

## دارای رتبه علمی-پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

### فراوانی و الگوی مقاومت دارویی جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین جدا شده از عفونت های بیمارستانی

#### چکیده:

**زمینه و هدف:** استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (*MRSA*) یکی از عوامل بیماری زای اصلی درگیر در عفونت های بیمارستانی است. افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی این سویه ها، درمان این عفونت ها بسیار دشوار نموده است. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی و الگوی مقاومت دارویی جدایه های *MRSA* جدا شده از عفونت های بیمارستانی بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه ۱۰۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه های بالینی شامل ادرار، خون، زخم، گلو، خلط، مایع مغزی نخاعی، کاتتر و سایر ترشحات چرکی از بیماران بستری در بیمارستان مورد بررسی قرار گرفتند. تعیین هویت جدایه ها با استفاده از آزمایش های بیوشیمیایی انجام گرفت. سویه های *MRSA* با استفاده از روش آگار اسکرینینگ جدا سازی شدند و سپس الگوی مقاومت دارویی آن ها با استفاده از روش انتشار دیسک تعیین شد.

**یافته ها:** از میان ۱۰۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس ۶۵ جدایه *MRSA* بودند. مقاومت دارویی جدایه های *MRSA* نسبت به اکثر آنتی بیوتیک های مورد بررسی بالا بود: پنی سیلین ۱۰۰ درصد، آگزاسیلین ۱۰۰ درصد، نیتروفورانتوئین ۸۰ درصد، تتراسایکلین ۶۳ درصد، اریترومايسين ۵۸/۴ درصد، جنتامایسین ۴۶ درصد، کلیندامایسین ۳۳/۸ درصد، کوتریماکسازول ۳۵/۳ درصد و سیپروفلوکساسین ۲۶/۱ درصد. همچنین ۳۵ جدایه از سویه های *MRSA* مقاوم دارویی چندگانه داشتند.

**نتیجه گیری:** فراوانی جدایه های *MRSA* و همچنین مقاومت آن ها به سایر آنتی بیوتیک ها بالا بود.

**واژه های کلیدی:** مقاومت دارویی، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، (MDR) مقاوم به چند دارو

#### پرینسپال

کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، اصفهان، ایران

#### وجیهه کرباسی زاده

استادیار میکروبیولوژی، دانشکده ی علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران

#### نقیسه السادات نقوی

استادیار میکروبیولوژی، دانشکده ی علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران

#### نویسنده مسئول: وجیهه کرباسی زاده

پست الکترونیک: karbasizade@iaufala.ac.ir

تلفن: ۰۹۱۳۳۰۹۹۴۴۲

آدرس: آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، گروه میکروبیولوژی، اصفهان، ایران

دریافت: ۹۳/۳/۳۱

ویرایش پایانی: ۹۳/۸/۷

پذیرش: ۹۳/۹/۹

#### آدرس مقاله

بهشود پ، کرباسی زاده و، نقوی ن " فراوانی و الگوی مقاومت دارویی جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین جدا شده از عفونت های بیمارستانی " مجله علوم آزمایشگاهی، خرداد و تیر ۹۴، دوره نهم (شماره ۲): ۸۵-۹۰

