

## شیوع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین به کمک روش‌های فنوتیپی و ژنوتیپی در نمونه‌های بالینی جمع‌آوری شده از بیمارستان‌های آموزشی مازندران. ۹۴-۱۳۹۳

مجتبی محسنی\*<sup>۱</sup>، نیلوفر نورپور<sup>۲</sup>

۱. استادیار میکروبیولوژی، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۲. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

\*نشانی برای مکاتبه: گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشگاه مازندران، بابلسر. رایانامه M.Mohseni@umz.ac.ir

پذیرش برای چاپ: تیر نود و پنج

دریافت مقاله: اردیبهشت نود و پنج

### چکیده

**سابقه و هدف:** استافیلوکوکوس اورئوس یکی از عوامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی به شمار می‌رود. از دهه ۱۹۹۰ اولین استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) ظاهر گردید و به واسطه وجود ژن *mecA* به تمامی بتالاکتام‌ها مقاوم گردید. علاوه بر این MRSA با در بر گرفتن دامنه وسیعی از عفونت‌های پوست و بافت نرم تا پنومونی، به یک نگرانی جهانی مبدل گشته است. هدف از مطالعه حاضر تعیین شیوع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین با روش‌های فنوتیپی و ژنوتیپی از نمونه‌های بالینی استان مازندران بود.

**روش کار:** تعداد ۱۱۸ نمونه بالینی از بیمارستان‌های آموزشی بابل و ساری جمع‌آوری گردید. پس از تعیین هویت جدایه‌ها توسط آزمون‌های متداول، مقاومت آن‌ها به متی‌سیلین با روش‌های انتشار از دیسک سفوکسیتین، پلیت غربالگری اگزاسیلین و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ژن *mecA* سنجیده شد. همچنین حساسیت جدایه‌ها نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها مطابق آخرین دستورالعمل CLSI ارزیابی شد.

**یافته‌ها:** از مجموع نمونه‌های بالینی جمع‌آوری شده، تعداد ۱۰۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس بود. نتایج سنجش حساسیت به متی‌سیلین با روش‌های انتشار از دیسک سفوکسیتین و غربالگری اگزاسیلین آگار نشان داد که به ترتیب ۶۶ و ۷۱ درصد از جدایه‌ها، مقاوم به متی‌سیلین بودند. در حالی که نتایج واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، حضور ژن *mecA* در ۸۱ درصد از جدایه‌ها را نشان داد. همچنین بررسی الگوی مقاومت جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین و آموکسی‌سیلین (۱۰۰ درصد) و کم‌ترین مقاومت نسبت به نیتروفوران‌توئین (صفر درصد) بود. همچنین سویه‌های MRSA به حداقل ۱۰ آنتی‌بیوتیک دیگر نیز مقاوم بودند.

**نتیجه‌گیری:** روش‌های فنوتیپی سنجش حساسیت به متی‌سیلین، قابل اعتماد نیستند. بنابراین لازم است این نتایج با روش‌های ژنوتیپی مانند واکنش زنجیره‌ای پلیمرز نیز تأیید گردد. به علاوه به دلیل افزایش مقاومت روزافزون سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس به آنتی‌بیوتیک‌ها، تشخیص سریع و تجویز مناسب و منطقی آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر جهت پیشگیری از افزایش مقاومت دارویی، ضروری است.

**واژگان کلیدی:** استافیلوکوکوس اورئوس، مقاومت به متی‌سیلین، مازندران

### مقدمه

استئومیلیت در افراد بستری در بیمارستان‌ها و از عوامل شایع مرگ و میر در بیماران تحت همودیالیز، مراقبت‌های ویژه و همچنین بیماران بخش جراحی است (۱-۳). قدرت تهاجمی استافیلوکوکوس اورئوس هم به عوامل بیماری‌زایی متعدد و هم به توانایی اکتساب مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بر

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای باکتریایی در انسان و حیوانات است. این باکتری به همراه باکتری‌هایی چون سودوموناس آئروجینوزا، اشریشیا کولی و اسینتوباکتر از عوامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شود. استافیلوکوکوس اورئوس مسئول بسیاری از عفونت‌های حاد و تهاجمی مانند سپتی‌سمی، اندوکاردیت و

روش مناسب با صرف کمترین زمان و هزینه، که در عین حال از اطمینان بالایی برخوردار باشد نیاز به تحقیق و بررسی بیشتر دارد. در این مطالعه فراوانی سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین با سه روش انتشار از دیسک سفوکسیتین، پلیت غربالگری اگزاسیلین و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ژن *mecA* در نمونه‌های بالینی جمع‌آوری شده از برخی بیمارستان‌های مازندران بررسی شده است.

