فصلنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال چهاردهم، شماره ۳، صفحه ۱۷۲ - ۱۶۵ (پاییز ۱۳۹۰)

بررسی شیوع مقاومت به متی‌سیلین و وانکومایسین در استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی جدا شده از نمونه‌های کلینیکی بیمارستان‌های آموزشی شهرکرد ۱۳۸۸

لاله شریعتی[۱و۲]، مانا شجاع‌پور[۱و۳]، مجید ولیدی[۱]، عفت فرخی[۱]، محمدامین طباطبائی‌فر[۱و۴]، علی کریمی[۱]، محمدرضا نفیسی[۱*]

[۱] مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
[۲] گروه پزشکی مولکولی، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۳] مرکز تحقیقات پزشکی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اراک
[۴] گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

Archive of SID

چکیده

زمینه: وانکومایسین به‌طور وسیع در درمان عفونت‌هائی با عامل استافیلوکوک کواگولاز منفی مقاوم به متی‌سیلین (MRCoNS) استفاده می‌گردد. پیدایش سویه‌های استافیلوکوک کواگولاز منفی با مقاومت کامل VRCoNS (Vancomycin Resistant Coagulase Negative Staphylococci) و حد واسط VICoNS (Vancomycin Intermediate Coagulase Negative Staphylococci) به وانکومایسین در نقاط مختلف جهان باعث نگرانی شده است. ما در این مطالعه میزان شیوع MRCoNS (Methicillin-Resistant Coagulase Negative Staphylococci) و پیدایش VICoNS و VRCoNS را در بیمارستان‌های شهرکرد مورد مطالعه قرار دادیم.

مواد و روش‌ها: هشتاد و هشت ایزوله استافیلوکوک کواگولاز منفی (CoNS) از میان ۲۸۴ ایزوله استافیلوکوک جدا شده از نمونه‌های کلینیکی بیمارستان‌های شهرکرد، شناسایی گردید. سپس الگوی حساسیت ضدمیکروبی برای ۱۲ آنتی‌بیوتیک به‌روش دیسک دیفیوژن تعیین گردید. سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین با چندین روش شناسائی شدند: دیسک دیفیوژن، E-test و Real-time PCR استافیلوکوک کواگولاز منفی. سویه‌های مقاوم به وانکومایسین هم با چندین روش شناسایی شدند: E-test، آگار اسکرین و Duplex-PCR.

یافته‌ها: با استفاده از روش دیسک دیفیوژن مشخص گردید که ۱۰۰ درصد ایزوله‌ها مقاوم به پنی‌سیلین هستند، در حالی‌که کمترین مقاومت (۳۳ درصد) برای افلوکساسین مشاهده گردید. چهل و شش سویه CoNS مقاوم به متی‌سیلین بوده و هیچکدام از سویه‌ها دارای کاهش حساسیت به وانکومایسین نبوده و در روش PCR حامل ژن‌های vanA و vanB نبودند.

نتیجه‌گیری: این مطالعه شیوع بالائی MRCoNS را در بیمارستان‌های شهرکرد نشان داد، اما هنوز خوشبختانه مقاومت به وانکومایسن مشاهده نشده است.

واژگان کلیدی: استافیلوکوک کواگولاز منفی، مقاوم به وانکومایسین، مقاوم به متی‌سیلین، شیوع

دریافت مقاله: ۸۹/۲/۱۰- **پذیرش مقاله:** ۸۹/۵/۳۰

[*] شهرکرد، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

E-mail: mr_nafisi@yahoo.com

www.SID.ir

مقدمه

استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی (Coagulase Negative Staphylococci،CoNS) پاتوژن‌های بسیار مهم فرصت‌طلب و عامل عفونت‌های حاد به‌خصوص در بیماران دارای نقص ایمنی و بیماران با وسایل تهاجمی می‌باشند (۱). به‌علاوه، مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌ویژه مقاومت به متی‌سیلین در گونه‌های این باکتری، همچون سویه‌های استافیلوکوک اورئوس، رو به افزایش است. درمان تجربی منتخب برای عفونت‌های ناشی از سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین، اغلب وانکومایسین می‌باشد. تشخیص صحیح و سریع مقاومت به متی‌سیلین ضروری است تا درمان ضدمیکروبی مناسب اتخاذ شود (۱ و ۲).