## مقدمه

باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به عنوان یک عامل بیماری زای بسیار قوی که قادر است عفونت های متعددی را ایجاد کند، شناخته شده است (۱). این باکتری بعد از *اشریشیا کلی* دومین عامل عفونت های بیمارستان بستری در بیمارستان ها می باشد (۲) و به علت دارا بودن عوامل متعدد بیماری زایی مانند انواع سموم و عوامل آسیب زای سلولی، حدت بالایی داشته و طیف گسترده ای از بیماری ها مانند: مسمومیت غذایی، عفونت های جلدی، باکتریومی خطرناک منجرشونده به اندوکاردیت، مننژیت، استئومیلیت حاد و آبسه های منشر را ایجاد می کند. امروزه جدایه های مقاوم به چند دارو *استافیلوکوکوس اورئوس* (MDR) Multi-Resistant Drug نیز به علت ایجاد مشکلاتی در درمان عفونت های بیمارستانی مورد توجه قرار گرفته اند. جدایه های MDR *استافیلوکوکوس اورئوس* می توانند منشا عفونت های موردی یا اپیدمی های بیمارستانی شوند (۳). از آنجایی که داشتن اطلاعات اپیدمیولوژیک در خصوص الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین، امکان انتخاب داروی درمانی مناسب، برای آن ناحیه را فراهم می سازد. هدف از این تحقیق، فراوانی و تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های (Methicillin-resistant) (MRSA) *Staphylococcus aureus* جدا شده از عفونت های بیمارستانی بود.

## روش بررسی

در این مطالعه توصیفی و مقطعی، ۱۰۰ نمونه عفونت بیمارستانی شامل: ادرار، خون، زخم، گلو، خلط، مایع مغزی نخاعی، کاتتر و سایر ترشحات چرکی از بیمارستان بستری در بیمارستان های شهر اصفهان در سال ۱۳۹۳، مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه ها از بیمارانی که بعد از دو روز بستری (۴۸ ساعت به بعد از پذیرش اولیه بیمار) دچار عفونت بیمارستانی شده و کشت نمونه آن ها برای اولین بار مثبت گردیده بود، دریافت گردید. نمونه ها ابتدا بر روی محیط های کشت بلاد آگار (مرک، آلمان) کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردیدند. بر اساس رنگ آمیزی گرم بر روی کوکسی های گرم مثبت کاتالاز مثبت،

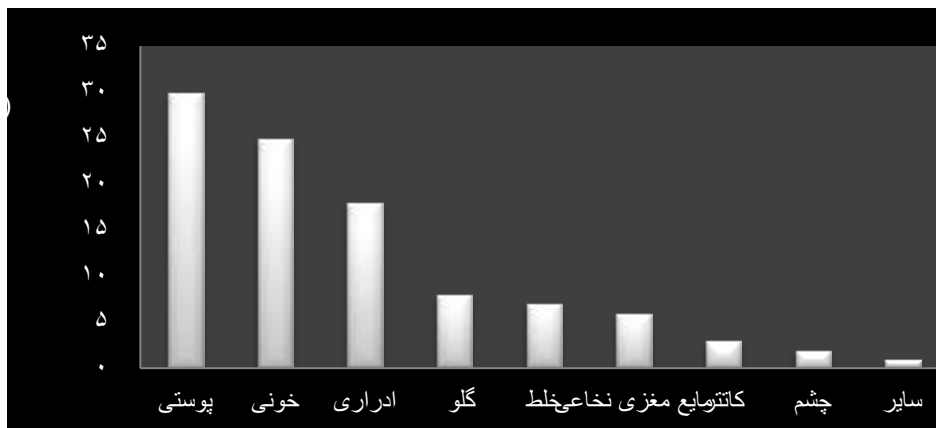
آزمایش های تکمیلی بیوشیمیایی مربوطه مانند: تست تخمیر مانیتول (مرک، آلمان)، تست کوآگولاز و تست DNase (مرک، آلمان) انجام شد و جدایه های کوآگولاز مثبت، DNase مثبت به عنوان *استافیلوکوکوس اورئوس* تعیین هويت شدند. جهت جداسازی جدایه های مقاوم به متی سیلین (MRSA) از روش آگار اسکرینینگ استفاده شد. برای این منظور ابتدا محیط مولر هیتتون آگار (مرک، آلمان) حاوی ۴ درصد نمک و ۶ میکروگرم در میلی لیتر اگراسیلین (Sigma, St Louis, USA) تهیه گردید (۴). سپس سوسپانسیونی معادل کدورت ۰/۵ مک فارلند ( $10^8 \times 1/5 \text{ cfu/ml}$ ) از جدایه ها تهیه شد و  $10^8$  میکرولیتر از آن ها به شکل نقطه ای روی محیط کشت، کشت داده شد. جدایه هایی که قادر به رشد بروی این محیط بودند، به عنوان MRSA در نظر گرفته شدند. برای تعیین مقاومت *استافیلوکوکوس های* مقاوم به متی سیلین طبق دستورالعمل انستیتو استاندارد آزمایشگاه و بالین (CLSI) از روش انتشار دیسک در آگار از ۹ دیسک آنتی بیوتیکی ک (روسکو، دانمارک) استفاده شد. از دیسک سفوکسیتین (۱۰ میکروگرم) به جای دیسک اگراسیلین (۱ میکروگرم) طبق دستورالعمل CLSI استفاده شد (۴). دیسک های آنتی بیوتیکی با رعایت شرایط آسپتیک در سطح پلیت ها قرار داده شدند. پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته، قطر هاله ی عدم رشد باکتری ها اندازه گیری و پس از مقایسه با جداول مرجع ارائه شده توسط CLSI مقاومت یا حساسیت باکتری ها نسبت به هر آنتی بیوتیک تعیین شد.

## یافته ها

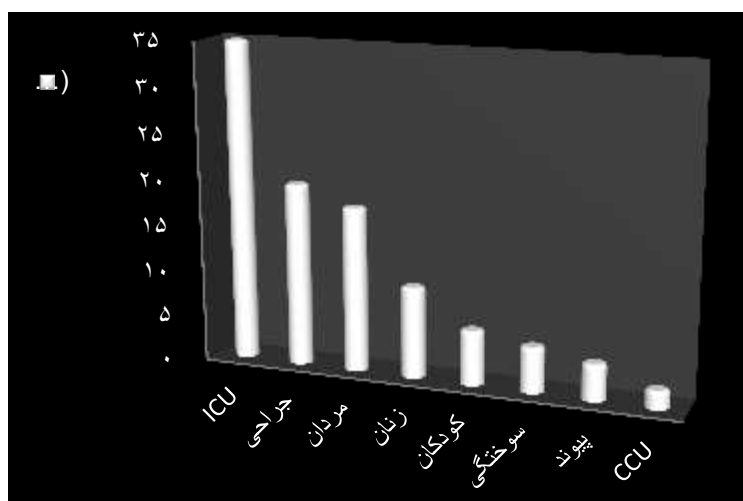
از میان ۱۰۰ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از عفونت های بیمارستانی، ۶۵ جدایه (۶۵٪) مقاوم به متی سیلین (MRSA) جداسازی شد. در این مطالعه درصد توزیع جدایه های MRSA در مردان ۵۲ جدایه (۸۰٪) و در زنان ۱۳ جدایه (۲۰٪) بود. درصد فراوانی جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* در عفونت های بیمارستانی متفاوت بود و در بین نمونه های جمع آوری شده، نمونه های پوستی (زخم، آبسه و

کمترین جدایه های MRSA مربوط به بخش قلب بود (شکل ۲). در الگوی مقاومت دارویی جدایه های MRSA، ۵۳/۸ درصد (۳۵ جدایه) از جدایه های MRSA نیز MDR بودند (جدول ۱).

سوخستگی، خون وادرار بیشترین میزان فراوانی را داشتند و نمونه های چشم و نمونه های متفرقه کمترین میزان فراوانی را داشتند (شکل ۱). همچنین بیشترین جدایه های MRSA مربوط به بخش مراقبت ویژه (ICU) و



شکل ۱- درصد توزیع جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس در عفونت های بیمارستانه



شکل ۲- درصد توزیع جدایه های MRSA به تفکیک بخش های بیمارستان

جدول ۱- الگوی مقاومت دارویی ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین

آنتی بیوتیک ها	% مقاوم (تعداد)	% نیمه حساس (تعداد)	% حساس (تعداد)
آگزاسیلین	۱۰۰ (۶۵)	۰ (۰)	۰ (۰)
پنی سیلین	۱۰۰ (۶۵)	۰ (۰)	۰ (۰)
نیتروفوراتونین	۸۰ (۵۲)	۲۰ (۱۳)	۰ (۰)
تتراسایکلین	۶۳ (۴۱)	۳۲/۳ (۲۱)	۴/۶ (۳)
اریترومايسين	۵۸/۴ (۳۸)	۳۰/۷ (۲۰)	۱۰/۷ (۷)
جتنامايسين	۴۶/۱ (۳۰)	۳۵/۳ (۲۳)	۱۸/۴ (۱۲)
کوتریماسازول	۳۵/۳ (۲۳)	۱۸/۴ (۱۲)	۴۶/۱ (۳۰)
کلیندامایسین	۳۳/۸ (۲۲)	۳۵/۳ (۲۳)	۳۰/۷ (۲۰)
سیپروفلوکساسین	۲۶/۱ (۱۷)	۴۳/۲ (۲۸)	۳۰/۷ (۲۰)

## بحث

مطالعات در نقاط مختلف جهان حاکی از آن است که طی ۵ دهه گذشته *استافیلوکوکوس های مقاوم* به متی سیلین در حال افزایش می باشند، میزان شیوع MRSA در ایالت متحده آمریکا، پرغال، ایتالیا، هند و ایران به ترتیب برابر با ۵۰ تا ۲۵ درصد، ۵۴ درصد، ۴۳ تا ۵۸ درصد، ۴۰ درصد و ۵۰ درصد گزارش شده است (۵). حسینی جزنی و همکاران در سال ۲۰۱۱ میزان شیوع *استافیلوکوکوس مقاوم* به متی سیلین در شهرستان ارومیه را ۱/۶۵ درصد گزارش نمودند که میزان فراوانی جدایه های MRSA در این مطالعه با مطالعه ما کاملاً تطابق داشت (۳). Askari و همکاران در سال ۲۰۱۲ میزان شیوع *استافیلوکوکوس مقاوم* به متی سیلین، در کلیه مقالات منتشر شده در ایران در طی چند سال بررسی کردند و در مقاله مروری خود نرخ شیوع MRSA در ایران را بین ۲۰ تا ۹۰ درصد اعلام نمودند، همچنین میزان شیوع آن در اصفهان را بین ۵۰ تا ۶۰ درصد گزارش نمودند که با توجه به گذشت زمان می توان انتظار افزایش جدایه های مقاوم به دارو را داشت (۶). در پژوهش ما بیشترین جدایه های MRSA مربوط به بخش مراقبت ویژه (ICU) بود. رضا زاده و همکاران نیز در سال ۲۰۱۲ در شهر اراک بیشترین فراوانی جدایه های MRSA را مربوط به بخش های ICU، عفونی و جراحی گزارش کردند (۲) بخش ICU به خاطر شدت بیماری، دوره بستری و استفاده از شیوه های تهاجمی جزء نواحی با خطر بالا برای عفونت های بیمارستانی با *استافیلوکوکوس های مقاوم* به متی سیلین می باشد. در تحقیقات قبلی انجام شده نیز، بیشترین فراوانی عفونت بیمارستانی ناشی از *استافیلوکوکوس مقاوم* به متی سیلین در ارتباط با بخش ICU بوده است (۳، ۷، ۱۰). در این مطالعه بیشترین عفونت های بیمارستانی جمع آوری شده مربوط به نمونه های پوست (زخم، آبسه و سوختگی)، خون و ادرار بود. در مطالعه حسینی جزنی و همکاران در شهرستان ارومیه نیز در بین نمونه های جمع آوری شده نمونه های ادرار، زخم و خون بیشترین فراوانی را داشتند (۲). همچنین در مطالعه زینلی و همکاران در شهر کاشان در بین نمونه های جمع آوری شده نمونه های ادراری، آبسه و زخم بیشترین میزان فراوانی را

داشتند که نتایج این دو مطالعه با نتایج پژوهش ما کاملاً تطابق داشت (۸). در مطالعه ما جدایه های *استافیلوکوکوس مقاوم* به متی سیلین بیشترین میزان مقاومت را نسبت به آنتی بیوتیک های پنی سیلین (۱۰۰٪)، اگراسیلین (۱۰۰٪)، نیتروفوران توئین (۸۰٪)، تتراسایکلین (۶۳٪)، اریترومايسين (۵۸/۴٪) و کمترین میزان مقاومت را نسبت به کلیندامایسین (۳۳/۸٪) و سیپروفلوکساسین (۲۶/۱٪) نشان دادند. در مطالعه ای که توسط Rahimi و همکاران در سال ۲۰۱۱ در شهر تهران انجام شد، فراوانی جدایه های MDR-MRSA در نمونه های بالینی ۹۳ درصد گزارش گردید. در این تحقیق بیشترین میزان مقاومت نسبت به پنی سیلین (۱۰۰٪)، اگراسیلین (۱۰۰٪)، اریترومايسين (۹۳٪) و تتراسایکلین (۸۳٪) و کمترین میزان مقاومت نسبت به ونکومايسين (۰٪) مشاهده شد که نتایج مقاومت آنتی بیوتیکی این مطالعه شبیه پژوهش ما بود ولی میزان فراوانی MDR-MRSA در این مطالعه با مطالعه ما همخوانی نداشت (۹). در مطالعه زینلی و همکاران در شهر کاشان نیز بیشترین میزان مقاومت نسبت به پنی سیلین (۱۰۰٪)، اگراسیلین (۱۰۰٪)، اریترومايسين (۸۷/۳٪)، تتراسایکلین (۶۶/۷٪) و کمترین میزان مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین (۵۲/۹٪) و ونکومايسين (۰٪) مشاهده شد (۸). همچنین در مطالعه رضازاده و همکاران در سال ۲۰۱۲ در شهر اراک بیشترین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های پنی سیلین (۱۰۰٪)، تتراسایکلین (۸۸/۵٪)، اریترومايسين (۸۱/۵٪) و کمترین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک موپروسین (۰٪) گزارش شد (۲) و در مطالعه ای که توسط Khanal و همکاران در سال ۲۰۱۲ در شهر نپال هندوستان انجام شد، فراوانی سویه های MDR-MRSA ۵۰ درصد گزارش گردید و بیشترین میزان مقاومت در این مطالعه نسبت به آمپی سیلین (۸۳/۳٪)، اریترومايسين (۴۱/۷٪) و کمترین میزان مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین (۳۳/۳٪)، جنتامايسين (۳۳/۳٪) و ونکومايسين (۰٪) مشاهده شد که نتایج حاصل از این سه مطالعه به پژوهش حاضر شباهت داشت (۱۰).

## نتیجه گیری

افزایش مقاومت در عفونت های بیمارستانی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف در شهر اصفهان مشاهده شد.

## تشکر و قدردانی

از مسئولین بیمارستان های عسگریه، غرضی، شریعتی، سوانح سوختگی امام موسی کاظم (ع)، امین که در انجام این پژوهش با ما همکاری لازم را داشتند، سپاسگزاریم.

## References

1. Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE. *Staphylococcal enterotoxins*. Toxins (Basel) 2010; 2 (8): 2177-97. doi: 10.3390/toxins2082177.
2. Rezazadeh M, Yousefi Mashouf R, Sarmadyan H, Ghaznavi-Rad E. *Antibiotic profile of methicillin-resistant Staphylococcus aureus with multiple-drug resistances isolated from nosocomial infections in Vali-Asr Hospital of Arak*. Arak Medical University Journal (AMUJ) 2013; 16(71): 29-37.[Persian]
3. Hosseini Jazani N, Garebaghi N, Sabernia N. *Epidemiology of Vancomycin and Oxacillin Resistant Staphylococcus Aureus Clinical Isolates in Urmia*. Urmia Medical Journal. 2013; 24 (9): 665-672.[Persian]
4. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-Third Informational Supplement:M100-S23*. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2013.
5. Hassanzadeh S, Pourmand MR, Hadadi A, Nourijeylani K, Yousefi M, Mashhadi R, et al. *Frequency and Antimicrobial Resistance Patterns of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Tehran*. J Med Bacteriol. 2013; 2(3,4): 41-46.
6. Askari E, Soleymani F, Arianpoor A, Tabatabai SM, Amini A, Naderinasab M. *Epidemiology of mecaA-Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in Iran:A Systematic Review and Meta-analysis.Iran*. J Basic Med Sci. 2012; 15(5): 1010-9. PMID: 23493646.
7. Leung EC, Lee MK, Lai RW. *Admission Screening of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus with Rapid Molecular Detection in Intensive Care Unit: A Three-Year Single-Centre Experience in Hong Kong*. ISRN Microbiol. 2013: 140294.
8. Zeinali E, Moniri R, Mousavi S. *Molecular Characterization and Antibiotic Susceptibility Pattern of Methicillin-Resistant S. aureus (MRSA) in Tertiary Care Hospital, Kashan*. ZUMS Journal. 2011; 19(77): 31-40. [Persian]
9. Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie MR. *Antibiotic Resistance Pattern of Methicillin Resistant and Methicillin Sensitive Staphylococcus aureus Isolates in Tehran, Iran*. Jundishapur J Microbiol. 2013; 6(2): 144-149. Doi: 10.5812/jjm.4896
10. Khanal S, Joshi DR, Bhatta DR, Devkota U, Pokhrel BM.  *$\beta$ -Lactamase-Producing Multidrug-Resistant Bacterial Pathogens from Tracheal Aspirates of Intensive Care Unit Patients at National Institute of Neurological and Allied Sciences, Nepal*. ISRN Microbiol. 2013; 2013: 847569. doi:10.1155/2013/847569.

## Frequency and Pattern of Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* Isolated from Nosocomial Infections

### Behshood, P. (MSc)

MSc of Microbiology, Young Researchers and Elite Club, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran

### Karbasizade, V. (PhD)

Assistant Professor of Microbiology, School of Biology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran

### Naghavi, NS. (PhD)

Assistant Professor of Microbiology, School of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Karbasizade, V.

**Email:** karbasizade@iaufala.ac.ir

**Received:** 21 Jun 2014

**Revised:** 29 Oct 2014

**Accepted:** 30 Nov 2014

### Abstract

**Background and Objective:** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a major pathogen involved in nosocomial infections. Because of increasing antibiotic resistance of these strains, treatment of these infections has become very difficult. This study aimed to determine the frequency and drug resistance pattern of MRSA isolates from nosocomial infections in hospitals.

**Material and Methods:** the isolates of *S.aureus* (n= 100) isolated from clinical samples such as: urine, blood, wound, throat, sputum, cerebrospinal fluid, catheter and other purulent discharge from in patients were identified using biochemical tests. MRSA strains were isolated by using agar screening method and then drug resistance pattern of them was determined by disk diffusion method.

**Results:** Out of 100 *S.aureus* strains, 65 (65%) were MRSA. Drug resistance of MRSA isolates to most antibiotics were high: penicillin 100%, oxacillin 100%, nitrofurantoin 80%, tetracycline 63%, erythromycin 58.4%, gentamicin 46.1%, clindamycin 33.8%, cotrimoxazole 35.3% and ciprofloxacin 26.1%. Also 35 of MRSA isolates were multiple drug resistance (MDR).

**Conclusion:** The prevalence of MRSA isolates and also their resistance to other antibiotics were high.

**Keywords:** Drug Resistance, Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*, Multi-Drug Resistant