### روش کار

نمونه‌های بالینی در دوره زمانی بهمن ۱۳۹۳ تا آبان ۱۳۹۴ از بیمارستان‌های آیت‌الله روحانی، شهید بهشتی و شهید یحیی نژاد بابل و نیز بیمارستان سوانح سوختگی زارع ساری جمع‌آوری شد. تعداد ۱۱۸ نمونه مشکوک به استافیلوکوکوس اورئوس، از بخش‌های مختلف بیمارستان و از منابع مختلف بالینی شامل خون، زخم، اسپوتوم، ادرار و مایع سینوویال جمع‌آوری و در محیط کشت بلاد آگار، به آزمایشگاه منتقل گردید. شناسایی نمونه‌های جمع‌آوری شده با بررسی صفات مورفولوژی نظیر شکل باکتری و واکنش گرم و نیز مطالعه صفات فیزیولوژی به کمک آزمون‌های تشخیصی کاتالاز، کواگولاز، رشد و تخمیر مانیتول در محیط کشت مانیتول سالت آگار و DNase انجام شد. تمامی جدایه‌ها شماره گذاری شدند و تا انجام مراحل بعدی آزمایش در گلیسرول ۱۵ درصد و دمای ۸۶- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای سنجش حساسیت باکتری‌ها از روش انتشار از دیسک مطابق دستورالعمل CLSI استفاده شد (۱۱). در این روش از دیسک‌های استاندارد آنتی‌بیوتیک (شرکت پادتن طب ایران) شامل جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، آموکسی کلاولانیک اسید (۳۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، آموکسی‌سیلین (۲۵ میکروگرم)، نیتروفورانئوئین (۳۰۰ میکروگرم)، ریفامپین (۵ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم) و تری متوپریم سولفومتوکسازول (۳۰ میکروگرم) استفاده شد. پس از تلقیح باکتری‌ها در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار، دیسک‌های آنتی‌بیوتیک در فواصل معین روی آگار قرار داده شد. هم‌چنین از استافیلوکوکوس اورئوس سویه ATCC25923 به عنوان سویه کنترل مثبت استفاده شد.

می‌گردد. به طوری که در مدت کوتاهی پس از استفاده از آنتی‌بیوتیک، اولین سویه‌های مقاوم به آن ظاهر شدند (۴). در اوایل دهه ۱۹۴۰ پنی‌سیلین برای درمان عفونت‌های انسانی معرفی شد و اولین سویه‌های مقاوم به آن در سال ۱۹۴۲ ایجاد شدند (۵). این سویه‌ها نوعی آنزیم بتالاکتاماز به نام پنی‌سیلیناز تولید می‌کنند که توسط ژن‌های پلاسمیدی کد می‌شود و با هیدرولیز حلقه بتالاکتام، از عملکرد پنی‌سیلین جلوگیری می‌نماید (۶). در سال ۱۹۵۹، اولین پنی‌سیلین نیمه صناعی به نام متی‌سیلین، برای غلبه بر مشکلات ناشی از سویه‌های مقاوم به پنی‌سیلین معرفی شد. در فاصله زمانی نسبتاً کوتاهی یعنی در سال ۱۹۶۱، اولین گزارش مربوط به مقاومت به متی‌سیلین، منتشر شد و پس از آن تعداد سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) با سرعت زیادی افزایش یافت به طوری که در دهه ۱۹۸۰، درمان تجربی بسیاری از عفونت‌های استافیلوکوکی از متی‌سیلین به ونکومایسین تغییر یافت (۷). مقاومت به متی‌سیلین در استافیلوکوکوس اورئوس با حضور ژن *mecA* تأیید می‌شود. این ژن بخشی از یک عنصر ژنتیکی متحرک به نام کاست کروموزومی استافیلوکوکی می‌باشد و یک پروتئین متصل شونده به پنی‌سیلین با میل اتصال کم به نام PBP<sub>2a</sub> کد می‌کند. بنابراین مانع تأثیر بتالاکتام‌ها بر سنتز دیواره سلولی باکتری می‌شود.

استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، یکی از علل اصلی و شناخته شده عفونت‌های بیمارستانی است. حدود ۵۰ درصد عفونت‌های بیمارستانی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس در ایالات متحده ناشی از MRSA است (۸). امروزه فراوانی سویه‌های MRSA در اغلب کشورهای جهان بیش از ۶۰ درصد است. در ایران نیز در شهرهای گوناگون نرخ این سویه‌ها در سال‌های اخیر افزایش چشمگیری داشته است. از گذشته سویه‌های MRSA صرفاً به عنوان یک عامل بیماری‌زای بیمارستانی در نظر گرفته می‌شد اما امروزه به عنوان یک عامل بیماری‌زای اکتسابی از جامعه پدید آمده است و بر سلامت افراد بدون فاکتورهای خطر شناخته شده برای کسب آن تأثیر گذار است (۹). این سویه‌ها به دلیل حمل کاست‌های کروموزومی، علاوه بر متی‌سیلین به چندین دارو مقاومت نشان داده و همین امر درمان آن‌ها را با مشکل مواجه کرده است (۱۰).

بحث در مورد سنجش حساسیت به متی‌سیلین بسیار گسترده است و علیرغم مطالعات بسیار در این زمینه، هنوز انتخاب یک

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ژن *mecA*: برای شناسایی ژن مقاومت به متی‌سیلین ابتدا DNA ژنومی باکتری‌ها به روش استاندارد فنل کلروفرم استخراج شد (۱۳). پس از بررسی کیفی DNA استخراج شده، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ژن *mecA* مطابق برنامه زیر انجام شد. همچنین مشخصات الیگونوکلوئوتید پرایمرهای استفاده شده برای تکثیر ژن *mecA* شامل پرایمرهای *mecA-F* و *mecA-R* در جدول ۱ نشان داده شد (۱۴). دمای واسرشت اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۵ دقیقه بود. سپس ۳۰ چرخه شامل ۳۰ ثانیه دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد و ۲ دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. در نهایت برای تکمیل سنتز DNA، دمای واکنش به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. درستی انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ژن *mecA* با الکتروفورز ژل آگاروز ۰/۸ درصد رنگ‌آمیزی شده با اتیدیوم بروماید تأیید شد (۱۳).

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۱۸ و با استفاده از آزمون کای دو بررسی شد. سطح  $p < 0/05$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. سپس قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها بر حسب میلی‌متر در اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری شد. برای سنجش حساسیت باکتری‌ها به متی‌سیلین از روش‌های زیر استفاده شد:

انتشار از دیسک سفوکسیتین: سوسپانسیونی از کشت تازه باکتری با کدورت ۰/۵ مک فارلند (معادل  $10^8$  cfu ml<sup>-1</sup>) تهیه شد. باکتری‌ها به کمک سواب استریل روی سطح محیط کشت مولر هینتون آگار تلقیح شدند. سپس دیسک استاندارد سفوکسیتین (۳۰ میکروگرم) روی آگار تلقیح شده گذاشته شد (۱۱). قطر هاله عدم رشد پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، اندازه‌گیری و با استفاده از پروتکل شرکت سازنده تفسیر گردید.

غربالگری اگزاسیلین آگار: پلیت‌های غربالگری حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار به همراه ۴ درصد سدیم کلرید و ۸ میکروگرم در میلی‌لیتر آنتی‌بیوتیک اگزاسیلین تهیه شد. کشت تازه باکتری‌ها روی سطح پلیت‌ها تلقیح شد و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۵ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد. رشد باکتری به منزله مقاومت به متی‌سیلین تلقی شد (۱۲).

جدول ۱- مشخصات پرایمرهای اختصاصی ژن *mecA* استفاده شده در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (F، پرایمر رفت و R، پرایمر برگشت)

پرایمر	توالی (5'→3')	درصد GC	دمای اتصال پرایمر (°C)	محصول PCR (bp)	منبع
<i>mecA-F</i>	TTTACGACTTGTTCATACCATC	۳۹/۱	۵۶	۳۱۰	(۱۴)
<i>mecA-R</i>	CAAGATATGAAGTGGTAAATGGT	۳۴/۸			

#### یافته‌ها

استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب از بیمارستان‌های شهید یحیی‌نژاد، آیت الله روحانی و شهید بهشتی بابل جمع‌آوری شدند (جدول ۲).

از مجموع ۱۱۸ نمونه بالینی، تعداد ۱۰۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس بودند. بیشترین تعداد جدایه‌ها مربوط به بیمارستان زارع ساری با فراوانی ۵۵ درصد بود. همچنین تعداد ۱۹، ۱۷ و ۹ جدایه

جدول ۲- درصد فراوانی جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس از نمونه‌های بالینی مختلف در بیمارستان‌ها

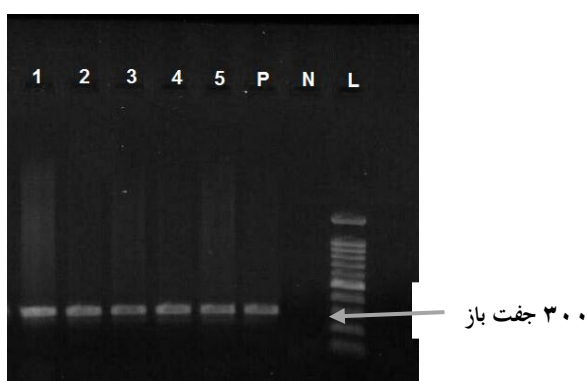
نمونه بالینی	یحیی نژاد (%)	شهید بهشتی (%)	آیت‌الله روحانی (%)	زارع (%)	جمع (%)
زخم	۵	۲	۸	۴۳	۵۸
خون	۵	۶	۲	۱۰	۲۳
اسپوتوم	۶	۲	۲	۲	۱۲
ادرار	۳	۰	۱	۰	۴
مایع سینوویال	۰	۱	۲	۰	۳
جمع	۱۹	۹	۱۷	۵۵	۱۰۰

جدول ۳- میزان حساسیت و مقاومت جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد

آنتی‌بیوتیک (میکروگرم بر دیسک)	مقاوم (%)	نیمه حساس (%)	حساس (%)
سفوکسیتین (۳۰)	۶۶	۰	۳۴
جنتامایسین (۱۰)	۶۱	۲۶	۱۳
آمپی‌سیلین (۱۰)	۱۰۰	۰	۰
آموکسی‌سیلین (۲۵)	۱۰۰	۰	۰
پنی‌سیلین (۱۰)	۱۰۰	۰	۰
آموکسی‌کلاو (۳۰)	۶۹	۰	۳۱
اریترومایسین (۱۵)	۶۵	۳۲	۳
تتراسایکلین (۳۰)	۴۹	۶	۴۵
کلیندامایسین (۲)	۵۳	۱۳	۳۴
سیپروفلوکساسین (۵)	۵۶	۷	۳۷
کلرامفنیکل (۳۰)	۱۱	۲۲	۵۷
تری‌متوپریم سولفومتوکسازول (۳۰)	۳۵	۰	۶۵
نیتروفورانتوئین (۳۰)	۰	۰	۱۰۰
ریفامپین (۵)	۳۸	۰	۶۲

۱۵ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس علی‌رغم داشتن ژن *mecA*، نسبت به دیسک سفوکسیتین مقاوم نبودند. هم‌چنین ۱۹ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس فاقد ژن مقاومت به متی‌سیلین بودند و نسبت به دیسک سفوکسیتین نیز حساسیت نشان دادند. از میان پنج جدایه مقاوم به متی‌سیلین (به روش اگزاسیلین آگار)، تعداد دو جدایه واجد ژن *mecA* بودند (جدول ۴).

۶۶ درصد جدایه‌ها با ایجاد هاله عدم رشد به قطر برابر یا بیش از ۱۴ میلی‌متر، مقاوم به متی‌سیلین بودند در حالی که فراوانی جدایه‌های حساس به متی‌سیلین، ۳۴ درصد سنجیده شد. هم‌چنین نتایج سنجش غربالگری باکتری‌ها به روش اگزاسیلین آگار نشان داد که ۷۱ درصد جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و تنها ۲۹ درصد جدایه‌ها حساس به متی‌سیلین بودند. ۸۱ درصد از باکتری‌ها واجد ژن مقاومت به متی‌سیلین بودند (شکل ۱). تعداد



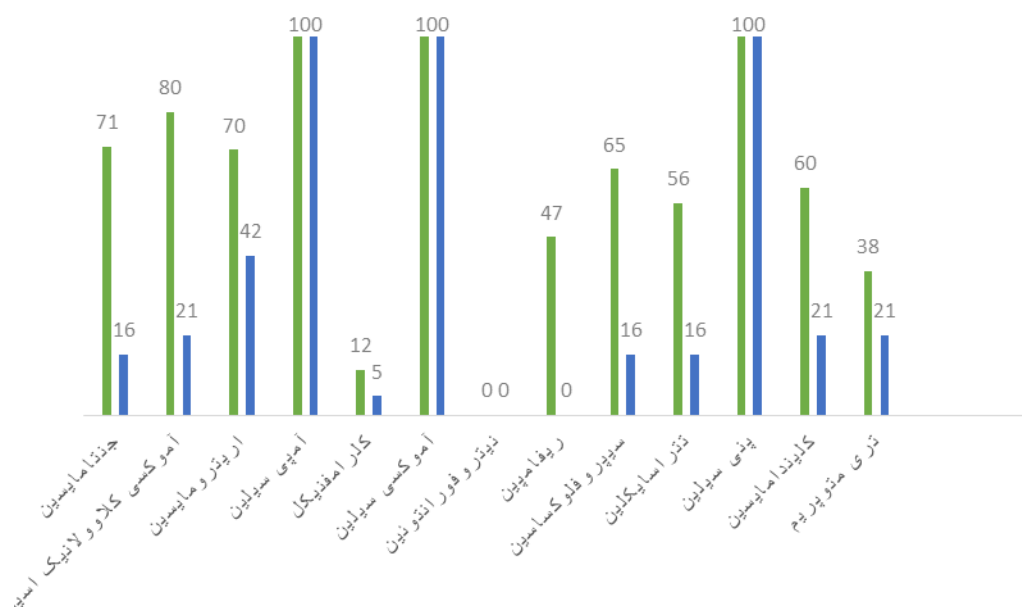
شکل ۱- الکتروفورز ژل آگاروز ژن مقاومت به متی‌سیلین *mecA* با اندازه ۳۱۰ جفت باز در برخی از باکتری‌ها. ردیف‌های ۱ الی ۵: به ترتیب جدایه‌های ۲، ۷، ۱۲، ۱۸ و ۲۳؛ ردیف P: سویه کنترل مثبت؛ ردیف N: سویه کنترل منفی؛ ردیف L: خط‌کش ژنی 1kb.

جدول ۴- نتایج سنجش درصد فراوانی جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) و حساس به متی‌سیلین (MSSA) به کمک روش‌های مختلف

روش‌های غربالگری			استافیلوکوکوس اورئوس
واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ژن <i>mecA</i>	اگزاسیلین آگار	انتشار از دیسک سفوکسیتین	
۸۱	۷۱	۶۶	مقاوم به متی‌سیلین
۱۹	۲۹	۳۴	حساس به متی‌سیلین
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	جمع

تمام جدایه ها شامل جدایه های MRSA و MSSA، نسبت به آنتی بیوتیک های پنی سیلین، آمپی سیلین و آموکسی سیلین مقاوم و به نیتروفوران توئین حساس بودند. در مقابل درصد مقاومت به برخی آنتی بیوتیک ها مانند ریفا مپین، سیپروفلوکساسین، کلیندامایسین و آموکسی کلاو در جدایه های MRSA بسیار بیشتر از جدایه های MSSA بود. به طوری که این جدایه ها، علاوه بر متی سیلین به بیش از ۵ آنتی بیوتیک دیگر نیز مقاوم بودند.

میان روش های فنوتیپی استفاده شده در سنجش حساسیت به متی سیلین تفاوت معنی داری وجود نداشت. هم چنین تفاوت روش غربالگری اگزاسیلین آگار با واکنش زنجیره ای پلیمرز ژن *mecA* از نظر آماری معنی دار نبود. در حالی که میان روش انتشار از دیسک سفوکسیتین و واکنش زنجیره ای پلیمرز ژن *mecA* اختلاف معنی داری وجود داشت ( $p < 0.05$ ).



نمودار ۱- درصد مقاومت به آنتی بیوتیک ها در جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (رنگ سبز) و حساس به متی سیلین (رنگ آبی)

بحث

ترتیب ۷۵، ۸۵ و ۸۳ درصد بود. هم چنین از میان ۸۵ درصد از سویه های مقاوم به دیسک سفوکسیتین، سه سویه از آن ها فاقد ژن *mecA* بودند. حساسیت سه روش فوق به ترتیب ۹۳/۷۵، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد گزارش شد (۲۳). چنین موارد مقاومت کاذب می تواند ناشی از تولید بیش از حد پنی سیلینازها باشد که سبب مقاومت متقاطع به متی سیلین می شود (۱۸).

هوایی و همکاران طی مطالعه ای که در سال ۱۳۹۲ روی ۱۵۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس از بیمارستان های اصفهان انجام دادند، روش های فنوتیپی و ژنوتیپی سنجش مقاومت به متی سیلین را مقایسه کردند. طبق نتایج آنان تعداد ۶۲ جدایه (۴۱/۳۳ درصد) دارای ژن *mecA* بودند. این ۶۲ جدایه نیز با روش های غربالگری اگزاسیلین آگار و انتشار از دیسک سفوکسیتین بررسی شدند که به ترتیب ۵۶ و ۵۳ جدایه نسبت به متی سیلین مقاومت نشان دادند. در واقع حساسیت روش های فنوتیپی به ترتیب ۹۰/۳۳ و ۸۵/۴۸ درصد بود (۱۲). در مطالعه زمانی و همکاران در شهر همدان، فراوانی سویه های مقاوم به متی سیلین با روش انتشار از دیسک متی سیلین / اگزاسیلین، ۳۱/۴ درصد بود. در حالی که فراوانی این سویه ها با روش واکنش زنجیره ای پلیمرز، ۵۰ درصد گزارش گردید. به عبارتی تنها ۱۳ سویه به دیسک متی سیلین / اگزاسیلین مقاوم نبودند در حالی که ژن *mecA* را داشتند (۲۴). نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد که تعداد ۱۵ جدایه علیرغم حساسیت به دیسک سفوکسیتین، حضور ژن *mecA* در آن ها مثبت بود. بنابراین روش انتشار از دیسک، در موارد زیادی نتیجه منفی کاذب به همراه دارد. این حالت می تواند به علت بیان غیر یکنواخت ژن *mecA* باشد. به عبارتی برخی استافیلوکوک ها نسبت به متی سیلین به صورت هتروژن مقاومت نشان می دهند و در این حالت در آزمایش های تعیین حساسیت، به طور کاذب حساس بیان می شوند. چون ژن *mecA* دائما بیان نمی شود در حالی که این ژن ذاتا در این سویه ها وجود دارد (۲۵ و ۲۶). به این ترتیب واکنش زنجیره ای پلیمرز ژن *mecA* روشی سریع و مطمئن برای شناسایی به موقع سویه های *MRSA* است.

در مطالعه زمانی و همکاران، درصد مقاومت به آنتی بیوتیک های مختلف در میان جدایه های *MRSA*، به ترتیب پنی سیلین (۱۰۰ درصد)، تتراسایکلین (۷۴/۲ درصد)، تری متوپریم سولفومتوکسازول (۶۸/۵ درصد)، اریترومایسین (۶۸/۵ درصد)، سفالوتین (۵۴/۷ درصد)، جنتامایسین (۴۲/۸ درصد) و ریفامپین (۱۱/۴ درصد) گزارش شد. در مطالعه حاضر نیز میزان مقاومت به پنی سیلین در تمام جدایه های *MRSA* و *MSSA*، ۱۰۰ درصد بود (۲۵). البته مقاومت به جنتامایسین و ریفامپین در مطالعه زمانی و همکاران در مقایسه با نتایج حاصل از پژوهش حاضر کمتر است. در این رابطه باید گفت علاوه بر عوامل متعددی که در نتایج آنتی بیوگرام

مقاومت به متی سیلین از جمله عواملی است که درمان عفونت های استافیلوکوکی را با مشکل مواجه کرده است و سویه های مقاوم به متی سیلین، اغلب به چندین داروی دیگر نیز مقاوم هستند. علاوه بر این، سویه های مقاوم به متی سیلین و به ویژه انواع اکتسابی از جامعه، مسئول طیف وسیعی از عفونت ها می باشند. شیوع مقاومت به متی سیلین با گذشت زمان روندی تصاعدی داشته و این امر نگران کننده است (۱۵). در مطالعه ای که در سال ۲۰۱۲ توسط هوایی و همکاران در تهران انجام گرفت، از ۱۱۷ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس مورد مطالعه، تعداد ۱۱۵ جدایه (۶۷ درصد) *MRSA* بودند (۱۶). در پژوهش ملاعباس زاده و همکاران در تبریز و نیز مطالعه دارایی و همکاران در تهران، نرخ مقاومت به متی سیلین بسیار بالا بوده و به ترتیب ۹۱ و ۹۰ درصد گزارش گردید (۱۷ و ۱۸). طی مطالعه ای که در سال ۲۰۱۳ توسط والدنبرگر و همکاران در آلمان صورت گرفت، فراوانی سویه های *MRSA*، ۶۳ درصد گزارش شد (۱۹). هم چنین در مطالعه مشابهی که در سال ۲۰۱۲ توسط گراس و همکاران در فرانسه انجام شد نیز فراوانی سویه های *MRSA*، ۷۰/۳ درصد بود (۲۰). نتایج این گزارشات حاکی از افزایش مقاومت روزافزون سویه های استافیلوکوکوس اورئوس به متی سیلین، در مناطق مختلف جهان است.

در پژوهش حاضر شیوع جدایه های *MRSA* بالا بود اما با توجه با اینکه اکثر جدایه ها (۶۳ درصد) مربوط به بیماران سوختگی بود قابل توجه است. این نتایج با سایر مطالعات انجام شده روی عفونت زخم در بیماران سوختگی ایران، مطابقت دارد (۲۱). در این پژوهش حساسیت به متی سیلین در ۱۰۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس، با روش های فنوتیپی انتشار از دیسک سفوکسیتین و غربالگری اگزاسیلین آگار سنجیده شد. هم چنین حضور ژن *mecA* در تمامی جدایه ها از طریق واکنش زنجیره ای پلیمرز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که فراوانی سویه های مقاوم به متی سیلین از طریق روش های انتشار از دیسک و غربالگری اگزاسیلین به ترتیب ۶۶ و ۷۱ درصد بود. این در حالی است که حضور ژن *mecA* در ۸۱ درصد جدایه ها مثبت بود. هم چنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در روش های فنوتیپی، هیچ نتیجه مثبت کاذب مشاهده نشد در حالی که در برخی مطالعات مقاومت کاذب به متی سیلین دیده شد. به طور مثال سکووزکا و همکاران در سال ۲۰۰۵، حساسیت ۲۱۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به متی سیلین را با روش های فنوتیپی و واکنش زنجیره ای پلیمرز بررسی کردند. در مطالعه آنان، سه جدایه مقاوم به متی سیلین به روش های فنوتیپی، فاقد ژن *mecA* بودند (۲۲). در مطالعه رضازاده و همکاران در شهر اراک (۲۰۱۴)، تعداد سویه های *MRSA* با روش انتشار از دیسک اگزاسیلین و سفوکسیتین و نیز روش واکنش زنجیره ای پلیمرز، به

سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی‌سیلین نسبت به داروهای چون پنی‌سیلین، آموکسی‌سیلین و آمپی‌سیلین مقاوم‌اند. مقاومت به سایر داروها نیز در حال گسترش است. این امر ضرورت به کارگیری استراتژی مناسب در استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های کارآمد مانند ونکومایسین و نیتروفورانتوئین را تأیید می‌کند.

**نتیجه‌گیری:** روش‌های فنوتیپی سنجش حساسیت به متی‌سیلین، قابل اعتماد نیستند. بنابراین لازم است این نتایج با روش‌های ژنوتیپی مانند واکنش زنجیره‌ای پلیمرز نیز تأیید گردد. به علاوه به دلیل افزایش مقاومت روزافزون سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس به آنتی‌بیوتیک‌ها، تشخیص سریع و تجویز مناسب و منطقی آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر جهت پیشگیری از افزایش مقاومت دارویی، ضروری است.

دخیل‌اند، فاصله زمانی پژوهش انجام شده توسط زمانی و همکاران (۱۳۸۶) با پژوهش حاضر (۱۳۹۴) امری مهم و تأثیرگذار است. به ویژه افزایش روزافزون مقاومت به جنتامایسین که تا چند سال گذشته به عنوان یک داروی انتخابی مورد استفاده پزشکان قرار می‌گرفت، امری مهم و نگران کننده است. در مطالعه ماریم و همکاران که در سال ۲۰۱۳ در بیمارستان‌های تونس انجام گردید، الگوی مقاومت دارویی جدایه‌های مقاوم به متی‌سیلین اکتسابی از جامعه و اکتسابی از بیمارستان تعیین و با یکدیگر مقایسه شد. فراوانی مقاومت به تتراسایکلین (۸۸ درصد)، سیپروفلوکساسین (۴۵ درصد)، جنتامایسین (۳۸ درصد)، سولفومتوکسازول (۱۵ درصد)، کلیندامایسین (۱۸ درصد) و کلرامفنیکل (۷/۵ درصد) گزارش گردید که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر تقریباً مشابه است (۲۷). نتایج حاصل از مطالعات گوناگون در سراسر جهان بیانگر افزایش مقاومت چند دارویی در سویه‌های MRSA است. امروزه تمام

## REFERENC

1. Kluytmans J, van Belkum A, & Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clinical Microbiology Reviews* 1997; 10(3):505–520.
2. Fierobe L, Decré D, Müller C, Lucet J C, Marmuse J P, Mantz J et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a causative agent of postoperative intra-abdominal infection: relation to nasal colonization. *Clinical Infectious Diseases* 1997; 29(5):1231–1238.
3. Saderi H, Owlia P, Zafarghandi N, Jalali Nadoshen M. Evaluation of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from nose of two teaching hospitals staff of Shahed University. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences* 2004; 14(42):69-75. [In Persian]
4. Özgen, C. Antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* infection studies in hospitals. PhD thesis in Biochemistry, Middle East University, Turkey 2008.
5. Soltani H K, Rasoolinejad M, Gholami K, & Abdollahi A. Antimicrobial susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* strains isolated from hospitalized patients in Tehran, Iran. *Research in Pharmaceutical Sciences* 2010; 6(2):125-132.
6. Graves S F. *Staphylococcus aureus* Pantone-Valentine leukocidin (PVL) alters human neutrophil viability and function. PhD thesis in Biomolecular structure and dynamics 2011. University of Montana, USA.
7. Lowy, F D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Investigation* 2003; 111(9):1265-1273.
8. Folden D V, Machayya J A, Sahmoun A E, Beal J R, Holzman G S, Helgeson S D et al. Estimating the proportion of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*:



two definitions used in the USA yield dramatically different estimates. *Journal of Hospital Infection* 2005; 60(4):329–332.

9. Chen J, Luo Y, Zhang S, Liang Z, Wang Y, Zhang Y et al. Community-acquired necrotizing pneumonia caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* producing Pantone-Valentine leukocidin in a Chinese teenager: case report and literature review. *International Journal of Infectious Diseases* 2014; 26(5):17–21.