سویه‌های استافیلوکوک کواگولاز منفی مقاوم به‌متی‌سیلین (Methicillin-Resistant Coagulase Negative Staphylococci،MRCoNS) در بیمارستان‌هایی که برای بیماران قلبی، دریچه‌های مصنوعی قلب به‌کار گرفته می‌شود مشکلات فراوانی را ایجاد می‌نمایند. وانکومایسین داروی انتخابی برای درمان اندوکاردیت حاصله از این سویه‌ها و سویه‌های استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus ،MRSA) محسوب می‌شود (۳). این داروی استراتژیک بهتر است فقط برای درمان بیماران مبتلا به عفونت‌های سیستمیک مانند پنومونی و اندوکاردیت ناشی از این باکتری‌ها اختصاص داده شود. چنانچه وانکومایسین همراه با ریفامپین یا جنتامایسین مصرف شود توانائی آن در برابر چنین سویه‌هایی افزایش می‌یابد (۴). با این‌حال باید توجه داشت که نباید مصرف وانکومایسین به‌صورت بی‌رویه افزایش یابد، چون در این‌صورت با افزایش جمعیت انتروکوک‌های واجد پلاسمید حاوی ژن مقاومت به ونکومایسین مواجه خواهیم شد و احتمال انتقال این پلاسمیدها از طریق کونژوگاسیون به سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس زیاد است (۷-۵).

مکانیسم مقاومت به وانکومایسین در سویه‌های CoNS هنوز ناشناخته است. وانکومایسین با اتصال غیرقابل برگشت به دی آلانیل- دی آلانین انتهائی پیش‌سازهای دی ساکارید - پنتاپپتید دیواره عمل کرده و سنتز دیواره باکتری را مهار می‌کند. انتروکوک‌ها با جایگزین کردن لاکتات به جای آلانین انتهائی، که تمایل بسیار پائینی به وانکومایسین دارد، مقاومت به وانکومایسین را ایجاد می‌کند (۳ و ۸). تحقیقات در مورد مقاومت به وانکومایسین در CoNS نشان داده که پیش‌سازهای دیواره، به‌صورت تغییرشکل یافته‌ای سنتز شده است اما میزان آن برای این سطح مقاومت پائین می‌باشد. آنالیز پپتیدوگلیکان دیواره در CoNS بسیار مقاوم حضور پل‌های عرضی تغییر شکل یافته را نسبت به سویه‌های حساس نشان داده است. مشخص شده است که این پل‌های عرضی تغییر شکل یافته، اتصال وانکومایسین به‌پپتیدهای هدف را مهار می‌نماید، با این وجود، این فرضیه هنوز اثبات نشده است. مقاومت به وانکومایسین در CoNS چند عاملی است، ولی مکانیسم دقیق آن روشن نیست (۸).

هدف از این مطالعه، بررسی شیوع مقاومت به متی‌سیلین و پیدایش مقاومت به وانکومایسین در سویه‌های CoNS جدا شده می‌باشد، تا بتوان به یک پیش‌آگهی برای انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب در برخورد با بیماران آلوده به باکتری‌های مزبور دست یابیم.

