استفاده شد. حجم نهایی با افزودن ۱۷/۸ میکرولیتر به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. برنامۀ دمایی شامل ۵ دقیقه واسرشت‌سازی اولیه در ۹۴ درجۀ سلسیوس، و ۳۵ چرخه شامل ۱

دقیقه واسرشت‌سازی در ۹۴ درجهٔ سلسیوس، ۳۰ ثانیه مرحلهٔ اتصال پرایمرها در ۶۰ درجهٔ سلسیوس و ۴۵ ثانیه مرحلهٔ طویل‌سازی در ۷۲ درجهٔ سلسیوس انجام شد. درنهایت مرحلهٔ طویل‌سازی نهایی در ۷۲ درجهٔ سلسیوس به‌مدت ده دقیقه صورت گرفت.

بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی

ارزیابی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به روش دیسک دیفیوژن انجام شد. آنتی‌بیوتیک‌های استفاده‌شده در این مطالعه به‌ترتیب شامل پنی‌سیلین (۱۰ واحد)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، متی‌سیلین (۵ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، وانکومایسین (۳۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، سفوکسیتین (۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، تری متو پریم (۵ میکروگرم)، نووبیوسین (۵ میکروگرم)، پلی میکسین (۳۰۰ واحد) و کانامایسین (۳۰ میکروگرم) بودند. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک از شرکت پادتن طب تهیه شده و کلیهٔ آزمایش‌ها، سه بار تکرار شدند. از سویهٔ *S aureus* ATCC 25923 که از شرکت پادتن طب (تهران، ایران) تهیه شده بود، به‌عنوان کنترل کیفی دیسک‌ها و نمونهٔ کنترل مثبت استفاده شد.

تکثیر ژن‌های *vanA*، *vanB* و *vanC* ژنومی با روش PCR

برای بررسی ژنوتیپی مقاومت به وانکومایسین، تکثیر ژن‌های *vanA*، *vanB*، *vanC* *استافیلوکوکوس اورئوس* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی که به‌ترتیب در زیر توالی آن آمده است، انجام شد:

جدول ۱. توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای استفاده‌شده برای ردیابی مولکولی ژن‌های مقاومت به وانکومایسین

نام ژن	توالی پرایمر ۳-۵	طول قطعه
vanA	ATGAATAGAATAAAAGTTGCAATAC CCCCTTTAACGCTAATACGAT	۱۰۳۲ جفت باز
vanB	TTGCTCAGAGGAGCATGAC TAACGCAATACGATCAAGCG	۶۴۷ جفت باز
vanC	ATGGATTGGTACTGGTAT TAGCGGGAGTGTCTGGTAA	۸۱۵ جفت باز

جدول ۲. برنامهٔ دمایی برای تشخیص ژن‌های مقاومت به وانکومایسین

Primers	PCR conditions					
	Initial denaturation	Denaturation	Annealing	Extension	Final extension	Cycle Number
vanA	5min at 94°C	1min at 94°C	1min at 52°C	1min at 72°C	6min at 72°C	35
vanB	5min at 94°C	1min at 94°C	30sec at 50°C	45sec at 72°C	7min at 72°C	35
vanC	5min at 94°C	1min at 94°C	62°C 30sec at	30sec at 72°C	5min at 72°C	35

برای انجام PCR و تکثیر این ژن‌ها از شرایط مختلف دمایی و ترکیب مسترمیکس استفاده شد. برای ژن هر سه ژن مسترمیکس با غلظت نهایی مواد شامل ۰/۵ میکرولیتر dNTP (10mM)، ۱ میکرولیتر MgCl2 (3mM)، ۲/۵ میکرولیتر PCR Buffer(10X)، ۱ میکرولیتر از Primer (10 pM)، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Smar Taq(U/µL) و ۱ میکرولیتر DNA الگو (100 ng/ul) استفاده شد. به‌منظور تکثیر ژن *vanC* از غلظت $MgCl_2$ ۱/۵ mM استفاده شد. درنهایت برای تأیید صحت محصولات PCR ایجادشده، این قطعات تکثیرشده تعیین توالی شدند.