10. Kitara L D, Anywar A D, Acullu D, Odongo-Aginya E, Aloyo J, & Fendu M. Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* in suppurative lesions in Lacor Hospital, Uganda. *African health sciences* 2011; 11(3):34–39.

11. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty third informational supplement 2013.

12. Havaei S A, Moghim S H, Shahin M, Azimian A, Ghanbari F, Shokri D et al. A comparison between polymerase chain reaction, oxacillin agar dilution and cefoxitin disk diffusion methods in detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Isfahan Medical School* 2013; 31(232):466-474. [In Persian]

13. Mohseni M, Haromar S, Chaichi M, & Alijanpour-Toloti S. Dermatitis activity of pederin and isolation of endosymbiont bacterium associated with its biosynthesis from *Paederus fuscipes* beetle of Mazandaran, Iran. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences* 2014; 23(2):2-13.

14. Shrestha B, Singh W, Raj V S, Pokhrel B M., & Mohapatra T M. High Prevalence of Pantone-Valentine Leukocidin (PVL) Genes in Nosocomial-Acquired *Staphylococcus aureus* Isolated from Tertiary Care Hospitals in Nepal. *BioMed Research International* 2014; 3(5):1-7.

15. Enany S, Yaoita E, Yoshida Y, Enany M & Yamamoto T. Molecular characterization of Pantone-Valentine leukocidin-positive community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Egypt. *Microbiological Research* 2010; 165(2):152–162.

16. Havaei S A, Azimian A, Fazeli H, Naderi M, Ghazvini K, Samiee S M et al. Genetic characterization of methicillin resistant and sensitive, vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* strains isolated from different Iranian Hospitals. *ISRN Microbiology* 2012; 2(3):1-6.

17. Mollaa-abbaszadeh H, Mobaiyen H, Mirzaei H. Determination of prevalence and antibiotic resistance pattern of *Staphylococcus aureus* isolated from hospitalized patients of Imam-Reza and Shohada hospitals in Tabriz. *Journal of Microbial Biotechnology of Islamic Azad University* 2012; 3(9):45-50. [In Persian]

18. Darabi N, Habibollahi H, Shahbadian K. Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* isolated from patients and personnel in army hospitals. *Annals of Military and Health Sciences Research* 2010; 8(3):193-199. [In Persian]

19. Waldenburger S, Vogel U, Goebeler M, & Murer A. Community-acquired skin infections caused by *Staphylococcus aureus*: What is the role of the Pantone-Valentine leukocidin toxin?. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* 2014; 12(1):59–66.

20. Gros C, Yazdanpanah Y, Vachet A, Roussel-Delvallez M, Senneville E, & Lemaire X. Skin and soft tissue infections due to Panton-Valentine leukocidin producing *Staphylococcus aureus*. *Médecine et Maladies Infectieuses* 2012; 42(10):488–494.
21. Hoveizavi H, Khosravi A D, Farshadzadeh Z. The prevalence of genes encoding leukocidins in both methicillin resistant and methicillin sensitive strains of *Staphylococcus aureus* isolated from burn patients in Taleghani hospital, Ahvaz. *Journal of microbial world* 2010; 3(1):48-55. [In Persian]
22. Cekovska Z, Panovski N, & Petrovska M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: comparison of susceptibility test methods with *mecA* gene analysis for determining oxacillin (methicillin) resistance in our clinical isolates. *Bratisl Lek Listy* 2005; 106(4-5):163–167.
23. Rezazadeh M, Yousefi Mashouf R, Sarmadian H, Ghaznavi-Rad E. Comparison of disk diffusion and “PCR” methods for determination of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains. *Iranian South Medical Journal* 2014; 17(3):280-289. [In Persian]
24. Zamani A, Sadeghian S, Najafi Mosleh M, Goodarzi M T, Yousefi Mashouf R., Ghaderkhani J. Detection of Methicillin-Resistance Gene (*mec-A*) in *Staphylococcus aureus* strains by PCR and Determination of Antibiotic Sensitivity. *Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences* 2007; 14(3):54-58. [In Persian]
25. Sabath L D. Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics in strains of *Staphylococcus aureus*. *Annals of Internal Medicine* 1982; 97(3):339–344.
26. Felten A, Grandry B, Lagrange P H, & Casin I. Evaluation of three techniques for detection of low-level methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a disk diffusion method with cefoxitin and moxalactam, the Vitek 2 system, and the MRSA-screen latex agglutination test. *Journal of Clinical Microbiology* 2002; 40(8):2766–2771.
27. Mariem B J J, Ito T, Zhang M, Jin J, Li S, Ilhem B B B et al. Molecular characterization of methicillin-resistant Panton-valentine leukocidin positive *Staphylococcus aureus* clones disseminating in Tunisian hospitals and in the community. *BMC Microbiology* 2013; 13(2):1-8.