Archive of SID
www.SID.ir

مواد و روش‌کار

در این تحقیق توصیفی- تحلیلی از بین ۲۸۴ مورد استافیلوکوک که به‌طور تصادفی از نمونه‌های کلینیکی (زخم، خون، ادرار، CSF، کاتتر درون رگی و غیره) بیمارستان‌های آموزشی هاجر و کاشانی شهرکرد در سال ۱۳۸۸ جدا شدند، سویه‌های استافیلوکوک کوآگولاز منفی (CoNS) با تست‌های بیوشیمیایی و آنزیمی نظیر کاتالاز، کواگولاز و DNase شناسائی گردیدند. تعیین حساسیت به ۱۲ آنتی‌بیوتیک به‌روش دیسک دیفیوژن. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی تهیه گردیدند (های‌مدیا-هندوستان) و تست دیسک دیفیوژن برای آنتی‌بیوتیک‌های اگزاسیلین (۱ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم)، سفازولین (۳۰ میکروگرم)، کوتریماکسازول (۲۵ میکروگرم)، سفوکسیتین (۳۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (10 واحد)، تتراسیکلین (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، افلوکساسین (۵ میکروگرم) با استفاده از روش Kirby-Bauer طبق استانداردهای CLSI انجام گردید. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید وقطر هاله عدم رشد توسط خط‌کش مخصوص اندازه‌گیری شد. نتایج طبق جدول استانداردهای CLSI، ثبت گردید (۹). برای تعیین حساسیت نسبت به متی‌سیلین، بنا بر توصیه‌های NCCLS از اگزاسیلین استفاده شد که در شرایط آزمایشگاهی پایدارتر از متی‌سیلین است و نیز قادر به تشخیص مقاومت تقاطعی می‌باشد. هم چنین روش Agar screen استفاده شد که نسبت به کاستی‌های دیسک دیفیوژن ارجح‌تر است (۹).

روش وانکومایسین آگار اسکرین

غربال‌گری برای تشخیص مقاومت به وانکومایسین روی محیط عصاره مغز- قلب (Brain Heart Infusion،BHI) محتوی ۶ میلی‌گرم وانکومایسین در هر لیتر همان‌طور که توسط Tiwary شرح داده شد انجام گردید (۱۰).

تعیین کمترین غلظت مهارکنندگی (Determination of Minimum Inhibitory Concentration,MIC) کمترین غلظت مهارکنندگی (MIC) اگزاسیلین و وانکومایسین با روش E-test (AB BIODISK, Solna, Sweden) تعیین گردید. ابتدا با سواپ استریل از سوسپانسیون سویه‌های استافیلوکوک کواگولاز منفی واجد کدورتی معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند، به‌طور یکنواخت بر روی محیط مولر هینتون آگار واجد ۰/۸۵ درصد کلرید سدیم (NaCl) کشت داده شد. سپس به‌وسیله پنس، با دقت و رعایت شرایط آسپتیک، دو استریپ E-test اگزاسیلین و وانکومایسین روی محیط قرار داده شدند. پلیت‌ها به‌مدت ۲۰-۱۶ ساعت در ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. نتایج با مقیاس میکروگرم بر میلی‌لیتر (µg/ml) خوانده شد. (اگزاسیلین: حساس (µg/ml ۲≤) مقاوم (µg/ml۴≥)، وانکومایسین: حساس (µg/ml۴≤) حد واسط (۱۶-۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر) مقاوم (µg/ml۳۲≥). سویه‌های استافیلوکوک اورئوس (ATCC 29213) و استافیلوکوک اورئوس (ATCC 43300) به‌ترتیب به‌عنوان کنترل حساس به متی‌سیلین و مقاوم به متی‌سیلین و انتروکوک فکالیس (ATCC 29212) و انتروکوک فکالیس (A256) به‌ترتیب به‌عنوان کنترل حساس به وانکومایسین و مقاوم به وانکومایسین بکار برده شدند.

تشخیص استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی از استافیلوکوک اورئوس با روش Real-time PCR

جهت استخراج DNA از کیت Magnesil (پرومگا، امریکا) استفاده شد. ژن nuc، یک ژن اختصاصی برای شناسائی استافیلوکوک اورئوس است. این ژن به‌روش Taqman Real-time PCR تشخیص داده شد. پرایمرها و پروب مورد استفاده در جدول شماره ۱

Archive of SID
www.SID.ir

ذکر شده است (۱۱). ۶/۲۵ میکرولیتر master mix (2x) (امپلیکون، امریکا)، ۰/۵ میکرولیتر از هرپرایمر (10PM) (متابیون،آلمان)، ۰/۵ میکرولیتر پروب (5 PM) (متابیون،آلمان)، ۱ میکرولیتر MgCl2 (50mM)(سیناژن، ایران)، ۱/۲۵ میکرولیتر آب دیونیزه و ۲/۵ میکرولیتر DNA باکتری. سپس این مخلوط در دستگاه Real-time rotary analyzer (Rotor- Gene 3000) با سیکل دمایی: ۳۰ ثانیه 95°C (۳۰ سیکل) و ۱ دقیقه 60°C قرار داده شد. با این روش سویه‌های استافیلوکوک اورئوس شناسائی شده و سایر استافیلوکوک‌ها به‌عنوان استافیلوکوک کواگولاز منفی تلقی شدند. استافیلوکوک اپیدرمیدیس (ATCC 12228) واستافیلوکوک اورئوس (ATCC 43300) به‌ترتیب به‌عنوان کنترل منفی و مثبت استفاده شدند.