آنالیز آماری

نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخهٔ ۱۶ (Inc, Chicago, IL, USA) آنالیز آماری شدند. برای مقایسهٔ توزیع فراوانی ژن‌ها در نمونه‌های کشت از آزمون مربع کای استفاده و در هر مورد *P*-value محاسبه شد. برای این مطالعه مقدار *P*کمتر از ۵٪ از لحاظ آماری معنی‌دار تلقی شد.

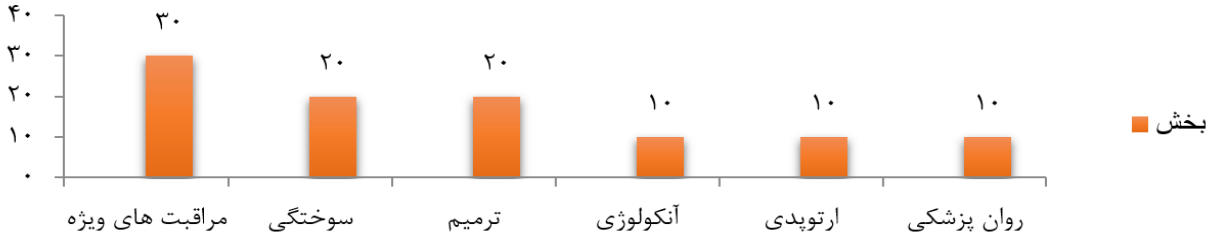
یافته‌ها

نتایج توزیع نمونه‌ها

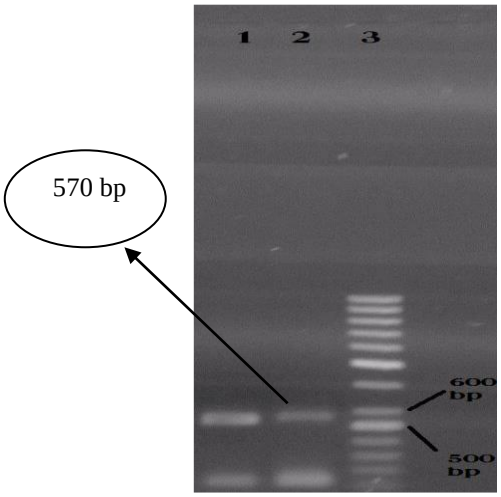
از مجموع ۱۳۴ نمونهٔ ارسالی به آزمایشگاه تحقیقاتی که به‌صورت فنوتیپی *استافیلوکوکوس اورئوس* تشخیص داده شده بودند، ۱۰۰ نمونه به‌صورت قطعی با تکنیک PCR، استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی شد. ۵۵ نمونه (۵۵ درصد) از موارد مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* از مردان و ۴۵ نمونه (۴۵ درصد) از زنان جدا شد. از نظر توزیع سنی ۶۶ درصد افراد زیر ۳۰ سال و ۳۴ درصد بالای ۳۰ سال داشتند. بیشترین موارد عفونت و همچنین بیشترین نمونه‌های مقاومت به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها از بخش مراقبت‌های ویژه بود (نمودار ۱).

نتایج تشخیص مولکولی گونهٔ *استافیلوکوکوس اورئوس*

الکتروفورز محصولات ناشی از تکثیر ژن *uidA* با روش PCR انجام شد. هر نمونه روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز شد که مطابق شکل ۱، باند اختصاصی حدود bp ۵۷۰ به‌دست آمد و نشان‌دهندهٔ *استافیلوکوکوس اورئوس* بودن نمونه‌ها است. نتایج سکانس نیز این موضوع را تأیید کرد.



نمودار ۱. نتایج کشت‌های مثبت براساس بخشی که نمونه‌گیری در آن انجام شده است (کل نمونه‌های مثبت ۱۰۰ ایزوله)



شکل ۱. الکتروفورز محصول PCR ژن *uidA* در شکل مشخص است. چاهک شماره ۱: نمونهٔ کنترل مثبت *S. aureus ATCC 25923* و چاهک شماره ۲: یک نمونهٔ بالینی را نشان می‌دهد.

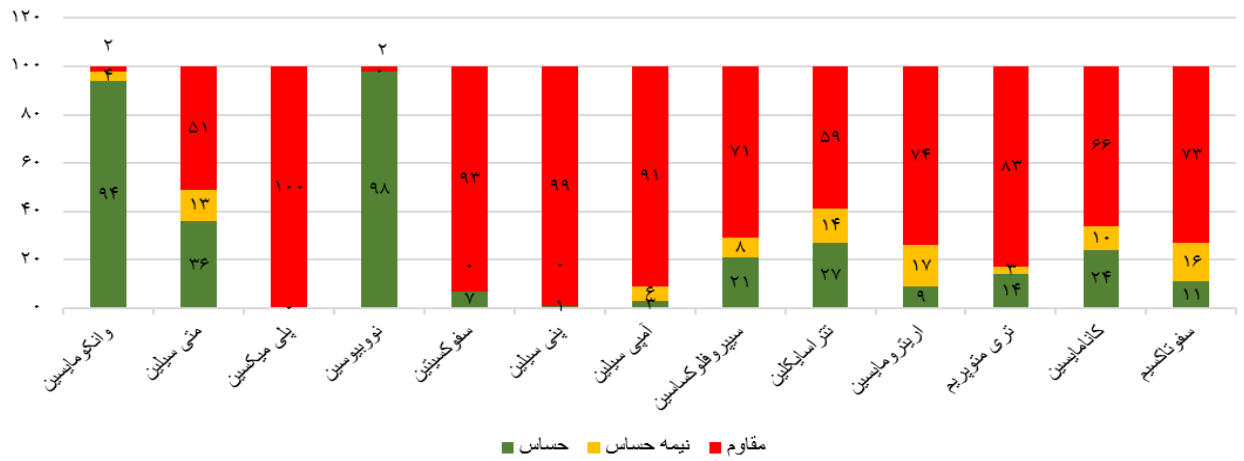
نتایج مقاومت آنتی‌بیوتیکی

از بین ۱۰۰ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* تمام نمونه‌ها به پلی‌میکسین مقاومت کامل نشان دادند. همچنین فقط یک مورد حساس به پنی‌سیلین گزارش شد. تمام نمونه‌ها به آنتی‌بیوتیک نووبیوسین حساس بودند. نمونه‌های متعددی از مقاومت حد واسط نسبت به اریترومایسین گزارش شد. اطلاعات کامل مربوط به مقاومت آنتی‌بیوتیکی در نمودار ۲ مشخص شده است (نمودار ۲).

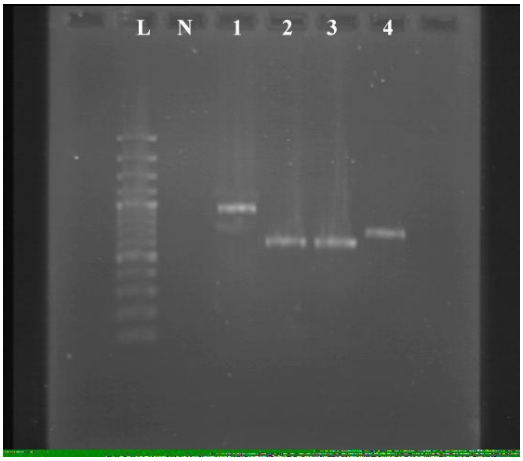
همچنین با توجه به اهمیت سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین، ۵۱ سویه به تفکیک منشأ، ارزیابی شدند. ۲۳ سویه از بخش مراقبت‌های ویژه، ۱۲ سویه از بخش سوختگی و ترمیم، ۸ سویه از انکولوژی و ۴ سویه از بخش ارتوپدی جداسازی شد. بقیهٔ نمونه‌ها مقاوم به متی‌سیلین (۴ نمونه) از سایر بخش‌ها به‌دست آمد.

نتایج ردیابی مولکولی ژن *vanA*، *vanB*، *vanC*

با بررسی به‌دست آمده از ردیابی ۱۰۰ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* مشخص شد که ۱/۰۲ درصد (۲ نمونه) نمونهٔ مقاوم به متی‌سیلین واجد ژن *vanA* و ۱ نمونه واجد ژن *vanB* بودند و هیچ نمونه‌ای واجد ژن *vanC* گزارش نشد. همچنین نمونه‌ای که واجد ژن *vanA* بود، *vanB* هم داشت. شکل ۲، نمونهٔ الکتروفورز از باندهای مذکور را نشان می‌دهد. تمامی نتایج برای تأیید توالی محصول، بعد از استفاده از کیت تخلیص محصول PCR از ژل، برای شرکت بایونیر کره برای سکانس ارسال شدند. همچنین یک نمونه کنترل مثبت از *vanC* نیز در آزمایش قرار داده شد تا صحت آزمایش تشخیص *vanC* تأیید شود.



نمودار ۲. نتیجهٔ تست آنتی‌بیوگرام باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* جداشده از نمونه‌های بالینی، بیشترین حساسیت به نووبیوسین و بیشترین مقاومت به پلی میکسین در نمودار مشخص است.همچنین با توجه به اهمیت سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین، ۵۱ سویه به تفکیک منشأ، ارزیابی شدند. ۲۳ سویه از بخش مراقبت‌های ویژه، ۱۲ سویه از بخش سوختگی و ترمیم، ۸ سویه از انکولوژی و ۴ سویه از بخش ارتوپدی جداسازی شد. بقیهٔ نمونه‌ها مقاوم به متی‌سیلین (۴ نمونه) از سایر بخش‌ها به‌دست آمد.



شکل ۲. الکتروفورز محصولات ژن‌های *vanA*، *vanB* و *vanC* بر ژل آگارز یک درصد. چاهک L: لدر ۱۰۰ جفت بازی فرمنتاز، چاهک N کنترل منفی، چاهک ۱: قطعهٔ ۱۰۳۴ جفت بازی *vanA*، چاهک ۲ و ۳: قطعهٔ ۶۴۷ جفت بازی ژن *vanB* و چاهک ۴: قطعهٔ ۸۱۵ جفت بازی *vanC*

بحث و نتیجه‌گیری

استافیلوکوکوس اورئوس طی چند دههٔ گذشته تبدیل به یکی از شایع‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی شده است (۱۵). یکی از عوامل موفقیت در گسترش شیوع عفونت در این باکتری کسب فاکتورهای مقاومت است؛ تا حدی که با ورود هر آنتی‌بیوتیک جدید سویه‌های مقاوم باکتری به‌سرعت ظهور یافته و درمان عفونت‌های حاصل از این باکتری را با دشواری مواجه کرده است (۱۶). مقاومت آنتی‌بیوتیکی این سویه، یکی از مهم‌ترین تهدیدهای میکروبی بیمارستانی به‌شمار می‌رود.

تاکنون مطالعات مختلفی دربارهٔ *استافیلوکوکوس اورئوس*های مقاوم نسبت به متی‌سیلین و وانکومایسین در نقاط مختلف جهان انجام شده است. مطالعهٔ Grammatico-Guillon و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که بین میزان مقاومت *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین آلودگی افراد به *استافیلوکوکوس اورئوس* رابطهٔ معنی‌داری وجود ندارد. در مطالعهٔ حاضر نیز رابطهٔ معنی‌داری میان سن مبتلایان و ابتلا به عفونت‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌دست نیامد (۱۷).

Sancak و همکاران (۲۰۰۵) در بیمارستان مرکزی ترکیه سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* را نسبت به وانکومایسین

حساس گزارش کردند (۱۸). در پژوهش حاضر نیز ۲ سویهٔ مقاوم به وانکومایسین گزارش شد که به تمام آنتی‌بیوتیک‌های مطالعه‌شده مقاومت کامل نشان دادند. مقاومت آنتی‌بیوتیکی این سویه‌ها به وانکومایسین از نظر فنوتیپی و ژنوتیپی ارزیابی شده و ۹۸ درصد نمونه‌ها به وانکومایسین حساس بودند. ژن‌های مقاومت *vanA* در ۲ نمونه و *vanB* در یک نمونه مشاهده شد و مقاومت فنوتیپی و ژنوتیپی در این دوسویه گزارش شد. وجود مقاومت به دوسویه، اهمیت کنترل شیوع عفونت در این بیمارستان‌ها را نشان می‌دهد. وجود دوسویه مقاوم، برای انجام اقدامات پیش‌گیرانهٔ لازم، به آزمایشگاه بیمارستان اطلاع‌رسانی شد.

در ایران نیز Teyhoo و همکاران (۲۰۱۱) در بیمارستان شهدای تبریز تعداد ۱۴۵۴ نمونه از بیماران مختلف بستری‌شده در این بیمارستان را بررسی کردند که در طول این دوره از ۵۴۶ مورد کشت مثبت تعداد ۱۰۰ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* از نمونه‌های اخذشده از بیماران جدا شد که فراوانی آن در کل مراجعین ۶/۸۷ درصد و در موارد کشت مثبت ۱۸/۳ درصد بود و همین‌طور ۸۳ درصد آنها نسبت به متی‌سیلین مقاوم بودند (۱۹). در مطالعهٔ حاضر ۵۱ درصد نمونه‌ها به متی‌سیلین مقاومت داشتند که اکثر سویه‌ها (۴۵/۰۹ درصد) از بخش مراقبت‌های ویژه جداسازی شدند.

Darabi و همکاران (۲۰۱۰) طی مدت شش ماه، در ۹ بیمارستان مربوط به ارتش در تهران و از بینی بیماران و کارکنان و نیز زخم‌های چرکین بیماران ۶۳۲ نمونه جمع‌آوری کردند. پس از انجام تست‌های افتراقی ۱۴۶ سویه از باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شد که ۴۸ سویهٔ مشترک در ۱۹ کلاستر جداگانه شناسایی شدند که ۹۰ درصد سویه‌ها مقاوم به متی‌سیلین بودند (۲۰). در مطالعهٔ حاضر اما ۵۱ درصد نمونه‌ها به متی‌سیلین مقاوم بودند. این تفاوت می‌تواند به‌دلیل جامعهٔ مطالعه‌شده و یا تفاوت در تعداد نمونه‌گیری باشد.

Afrough و همکاران (۲۰۱۲) در بیمارستان‌های دانشگاه علوم پزشکی تهران از مجموع ۱۵۷ بیمار مطالعه‌شده ۴۹ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا کردند که شیوع سویهٔ *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین ۴۲/۸ درصد (۲۱ سویه) بود که بیشترین حساسیت نیز مربوط به وانکومایسین (۱۰۰ درصد) بود (۲۱). در مطالعهٔ حاضر نیز بیشترین حساسیت نسبت به وانکومایسین گزارش شد. اما وجود ۲ سویهٔ واجد ژن‌های *vanA* و *vanB* می‌تواند، نشان از گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی *استافیلوکوکوس اورئوس* در شمال کشور باشد.

