مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۲ شماره ۲ تابستان ۱۳۸۷، صفحات ۱۳- ۹

گزارش یک مورد جداسازی *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* مقاوم به متی سیلین از پرسنل بخش های درمانی

زهرا عبدالصمدی[۱] ، محمدرضا پورمند[۱،۲*] ، مجتبی معماریانی[۱] ، فاطمه فردصانعی[۱]

۱) گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲) گروه زیست فناوری پزشکی ، دانشکده فناوری های نوین پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی تهران
نویسنده رابط : محمدرضا پورمند، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
تلفن : ۸۸۹۵۴۹۱۰ mpourmand@tums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله : ۸۷/۹/۵ تاریخ پذیرش مقاله : ۸۷/۱۱/۲۶

چکیده:

زمینه واهداف : *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* ، یک باکتری قابل انتقال از حیوان به انسان (زئونوز) است. این باکتری در میان افراد سالمی که تماس مکرر با حیوان دارند به ندرت یافت می شود. چند گزارش موردی از ایجاد بیماری تهاجمی در حیوان و انسان گزارش شده است. هدف از این پژوهش ، شناسایی استافیلوکوکوس های کواگولاز مثبت غیر گونه اورئوس در پرسنل بخش های بیمارستانی به دلیل اهمیت نقش حدواسط آنها در انتقال عفونت به بیماران بود.

روش بررسی : در این مطالعه که در تابستان و پاییز سال ۱۳۸۷ انجام گرفت از تعداد ۱۵۰ نفر از پرسنل بیمارستان های دانشگاه علوم پزشکی تهران (بیمارستان های شریعتی ، سینا و مرکز طبی کودکان)، با استفاده از سوآب استریل نمونه گیری از قسمت قدامی بینی انجام و جهت انجام آزمایش های میکروب شناسی و بیوشیمیایی به آزمایشگاه ارسال شد. همچنین آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *mecA* انجام گرفت.

یافته ها : در مجموع از ۱۵۰ نفر پرسنل مورد مطالعه ، ۳۸ (۲۵،۳٪) ایزوله استافیلوکوک کوآگولاز مثبت جدا گردید. از این تعداد ، یک ایزوله متعلق به گونه *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* و سایر ایزوله ها صرفا *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. همچنین وجود ژن *mecA* با استفاده از PCR در ایزوله فوق ، مورد تایید قرار گرفت.

نتیجه گیری : انتقال *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* از حیوان به انسان، می تواند منجر به گسترش عفونت های غیر شایع و افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در گونه های مشابه در استافیلوکوک شود. بنابراین، پرسنل بخش های مختلف بیمارستانی خصوصا" افرادی که با بیماران بخش های مراقبت های ویژه در ارتباط هستند ، حتما" باید از نظر وضعیت حامل بودن ، مورد بررسی قرار گیرند.

کلید واژه ها: *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* ، مقاومت به متی سیلین ، پرسنل بیمارستانی

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه :

استافیلوکوکوس اینترمدیوس (*S.intermedius*)،فلورطبیعی پوست حیوانات گوشتخوار(carnivora) مانند سگ سانان است. این باکتری می تواند حیوانات اهلی را نیز به شکل گذرا کلونیزه نماید (۱) . مطالعات مولکولی نشان می دهند که *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* از نظرژنتیکی شباهت بسیاری به *استافیلوکوکوس اورئوس و اپیدرمیدیس* دارد. بنابراین ، واژه اینترمدیوس را برای آن برگزیده اند (۲).

استافیلوکوکوس اینترمدیوس در میان افراد سالمی که دارای تماس مکرر با حیوانات می باشند به ندرت شود (۳). البته این میزان در افراد مرتبط با سگ های مبتلا به پیودرم شدید، بسیار بیشتر است (۴). *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* عنوان یک پاتوژن مهاجم ، از زخم های ایجاد شده در اثر گازگرفتگی سگ و گربه جدا شده است (۵). همچنین مواردی از پنومونی (۶)، باکتریمی وتیت (۸) نیز در انسان گزارش شده است. با این وجود، شیوع بسیار پائین *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* را می توان به تشخیص نادرست آن نسبت داد. زیرا این باکتری همانند *استافیلوکوکوس اورئوس* از نظر تست کواگولاز و نوکلئاز مثبت می باشد(۹) .