تشخیص ژن mecA با تکنیک Real-time PCR

پرایمرها و پروب استفاده شده در جدول ۱ ذکر شده است (۱۱). تهیه مخلوط PCR مشابه آن‌چه در مرحله قبل گفته شد، انجام گردید. از سویه‌های استافیلوکوک اورئوس (ATCC 29213) واستافیلوکوک اورئوس (ATCC 43300) به‌ترتیب به‌عنوان کنترل منفی و مثبت استفاده شد. ژن mecA در استافیلوکوکوس اورئوس و سایراستافیلوکوک‌ها یکسان است (۷).

جدول ۱) پرایمرها و پروب ژن *mecA* و *nuc* که به روش Real-time PCR شناسایی شدند

پرایمر و پروب	ترادف (´۳→´۵)	رنگ نشانگر	غلظت واکنش دهنده (پیکوکول)
nuc			
nuc For	5´CAAAGCATCAAAAAGGTGTAGAGA3´		10
nuc Rev	5´TTCAATTTTCTTTGCATTTTCTACCA3´		10
nuc Probe	5´TTTTCGTAAATGCACTTGCTTCAGGACCA3´	FAMa	5
mecA			
mecA For	5´GGCAATATTACCGCACCTCA3´		10
mecA Rev	5´GTCTGCCACTTTCTCCTTGT3´		10
mecA Probe	5´AGATCTTATGCAAACTTAATTGGCAAATCC3´	FAMa	5

تشخیص ژن vanA با تکنیک duplex PCR

در این مطالعه از ژن 16S rRNA به‌عنوان کنترل داخلی و برای تأئید انجام موفق PCR استفاده شد. پرایمرهای استفاده شده در جدول ۲ آورده شده است (۱۰ و ۱۲). مخلوط PCR (۲۵میکرولیتر) شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (2x)(سیناژن،ایران)، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر ژن vanA (۱۰پیکومول)(متابیون،آلمان)، ۰/۱ میکرولیتر از هر پرایمر ژن ۲،16S rRNA میکرولیتر MgCl2 (۵۰ میلی‌مولار)(سیناژن،ایران)، ۱۵/۲ میکرولیتر آب مقطر و ۰/۱ میکرولیتر از آنزیم تک DNA پلیمراز و ۱ میکرولیتر DNA باکتری. مخلوط PCR در دستگاه ترموسایکلرASTECT (فوکوکا، ژاپن) با برنامه دمائی: ۱۰ دقیقه در °C ۹۴، ۳۰ سیکل ۳۰ ثانیه 95°C و ۳۰ ثانیه °C ۵۵ و ۳۰ ثانیه °C ۷۲، در انتها ۱۰ دقیقه در °C ۷۲ قرار داده شد. پس از اتمام واکنش duplex PCR محصول آن روی ژل اکریل آمید بیس‌اکریل آمید ۴۰ درصد برده شد و

Archive of SID

www.SID.ir

پس از رنگ‌آمیزی با نیترات نقره، باندهای DNA به‌اندازه ۱۰۳۰ جفت باز مربوط به ژن vanA و ۴۷۹ جفت باز مربوط به ژن 16S rRNA مشاهده گردید.

جدول ۲) پرایمرها و پروب ژن *vanA* و *vanB* و *16S rRNA* که به روش Duplex PCR

پرایمر	ترادف (´۳→´۵)	غلظت واکنش دهنده (پیکومول)
vanA		10
vanA For	5´CATGAATAGAATAAAAGTTGCAATA3´	10
vanA Rev	5´CCCCTTTAACGCTAATACGACGATCAA3´	
vanB		
vanB For	5´GTGACAAACCGGAGGCGAGGA3´	10
vanb Rev	5´ CCGCCATCCTCCTGCAAAAAA3´	10
16S rRNA		
16S rRNA For	5´GGA ATT CAA ATG AAT TGA CGG GGG3´	10
16S rRNA Rev	5´CGG GAT CCC AGG CCC GGG ACC GTA TTC AC3´	10

سویه‌های انتروکوکوس فکالیس (ATCC 29212) و انتروکوکوس فکالیس (A256) به‌عنوان کنترل منفی و مثبت برای این ژن استفاده شدند.

تشخیص ژن vanB با تکنیک duplex PCR

شناسائی ژن vanB و 16S rRNA با تکنیک duplex PCR انجام گرفت. پرایمرهای استفاده شده در جدول ۲ آورده شده است (۱۰ و ۱۲). تهیه مخلوط PCR و برنامه دمائی مشابه مرحله قبل می‌باشد. سویه‌های انتروکوکوس فکالیس (ATCC29212) و انتروکوکوس فکالیس (V583) به‌عنوان کنترل منفی و مثبت برای این ژن استفاده شدند.

نتایج

از بین ۲۸۴ ایزوله استافیلوکوک ۸۴ ایزوله دی- ان آز منفی، ۸۲ ایزوله کواگولاز منفی بودند. ۹۲ ایزوله قادر به تخمیر مانیتول نبودند، و در ۸۸ ایزوله، ژن nuc وجود نداشت. بنابراین ۸۸ ایزوله به‌عنوان استافیلوکوک‌های غیر استافیلوکوک اورئوس تأئید شدند. یعنی عدم وجود ژن nuc به‌عنوان استاندارد طلائی در نظر گرفته شده است (۱۱). الگوی حساسیت ضدمیکروبی این ۸۸ ایزوله به این گونه بود: ۸۸ (۱۰۰ درصد) مقاوم به پنی‌سیلین، ۴۶ (۵۲/۳ درصد) مقاوم به اگزاسیلین، ۳۷ (۴۲ درصد) مقاوم به جنتامایسین، ۴۱ (۴۶/۶ درصد) مقاوم به سیپروفلوکساسین، ۴۷ (۵۳/۴ درصد) مقاوم به اریترومایسین، ۵۴ (۶۱/۴ درصد) مقاوم به تتراسیکلین، ۳۴ (۳۸/۶ درصد) مقاوم به کوتریماکسازول، ۴۳ (۴۸/۹ درصد) مقاوم به کلیندامایسین، ۳۳ (۳۷/۵ درصد) مقاوم به سفازولین، ۲۹ (۳۳ درصد) مقاوم به افلوکساسین، ۴۶ (۵۲/۳ درصد مقاوم به سفوکسیتین و ۷۳ (۸۳ درصد) مقاوم به آمپی‌سیلین.

MIC این ۸۸ سویه در مقابل اگزاسیلین نشان داد که ۴۶ سویه مقاوم به اگزاسیلین بودند (MIC≥4 µg/ml).

MIC همه سویه‌ها حساسیت به وانکومایسین را نشان داد (MIC≤4µg/ml) و MIC این سویه‌ها بین ۰/۳۳ تا ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود، MIC ۲ سویه ۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که هر دو آنها MRCoNS بودند. هیچ‌کدام از این سویه‌ها در محیط BHI محتوی ۶ میلی‌گرم وانکومایسین در هر لیتر رشد نکردند. همه ایزوله‌هائی که به‌روش E-test (۴۶ سویه، ۵۲/۳ درصد) مقاوم به اگزاسیلین بودند دارای ژن mecA بودند و هیچکدام از سویه‌ها حامل ژن‌های vanA و vanB نبودند.

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

در ایران انتشار مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین باکتری‌های بیماری‌زا، به‌عنوان یک چالش مهم برای جامعه پزشکی مطرح است (۱۳). مطالعه ما نشان می‌دهد که در بین سویه‌های CoNS، ۱۰۰ درصد موارد، مقاوم به پنی‌سیلین و ۸۳ درصد مقاوم به آمپی‌سیلین بودند. در این مطالعه میزان مقاومت به سفوکسیتین و اگزاسیلین کاملا مشابه هم (۵۲/۳ درصد) بود و کمترین مقاومت، در افلوکساسین (۳۳ درصد) دیده شد. در یک مطالعه، مقاومت به پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین به‌ترتیب ۹۸/۱ درصد و ۹۵/۹ درصد گزارش شده است(۱۴). اما در مطالعه‌ای دیگر استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی بیشترین مقاومت را به‌ترتیب به آنتی‌بیوتیک‌های کلوگزاسیلین (۸۰/۹ درصد)، سفیکسیسم (۷۶/۹ درصد)، پنی‌سیلین (۶۷/۶ درصد) و اگزاسیلین (۶۶/۷ درصد) نشان دادند (۱۵).

سویه‌های استافیلوکوک مقاوم به متی‌سیلین یک مشکل مهم درمانی عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شوند. پایش مستمر این سویه‌ها در جمعیت‌های میکروبی خصوصاً در بیمارستان‌ها (که به‌طور بالقوه باعث عفونی شدن افراد مستعد و ایجاد عفونت‌های بیمارستانی مقاوم به‌درمان به‌صورت موردی یا اپیدمی می‌گردد) اقدامی ضروری محسوب می‌شوند (۱۶).

یکی از اهداف این پژوهش، تعیین میزان وفور مقاومت به اگزاسیلین در بین ایزوله‌های CoNS جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان‌های آموزشی شهرکرد در سال ۱۳۸۸ بود. که براساس نتایج به‌دست آمده، ۵۲ درصد سویه‌ها، MRCoNS بودند. این یافته‌ها تا حدودی مطابق با مطالعات انجام شده در تهران (۴۳/۷ درصد) بوده است (۱۷). در حالی‌که در یک مطالعه در اهواز این میزان ۲۶/۶۷ درصد بوده است(۱۸).

عمده‌ترین مزیت این پژوهش نسبت به‌سایر مطالعات انجام شده در کشور این است که سویه‌های استافیلوکوک کواگولاز منفی که تاکنون پژوهش کمتری بر روی آن صورت گرفته بود، بررسی شده‌اند. به‌علاوه زمان این مطالعه (یک سال) نسبت به بیشتر مطالعات انجام شده در کشور (بین ۱ تا ۶ ماه) طولانی‌تر بوده است. مزیت دیگر این بررسی در روش کار است به گونه‌ای که برای افزایش حساسیت و دقت در تشخیص MRCoNS، علاوه بر روش متداول دیسک دیفیوژن، از روش‌های تعیین MIC (E-test) و شناسائی ژن mecA (Real-time PCR) استفاده شد. حال آن‌که، در اکثر مطالعات دیگر تنها از روش دیسک دیفیوژن استفاده شده است. شباهت‌ها و تفاوت‌های دیده شده در مقادیر مقاومت در میان مطالعات مختلف عمدتا می‌توانند ناشی از اختلاف در ناحیه جغرافیائی، زمان مطالعه، بیمارستان‌ها و بخش‌های مورد مطالعه، وضعیت بیماران (بستری یا سرپائی) و نوع عفونت (خون، سوختگی، عفونت‌های پوستی و غیره) باشند.

تأثیر عوامل فوق‌الذکر در دو مطالعه وسیع اپیدمیولوژی در سال ۲۰۰۳ در اروپا و در بین سال‌های ۱۹۹۷ تا ۱۹۹۹ در ایالت متحده، کانادا، امریکای لاتین، اروپا و کشورهای جنوب شرقی آسیا بررسی شده و مورد تأکید قرار گرفته‌اند (۱۹ و ۲۰). با وجود اختلاف‌های موجود در مقادیر مقاومت بیمارستانی و افزایش سال به سال سویه‌های استافیلوکوک مقاوم به متی‌سیلین، ضروری است به دلیل تغییر الگوی آنتی‌بیوتیکی در استافیلوکوک‌ها، بررسی دوره‌ای ۳ تا ۴ سال یک‌بار انجام شود (۲۱ و ۲۲).

در نقاط مختلف جهان مطالعاتی در مورد پیدایش استافیلوکوک‌های مقاوم به وانکومایسین انجام شده است. تعداد معدودی از سویه‌های مقاوم به وانکومایسین در بین گونه‌های استافیلوکوک اورئوس گزارش شده است. در مورد سویه‌های استافیلوکوک کواگولاز منفی نیز سویه‌های دارای مقاومت به وانکومایسین گزارش شده است، اما این

Archive of SID
www.SID.ir

سویه‌ها در ارتباط با ژن‌های مقاومت نبوده‌اند (۲۳).

در این میان گسترش انتروکوک‌های مقاوم به وانکومایسین از اهمیت به‌سزائی برخوردار است. زیرا گزارش‌هائی از انتقال ژن vanA از یک سویه انتروکوک فکالیس به استافیلوکوک اورئوس وجود دارد. بنابراین انتروکوک‌ها می‌توانند به‌عنوان مخزن ژن‌های متحرک در پیدایش و گسترش سویه‌های استافیلوکوک مقاوم به وانکومایسین باشد (۲۴).

در این مطالعه، با روش‌های E-test و وانکومایسین آگار اسکرین (۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) هیچ سویه استافیلوکوک کواگولاز منفی مقاوم به وانکومایسین مشاهده نشد. همچنین هیچ یک از ایزوله‌ها حامل ژن‌های vanA و vanB نبودند.

در ایران مطالعات کمی در مورد مقاومت به وانکومایسین در سویه‌های استافیلوکوک کواگولاز منفی انجام شده است. در مطالعه‌ای درهند از ۵۱ سویه MRCoNS، یک سویه به وانکومایسین مقاوم و یک سویه با حساسیت حد واسط به وانکومایسین گزارش شده است. همه سویه‌های MRCoNS حامل ژن mecA بودند ولی در هیچ‌کدام از سویه‌های مقاوم به وانکومایسین ژن‌های vanA و vanB با PCR شناسائی نگردید (۱۰). در مطالعه‌ای دیگر ۲/۴ درصد از سویه‌های مقاوم به اگزاسیلین، به وانکومایسین نیز مقاوم بودند. در همه سویه‌ها ژن mecA با تکنیک PCR شناسایی شد ولی هیچ‌یک از ایزوله‌ها ژن vanA، vanB و vanC را به روش مولکولی نشان نداد ولی با میکروسکوپ الکترونی ضخیم شدن دیواره مشاهده شد (۲۵).

نتایج این پژوهش نشان داد که شیوع MRCoNS در مراکز درمانی شهرکرد به سطح ۵۰ درصد رسیده است. یافته‌های تحقیق حاضر مشابه نتایج مطالعه دیگری است که قبلا در شهرکرد در مورد استافیلوکوس اورئوس در بهار ۱۳۸۶ انجام شده است(۱۲). به‌نظر می‌رسد که هم‌اکنون زمان مداخله مؤثر در محدود کردن شیوع MRCoNS در سطح مراکز بهداشتی و جامعه شهرکرد وجود دارد که به‌طور قطع این فرصت در آینده وجود نخواهد داشت. خوشبختانه کاهش مقاومت به وانکومایسین در این مطالعه مشاهده نگردید.

تشکر و قدردانی

از همکاری‌های صمیمانه کارکنان محترم مرکز تحقیقات سلولی- مولکولی و گروه ایمنی‌شناسی و میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد قدردانی می‌نماییم.

References:

1.Piette A, Verschraegen G. Role of coagulase-negative staphylococci in human disease. Vet Microbiol 2009; 134: 45-54.
2.Rupp ME, Archer GL. Coagulase-negative staphylococci: pathogens associated with medical progress. Clin Infect Dis 1994; 19: 231-43.
3.Hiramatsu K. Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus: a new model of antibiotic resistance. Lancet Infect Dis 2001; 1: 147-55.
4.Appelbaum PC. The emergence of vancomycin-intermediate and vancomycin-resistant Staphylococcus aureus. Clin Microbiol Infect 2006; 12: 16-23.
5.Wang Z, Cao B, Liu YM, et al. Investigation of the prevalence of patients co-colonized or infected with methicillin-resistant Staphylococcus aureus and vancomycin-resistant enterococci in China: a hospital-based study. Chin Med J 2009; 122: 1283-8.
6.Oliveira AD, d'Azevedo PA, de Sousa LB, et al. Laboratory detection methods for methicillin resistance in coagulase negative Staphylococcus isolated from ophthalmic infections. Arq Bras Oftalmol 2007; 70: 667-75.
7.de Lencastre H, Oliveira D, Tomasz A. Antibiotic resistant Staphylococcus aureus: a paradigm of adaptive power. Curr Opin Microbiol 2007; 10: 428-35.
8.Diep BA, Carleton HA, Chang RF, et al. Roles of 34 virulence genes in the evolution of hospital- and community-associated strains of methicillin-resistant Staphylococcus