Mansouri Ghiasi (۲۰۱۳) نیز مطالعه‌ای در زمینهٔ شیوع و مقاومت آنتی‌بیوتیکی *استافیلوکوکوس اورئوس*های جداشده از بینی کارکنان بخش جراحی بیمارستان شهید رجائی تنکابن انجام داد (۲۲). در این مطالعه طیف سویه های مقاوم *استافیلوکوکوس اورئوس* به بعضی از آنتی بیوتیک ها مشابه مطالعه حاضر بود ولی افزایش هشداردهنده‌ای در میزان MRSA و موارد غیرحساس (مقاومت حد واسط) به وانکومایسین گزارش شد. در مطالعهٔ حاضر نیز دو نمونهٔ مقاوم مشاهده شد. میزان اثربخشی پنی سیلین، آموکسی سیلین و آمپی سیلین بر نمونه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مطابق مطالعه حاضر بود. درنهایت مطالعهٔ حاضر نشان داد که الگوی مصرف آنتی‌بیوتیکی در راستای درمان عفونت‌های ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* موجب بروز مقاومت بالاتر از ۹۰ درصد به سفوکسیتین، آموکسی سیلین و پنی‌سیلین شده است. در حالی که حساسیت به وانکومایسین ، در تعداد بالایی از نمونه‌ها همچنان وجود داشت، نیمی از نمونه‌ها به متی‌سیلین مقاوم بودند که دو نمونه در آنها مقاوم به وانکومایسین گزارش شدند. این دو مورد زنگ خطری است برای مدیریت عفونت‌های بیمارستانی در بیمارستان‌های ساری و قائم‌شهر. همچنین با استفاده از روش PCR مشخص شد که ۳۴ نمونه از ۱۳۴ نمونه که از سوی آزمایشگاه تشخیص طبی، *استافیلوکوکوس اورئوس* تشخیص داده شده بودند، *استافیلوکوکوس اورئوس* نبودند. این مسئله اهمیت تست‌های مولکولی در تشخیص سریع باکتری‌های بیماری‌زا را نشان می‌دهد.

سپاسگزاری

این مطالعه، حاصل پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن است. از تمامی عزیزانی که ما را در انجام این پژوهش یاری فرمودند، تشکر و قدردانی می‌کنیم.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Yoshida K, Ekstedt RD. Relation of mucoid growth of Staphylococcus aureus to clumping factor reaction, morphology in serum-soft agar, and virulence. J Bacteriol 1968;96(4):902-8.

2. Owens WE, Nickerson SC. Morphologic study of Staphylococcus aureus L-form, reverting, and intermediate colonies in situ. J Clin Microbiol 1989;27(6):1382-6.

3. Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG. Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clin Microbiol Rev 2015;28(3):603-61. https://doi.org/10.1128/CMR.00134-14 PMID:26016486 PMCID:PMC4451395

4. Holland TL, Arnold C, Fowler VG. Clinical management of Staphylococcus aureus bacteremia: a review. JAMA 2014;312(13):1330-41. https://doi.org/10.1001/jama.2014.9743 PMID:25268440 PMCid:PMC4263314.

5. Vaez H, Ghazi Saeidi K, Moradi A, Tabaraei A, Khodabakhshi B, Bazouri M. Antibiotic resistance pattern of methicillin resistant Staphylococcus aureus isolated from Health-educational centers of Gorgan, Iran, 2008-2009. Iran J Med Microbiol 2010;3(4):31-6.

6. Davis JS, Sud A, O'Sullivan MV, Robinson JO, Ferguson PE, Foo H. Combination of Vancomycin and beta-Lactam Therapy for Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Bacteremia: A Pilot Multicenter Randomized Controlled Trial. Clin Infect Dis 2016;62(2):173-80. https://doi.org/10.1093/cid/civ808 PMID:26349552.

7. Leiva Pelaez O, Stojanov M ,Zayas Tamayo AM, Barreras Garcia G, Gonzalez Aleman M, Martinez Ceballos L. Molecular epidemiology of methicillin-resistant Staphylococcus aureus from 4 Cuban hospitals. Diagn Microbiol Infect Dis 2015;81(1):1-3. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2014.10.012 PMID:25467174

8. Luini M, Cremonesi P, Magro G , Bianchini V, Minozzi G, Castiglioni B. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) is associated with low within-herd prevalence of intra-mammary infections in dairy cows: Genotyping of isolates. Vet Microbiol 2015;178(3-4):270-4. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.05.010 PMID:26009302

9. Kahanov L, Kim YK, Eberman L, Dannelly K, Kaur H, Ramalinga A. Staphylococcus aureus and community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus (CA-MRSA) in and around therapeutic whirlpools in college athletic training rooms. J Athl Train 2015;50(4):432-7. https://doi.org/10.4085/1062-6050-49.3.96 PMID:25710853 PMCID:PMC4560002

10. Kumari VH, Babu AR, Srinivas D, Siddaiah N, Somanna S. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus central nervous system infections--Analysis and outcome. Br J Neurosurg 2015;29(3):413-8. https://doi.org/10.3109/02688697.2015.1006168 PMID:25688639

11. Holmes NE, Tong SY, Davis JS, van Hal SJ. Treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus: vancomycin and beyond. Semin Respir Crit Care Med 2015;36(1):17-30. https://doi.org/10.1055/s-0034-1397040 PMID:25643268

12. Inomata S, Yano H, Tokuda K, Kanamori H, Endo S, Ishizawa C. Microbiological and molecular epidemiological analyses of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus at a tertiary care hospital in Japan. J Infect Chemother 2015;21(10):729-36. https://doi.org/10.1016/j.jiac.2015.07.005 PMID:26271590

13. Cazares-Dominguez V, Cruz-Cordova A, Ochoa SA, Escalona G, Arellano-Galindo J, Rodriguez-Leviz A. Vancomycin tolerant, methicillin-resistant Staphylococcus aureus reveals the effects of vancomycin on cell wall thickening. PLoS One 2015;10(3): 0118791-16. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118791 PMID:25793280 PMCID:PMC4368777

14. Soong G, Paulino F, Wachtel S, Parker D, Wickersham M, Zhang D. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus adaptation to human keratinocytes. MBio 2015;6(2):e00289-15. https://doi.org/10.1128/mBio.00289-15 PMID:25900653 PMCID:PMC4453558

15. Ahmad MK, Asrar A. Prevalence of methicillin resistant Staphylococcus aureus in pyogenic community and hospital acquired skin and soft tissues infections. J Pak Med Assoc 2014;64(8):892-5.

16. Kim CJ, Kim HB, Oh MD, Kim Y, Kim A, Oh SH. The burden of nosocomial staphylococcus aureus bloodstream infection in South Korea: a prospective hospital-based nationwide study. BMC Infect Dis 2014;14:590. https://doi.org/10.1186/s12879-014-0590-4 PMID:25891200 PMCid:PMC4247623

17. Grammatico-Guillon L, Thiolet JM ,Bernillon P, Coignard B, Khoshnood B, Desenclos JC. Relationship between the prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection and indicators of nosocomial infection control measures: a population-based study in French hospitals. Infect Control Hosp Epidemiol 2009;30(9):861-9. https://doi.org/10.1086/599774 PMID:19637957

18. Sancak 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(3):519-23. https://doi.org/10.1093/jac/dki272 PMID:16046461

19. Teyhoo M, Mobin H, Mozafari N A, Moadab S R, Sedigh Bayan KH, Mones Rast SH. The Prevalence of Toxin Shock Syndrome oxin (TSST-1) Producing Clinical Isolates of Staphylococcus aureus StrainsIsolated from Shohada Hospital in Tabriz, Iran. J Med Lab 2011;5(1):38-44.

20. Darabi N, Habibollahi H, Shahbabian K. Molecular Epidemiology of Staphylococcus aureus Isolated from patients and personnel in Army hospital. Ann Mil Health Sci Res 2010;8(3):193-9.

21. Afrough P, Pourmand MR, Zeinalinia N, Yousefi M, Abdossamadi Z, Bagherzadeh Yazdchi S. Molecular Typing of Clinical and Nasal Carriage Isolates of Staphylococcus Aureus by spa Gene Patterns. J Mazandaran Univ Med Sci 2012;22(94):28-34.

22. Mansouri A, Nasrollahi A, Hashemi M, Rajabzadeh P, Jahangirizad M. Prevalence and antibiotic resistance of Staphylococcus aureus isolated from the nose of Tonekabon Shahid Rajaee Hospital Surgery Department. J Lab Sci. 2013;7(1):35-39.