از سوی دیگر ممکن است ایزوله های مقاوم به آنتی بیوتیک *استافیلوکوکوس اینترمدیوس*، پس از انتقال به میزبان انسانی ، ژن های مقاومت را به سایر گونه های استافیلوکوک منتقل نمایند. در این رابطه ، انتقال ژنوتیک ایزوله های *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* مقاوم به متی سیلین (MRSI) ، از اهمیت ویژه ای برخوردار است. زیرا آنها می توانند موجب انتقال ژن *mecA* به *استافیلوکوکوس اورئوس* شوند. بنابراین، به عنوان منبعی برای گسترش سویه های مقاوم به متی سیلین مطرح می باشند (۴). هدف از این پژوهش ، شناسایی استافیلوکوک های کواگولاز مثبت غیر از گونه اورئوس در پرسنل بیمارستانی بود. زیرا این ایزوله ها، معمولاً با *استافیلوکوکوس اورئوس* اشتباه گرفته می شوند. همچنین می توانند نقش مهمی در ایجاد عفونت های غیرشایع داشته باشند.

مواد و روش ها:

این مطالعه از ابتدای تابستان تا پایان پائیز سال ۱۳۸۷ ، بر روی ۱۵۰ نفر از پرسنل بخش های درمانی بیمارستان های شریعتی ، سینا و مرکز طبی کودکان انجام شد. پس از جمع آوری اطلاعات از پرسنل و کسب رضایت از آنها، توسط سوآب استریل از ناحیه قدامی بینی نمونه گیری انجام و بر روی بلاد آگار حاوی خون گوسفند کشت داده شد. پس از انجام رنگ آمیزی گرم ، آزمایش کاتالاز، مانیتول و DNase ؛ آزمون کواگولاز به روش اسلایدی و لوله ای انجام گرفت. سپس آزمون استوئین (VP)، تست β- گالاکتوزیداز، تخمیر قند تره هالوز و سوکروز و حساسیت نسبت به پلی میکسین (300 U) در مورد استافیلوکوکوس های کواگولاز مثبت انجام شد. همچنین از آنتی بیوتیک های ونکومایسین، سیپروفلوکساسین ، اریترومایسین ، کلیندامایسین ، ریفامپین ، کوتریموکسازول ، پنی سیلین ، اگزاسیلین ، تتراسایکیلین و سفازولین (MAST,انگلستان) برای انجام تست آنتی بیوگرام به روش دیسک دیفیوژن استفاده گردید (۱۰).

ژنوم ایزوله مربوطه با استفاده از کیت Bioneer (South Korea) طبق دستورالعمل شرکت سازنده ، استخراج شد. البته پیش از استخراج، ۱ µl لیزواستافین به سوسپانسیون افزوده گردید. DNA استخراج شده به همراه پرایمرهای اختصاصی ژن *mecA* شامل :

F: mecA1 (5 ' -GAA ATG ACT GAA CGT CCG AT- 3')

R: mecA2 (5'- GCG ATC AAT GTT ACC G A G -3)

در واکنش PCR، وارد گردید. مخلوط واکنش شامل ۳٤،۲ میکرولیتر آب مقطر ۵ میکرولیتر بافر X ۱۰، ۳ میکرولیتر کلرید منیزیم ، ۲ میکرولیتر dNTP ، ۱،۵ میکرولیتر از هر پرایمر و ۰،۳ میکرولیتر آنزیم Taq DNA poly nerase و ۲،۵ میکرولیتر DNA الگو بود. برنامه PCR شامل دناتوراسیون اولیه در ۹۴ درجه به مدت ۳ دقیقه و به دنبال آن، سیکل اصلی با ۳۰ بار تکرار شامل دناتوراسیون در ۹۴ درجه به مدت ۱ ثانیه ، اتصال پرایمر در ۵۵ درجه به مدت ۳۰ ثانیه و تکثیر در ۷۲ درجه به مدت ۹۰ ثانیه انجام شد. محصول واکنش در ژل آگارز ۱٪ الکتروفورز و پس از رنگ آمیزی در زیر نور UV جهت مشاهده قطعه با طول ۱۵۰ bp، مورد بررسی قرار گرفت.

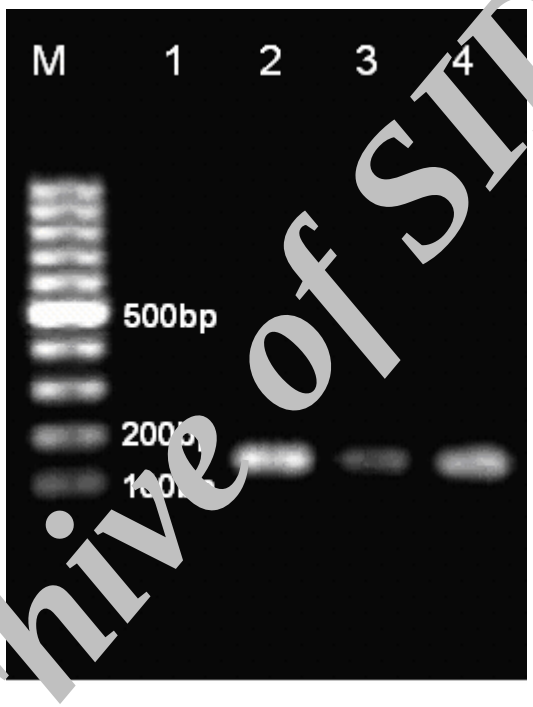
یافته ها:

در مجموع از ۱۵۰ نفر پرسنل مورد مطالعه ، ۳۸(۲۵،۳٪) ایزوله استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت جدا گردید. از این تعداد ، یک ایزوله متعلق به گونه *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* و سایر ایزوله ها

Archive of SID

www.SID.ir

صرفا" *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. ایزوله مربوطه به ونکومایسین ، سیپروفلوکساسین ، اریترومایسین ، کلیندامایسین ، ریفامپین ، کوتریموکسازول حساس اما به پنی سیلین ، اگزاسیلین ، تتراسایکلین و سفازولین مقاوم بود. همچنین نتایج حاصل از PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن ***mecA*** *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد که ژن فوق در ایزوله مربوطه وجود دارد (شکل ۱).



شکل ۱: بررسی حضور ژن ***mecA*** در *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* با استفاده از PCR.. M : سایز مارکر 100 bp(Fermentase) ، ۱:کنترل منفی (آب مقطر) ،۲: کنترل مثبت (سویه COL) ،۳: ایزوله بالینی ***S.aureus*** دارای ژن ***mecA*** ، ۴: ایزوله ***S.intermedius*** جدا شده از بینی و دارای ژن ***mecA***

Archive of SID

www.SID.ir

بحث:

استافیلوکوکوس اینترمدیوس به دو شکل همزیست (commensal) و مهاجم در حیواناتی مانند سگ و گربه دیده شده است (۱۲و۱۱). Tallo و همکارانش در سال ۲۰۰۱ نشان دادند که *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* جدا شده از سگ ها ، همیشه به عنوان یک ایزوله همزیست نبوده و می تواند در بعضی از شرایط ، موجب بروز علائم بالینی شود. شکل مهاجم بیماری معمولا" در سگ ها به دو صورت پیودرم و اوتیت تظاهر می نماید (۱۳). تاکنون بررسی های اندکی در رابطه با عفونت های *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* در انسان انجام گرفته است. این مطالعات، تنها به گزارش های موردی(case reports) ، اکتفا نموده اند. در همین رابطه ، مواردی از آبسه مغزی و باکتریمی دنبال عفونت کاتتر، در انسان گزارش شده است (۷و۱۴). *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* به دلیل داشتن مخزن حیوانی و از سوی دیگر، شباهت آن از نظر ویژگی های بیوشیمیایی به *استافیلوکوکوس اورئوس* ، به ندرت از موارد انسانی گزارش شده است(۹). در بیشتر بررسی ها ، ایزوله های جدا شده حساس به متی سیلین بودند (۱۴) درحالیکه ایزوله به دست آمده در تحقیق ما ، مقاوم به متی سیلین بود. ضمنا سویه مربوطه از فردی جدا شد که با سگ در ارتباط بوده است.

در مطالعه ای که در بخش میکروب شناسی دانشکده دامپزشکی اتریش انجام گرفت، سویه هایی از استافیلوکوکوس اینترمدیوس که پس از جراحی در پنج سگ و یک گربه کلونیزه شده بودند ، با ایزوله های استافیلوکوکوس اینترمدیوس جدا شده از پرسنلی که کار جراحی و مراقبت از این حیوانات را بر عهده داشتند ، با استفاده از PFGE مورد مقایسه قرار گرفتند. هر ۶ ایزوله استافیلوکوکوس اینترمدیوس جدا شده از این حیوانات، مقاوم به متی سیلین بودند و با ایزوله های مقاوم به متی سیلین جدا شده از پرسنل مربوطه از نظر آنتی بیوتاپیینگ و PFGE، الگوی مشابهی داشتند (۹) . این امر نشان می دهد که این ایزوله ها از یک کلون باکتریایی مشترک منشأ گرفته اند و احتمال انتقال مقاومت آنتی بیوتیکی در بین سویه ها به میزان بالایی وجود دارد.