Archive of SID
www.SID.ir

aureus. J infect Dis 2006; 193: 1495-503.
9.Wayne PA. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 9th ed. CLSI; 2006.
10.Tiwari HK, Sen MR. Emergence of vancomycin resistant Staphylococcus aureus (VRSA) from a tertiary care hospital from northern part of India. BMC infect dis 2006; 6:156
11.McDonald RR, Antonishyn NA, Hansen T, et al. Development of a triplex real-time PCR assay for detection of Panton-Valentine leukocidin toxin genes in clinical isolates of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. J Clin Microbiol 2005; 43: 6147-9.
12.Nafisi MR, Kalhor H, Zamanzad B, et al. Comparison of agar screen and duplex-PCR in determination of methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) strains isolated from nose of personnel in Hajar hospital of Shahre-kord 2007. J Arak Uni Med Sci 2008; 11: 94-101.
13.Mamishi S, Pourakbari B, Ashtiani MH, et al. Frequency of isolation and antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from bloodstream infections at Children's Medical Center, Tehran, Iran, 1996-2000. Int J Antimicrob Agents 2005; 26: 373-9.
14.Ghotaslo R, Ghorashi S, Mohammadpoor A. Evaluation of the antibiotic susceptibility of coagulase negative staphylococci in children. J Lorestan Uni Med Sci 2007; 9: 3-10.
15.Shajari G, Khorshidi A, Moosavi G. Bacterial isolation and antibiotic resistance of nosocomial pneumonia in hospitalaized patients - Kashan, Iran. Hormozgan Med J 2009; 13: 197-205.
16.Chitsaz M. Frequency of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Clinical Isolates of Four Tehran University Hospitals and Their Susceptibility to 22 Other Antibiotics. Med Daneshvar 2006; 13: 13-22.
17.Sepehri S. Methicillin-resistant in coagulase-negative staphylococci [dissertation]. School of Pharmacy: Tehran Uni Med Sci., 2000.
18.Jamshidian M. methicillin resistance in staphylicoccus strains isolated from clinical samples in Ahwaz. Med J Tabriz Uni 2001; 35: 29-33.
19.Stephani S, Varaldo PE. Update Epidemiology of Methicillin-resistant Staphylococci in Europe. Clin Microbial Infect 2003; 9: 1179-86.
20.Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, et al. Survey of Infection Due to Staphylociccus species. Frequency of occurance and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States ,Cnada, Latin America, Europe, and the Western Pacific Region for the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997-1999. Clin Infect Dis 2001; 21: 114-32.
21.Muller A, Maumy F, Bertin M, et al. Relationship between spread of methicillin resistant staphylococcus aureus and antimicrobial use in a French university hospital. Clin Infect Dis 2003; 36: 971-78.
22.Japoni A, Alborzi A, Rasouli M, et al. Modification DNA extraction for rapid PCR detection of Methicillin-resistant Staphylococci. Iran Biomed J 2004; 8: 161-5.
23.Courvalin P. Vancomycin resistance in gram-positive cocci. Clin Infect Dis 2006; 42: S25-34.
24.Willems RJ, Top J, van Santen M, et al. Global spread of vancomycin-resistant Enterococcus faecium from distinct nosocomial genetic complex. Emerg Infect Dis 2005; 11: 821-8.
25.Palazzo IC, Araujo ML, Darini AL. First reaport of vancomycin-resistant staphylococci isolated from healthy carriers in brazil. J Clin Microbiol 2005; 43: 179-85.

Archive of SID

www.SID.ir