در بررسی حاضر برای ، یک مورد *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* از پرسنل شاغل دربخش دیالیز بیمارستان جدا گردید. در بررسی منابع گزارش مشابه یافت نشد. از سوی دیگر ، ایزوله مربوطه از نظر ژن *mecA* مثبت بود. از آنجایی که ایزوله های MRSI می توانند به راحتی موجب انتقال ژن *mecA* به سایر گونه های استافیلوکوک شوند ، بسیار حائز اهمیت می باشند (۴) . با در نظر گرفتن این که یکی از مهم ترین راهکارها جهت کنترل عفونت ، نظارت دائم بر میکروارگانیسم های موجود در بیمارستان است ، بنابراین تعیین هویت دقیق میکروارگانیسم ها و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آن ها جهت کنترل عفونت نقش بسزایی خواهد داشت. لذا، علاوه بر بیماران بهتر است از افرادی که در ارتباط با آن ها هستند نیز نمونه گیری انجام شود تا بتوان در صورت امکان، منشأ عفونت را ردیابی و جهت جلوگیری از انتشار عفونت اقدام نمود.

نتیجه گیری:

جدا سازی سویه *استافیلوکوکوس اینترمدیوس حاوی ژن mecA* از پرسنل بخش های مختلف بیمارستانی خصوصا" افرادی که با بیماران بخش های مراقبت های ویژه در ارتباط هستند،نشان می دهد که پرسنل حتما" باید از نظر وضعیت حامل بودن ، مورد بررسی قرار گیرند. این افراد بایستی مد نظر داشته باشند که می توانند به عنوان حامل در گسترش عفونت های بیمارستانی نقش داشته باشند. بنابراین بهتر است تا حد امکان از نگهداری حیوانات خانگی در محل سکونت جلوگیری نمایند. در غیر این صورت ، شانس گسترش عفونت های غیرشایع و نوظهور(emerging) بیمارستانی راهیم بود.

تقدیر و تشکر:

این مقاله بخشی از نتایج طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران به شماره قرارداد ۷۷۱ مورخ ۸۷/۱۰/۲۵ می باشد. نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از همکاری صمیمانه خانم صدیقه قورچیان کارشناس آزمایشگاه گروه پاتوبیولوژی ابراز می دارند.

Archive of SID

www.SID.ir

فهرست مراجع:

1. 1 Hartmann FA, White DG, West SHE, Walker RD and Deboer DJ. Molecular characterization of *Staphylococcus intermedius* carriage by healthy dogs and comparison of antimicrobial susceptibility patterns to isolates from dogs with pyoderma. *Vet Microbiol* 2005; **108:**119-131.
2. Pottumarthy S, Schapiro JM, Prentice JL, Houze YB, Swanzy SR, Fang FC, *et al*. Clinical isolates of *Staphylococcus intermedius* masquerading as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2004; **42:**5881-5884.
3. Talan DA, Staatz D, Staatz A, Goldstein EJC, Singer K, and Overturf GD. *Staphylococcus intermedius* in canine gingiva and canine inflicted human wound infections: laboratory characterization of a newly a recognized zoonotic pathogen. *J Clin Microbiol* 1989; **27:**78– 81.
4. Guardabassi L, Loeber ME. Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. *Vet Microbiol* 2004*;* **98** (1) **:**23–27.
5. Lee J. *Staphylococcus intermedius* isolated fr dog-bite wounds. *J Infect* 1994; **2**
6. Gerstadt K, Daly JS, Mitchell M. Methicillin-resistant *Staphylococcus intermedius* pneumonia following coronary artery bypass grafting. *Clin Infect Dis* 19 218-219.
7. Vandenesch F, Celard M, Arpin D, Bes M, Greenland T and Etienne J. Catheter-related bacteremia associated with coagulase-positive *staphylococcus intermedius*. *J Clin Microbiol* 1995; **33:**2508-2
8. Tanner MA, Everett CL, Youvan DC. Molecular phylogenetic evidence for non-invasive zoonotic transmission of *Staphylococcus intermedius* from a canine pet to a human. *J Clin Microbiol* 2000; **38:**1628–1631.
9. Duijkeren E, Houwers DJ, Schoormans A. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus intermedius* between humans and animals. *Vet Microbiol* 2008; **128:**213-215.
10. NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 12th informational supplement. NCCLS document M100-S14. Wayne, PA: NCCLS, 2004.
11. Lilenbaum W, Nunes ELC, Azeredo MAI. Prevalence and antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from the skin surface of clinically normal cats. *Appl Microbiol* 1998; **27:**224–228.
12. Patel A, Lloyd DH, Lamport AI. Antimicrobial resistance of feline staphylococci in south-eastern England. *Vet Dermatol* 1999; **10:**257–261.
13. Morris DO, Rook KA, Shofer FS and Rankin SC. Screening of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, and *Staphylococcus schleiferi* isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance : a retrospective review of 749 isolates (2003-04). *European Journal of Veterinary Dermatology* 2006; **17:**337-337.
14. Atalay B, Ergin F, Cekinmez M, Caner H, and Altinors N. Brain abscess caused by *Staphylococcus intermedius*. *Acta Neurochirurgica* 2005; **47:**347–348.

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir