مجلـــه‌ی علمـــی، پژوهشـــی دانشـــگاه علـــوم پزشـــکی زنجـــان
دوره‌ی ۲۵, شماره‌ی ۱۱۳, بهمن و اسفند ۱۳۹۶, صفـحات ۹۱ تا ۱۰۲

تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و *agr* تایپینگ ایزوله‌های *استافیلوکوکوس ارئوس* جدا شده از ناقلین بینی در پرسنل بیمارستان شهید بهشتی شهر یاسوج

یاسر محمودی موردراز[۱]، دکتر رضا چمن[۲]، سید علی اصغر ملک حسینی[۳]، دکتر اصغر شریفی[۴]، دکتر سید عبدالمجید خسروانی[۴]، محمدطاهر رضانژاد[۵]، مریم حسنی[۶]، رضا محمدی[۷]، دکتر سید سجاد خرم روز[۸]

نویسنده‌ی مسئول: مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج khoramrooz@gmail.com

دریافت: ۹۵/۱۰/۵ پذیرش: ۹۶/۱/۲۷

چکیده

زمینه و هدف: *با توجه به نقش مهم ناقلین بینی استافیلوکوکوس اورئوس در بیمارستان‌ها در انتقال باکتری به سایر پرسنل و بیماران، از این رو هدف از این مطالعه بررسی فراوانی نسبی ناقلین بینی، تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و ژنوتایپینگ استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از پرسنل بیمارستان شهید بهشتی یاسوج با روش* ***agr*** *تایپینگ بود.*

روش بررسی: *در این مطالعه مقطعی- توصیفی تعداد ۳۴۷ نمونه از بینی پرسنل بیمارستان شهید بهشتی یاسوج جهت شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس جمع‌آوری شد. برای تعیین سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین از دیسک سفوکسیتین و تکثیر ژن* ***mecA*** *استفاده شد. الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها نسبت به ۱۵ آنتی بیوتیک و به روش دیسک آگار دیفیوژن بررسی گردید.* ***agr*** *تایپینگ جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس با روش* ***Multiplex-PCR*** *انجام شد.*

یافته‌ها: *تعداد ۹۳ ایزوله (۲۶/۸ درصد) استافیلوکوکوس اورئوس از بینی پرسنل جداسازی شد که از این میان ۹ ایزوله (۵/۳۷ درصد) به‌عنوان سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین شناسایی گردید. گروه‌های* ***agrI*** *(۴۰/۹ درصد) و* ***agrIII*** *(۴۰/۹ درصد) گروه‌های غالب بودند. تمام ایزوله‌ها به پنی‌سیلین (۱۰۰ درصد) مقاوم بودند. مقاومت به اریترومایسین (۱۲/۹ درصد) و کوتریموکسازول (۵/۳۸ درصد) بود. غالب ایزوله‌ها نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها حساس بودند.*

نتیجه گیری: *با توجه به پایین بودن میزان مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده، به نظر می‌رسد که حذف وضعیت ناقلین در این افراد امکان پذیر است. همچنین استافیلوکوکوس ارئوس دارای گروه‌های* ***agrI*** *و* ***agrIII*** *در کلونیزاسیون باکتری در بینی افراد نسبت به سایر گروه‌های* ***agr*** *دخالت بیشتری دارند.*

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، ناقلین بینی، agr typing، حساسیت آنتی بیوتیکی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج
۲- متخصص اپیدمیولوژی ،دانشیار گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج
۳- کارشناس علوم آزمایشگاهی، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج
٤- دکترای تخصصی میکروب شناسی، دانشیار مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج
۵- دانشجوی کارشناسی ارشد پرستاری، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج
۶- کارشناس هوشبری، کمیته ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج
۷- کارشناس ارشد میکروب شناسی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج
۸- دکترای تخصصی میکروب شناسی ،استادیار مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از عوامل اصلی در ایجاد عفونت‌های اکتسابی از جامعه و مراکز بهداشتی در سراسر دنیا است. این باکتری بخش‌های مختلفی از بدن انسان از قبیل حفره‌های جلویی، واژن، پوست و مجرای معده‌ای- روده‌ای را کلونیزه می‌کند. کلونیزاسیون بینی بدون علامت با *استافیلوکوکوس اورئوس* یک فاکتور خطر مهم برای ایجاد بسیاری از عفونت‌ها است (۱). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که حذف *استافیلوکوکوس اورئوس* از مجاری جلویی بینی باعث کاهش شیوع عفونت‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌گردد (۲). در حدود ۳۰ درصد از جمعیت انسانی توسط *استافیلوکوکوس اورئوس* کلونیزه شده‌اند (۳). سه فرم از ناقلین بینی *استافیلوکوکوس اورئوس* شامل ناقلین پایدار، ناقلین حد واسط و افراد غیر ناقل شناسایی شده‌اند. بین ۱۰ تا ۳۵ درصد افراد سالم اغلب یک سویه از این باکتری را حمل می‌کنند و ناقلین پایدار نامیده می‌شوند. ۲۰ تا ۷۵ درصد افراد به‌طور گهگاه *استافیلوکوکوس اورئوس* را حمل می‌کنند و ناقلین حدواسط نامیده می‌شوند و ۵ تا ۵۰ درصد افراد هرگز *استافیلوکوکوس اورئوس* را حمل نمی‌کنند و غیر ناقل نامیده می‌شوند (٤). ناقلین بینی *استافیلوکوکوس اورئوس* نقش کلیدی در اپیدمیولوژی و بیماری‌زایی عفونت بازی می‌کنند (۵). *استافیلوکوکوس اورئوس* یکی از عوامل عمده در ایجاد عفونت‌ها و بیماری‌های مختلف از قبیل عفونت‌های پوست و بافت نرم، پنومونی، عفونت‌های خون، استئومیلیت، اندوکاردیت، سندروم شوک سمی (TSS) و مسمومیت غذایی می‌باشد (۶).

مقاومت *استافیلوکوکوس اورئوس* به طیف گسترده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌ها در حال افزایش است که موجب بروز مشکلاتی در درمان عفونت‌های آن شده است (۶). کسب و انتشار پلاسمیدهای کدکننده‌ی ژن بتالاکتاماز در اوایل ۱۹۵۰ موجب بروز مشکل در درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط *استافیلوکوکوس اورئوس* با آنتی بیوتیک پنی‌سیلین گردید (۷). مکانیسم مقاومت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام در *استافیلوکوکوس اورئوس* به دلیل وجود ژن ***mecA*** و در نتیجه تولید شدن یک پروتئین متصل شونده به پنی‌سیلین با تمایل کم به نام PBP2a می‌باشد که قادر به اتصال به متی‌سیلین و دیگر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام نیست (۸). بیماران کلونیزه شده و یا عفونی شده با سویه‌های MRSA به‌عنوان مخزنی برای باکتری هم در اجتماع و هم در بیمارستان مطرح می‌باشند و می‌توانند از طریق تماس با کارکنان مراکز بهداشتی موجب انتقال باکتری گردند. تشخیص آزمایشگاهی سریع و انجام تست‌های تعیین حساسیت در درمان، مدیریت و پیشگیری از عفونت‌های MRSA بسیار حیاتی است. حضور سویه‌های MRSA چالشی برای تمامی مراکز مراقبت‌های بهداشتی و بیمارستان‌ها به شمار می‌رود. این سویه‌ها نه تنها مقاوم به چندین آنتی‌بیوتیک هستند، بلکه به‌عنوان مخزنی برای ژن‌های مقاومت به آنتی بیوتیک نیز عمل می‌کنند (۹).

به‌منظور مطالعات اپیدمیولوژیک روش‌های تایپینگ متعددی همچون PFGE، MLST، spa typing و agr typing برای بررسی ارتباطات ژنتیکی و هتروژنیسیتی *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌کار می‌رود. لکوس agr نقش مهمی در کنترل بیان فاکتورهای ویرولانس *استافیلوکوکوس اورئوس* بازی می‌کند. لکوس agr حاوی دو نسخه رونویسی مختلف RNAII و RNAIII است که توسط پروموتورهای P2 و P3 کنترل می‌شوند. اپرون P2 دارای چهار ژن ***agrA***، ***agrB***، ***agrC*** و ***agrD*** می‌باشد. agrB و agrD پیش ساز پپتید خودالقایی (AIP) بوده و agrC و agrA به ترتیب حسگر غشایی و تنظیم کننده پاسخ هستند. در شرایطی که تراکم باکتری بالا باشد، AIP افزایش یافته و با برهمکنش با agrC موجب فعال شدن agrA می‌گردد. agrA یک پروتئین اتصالی به DNA است که قادر

است پروموتورهای P2 و P3 را فعال نماید. پروموتور P3 نیز موجب شروع نسخه برداری از دلتا همولیزین و RNAIII می‌گردد. وجود چهار گروه تخصصی Agr (I,II,III,IV) در *استافیلوکوکوس اورئوس* بدلیل پلی‌مورفیسم در توالی اسیدهای آمینه AIP(AgrD) و گیرنده‌ی مرتبط با آن (AgrC) می‌باشد (۱۰). گروه‌های اختصاصی agr با عفونت ایجاد شده توسط *استافیلوکوکوس اورئوس* مرتبط هستند، به‌طوری که سویه‌های حاوی agrIV با سندرم اکسفولیاتیو ژنرالیزه، سویه‌های حاوی agrIII با تولید توکسین TSST-1 مرتبط هستند. همچنین سویه‌های ایجاد کننده اندوکاردیت عمدتا دارای گروه‌های agrI و agrII و سویه‌های حاوی گروه‌های agrI عمدتا در ارتباط با بیماری‌های تهاجمی به ویژه باکتریمی می‌باشند (۱۱). همچنین مشخص شده است که بین گروه‌های اختصاصی agr و ژن‌های کد کننده مولکول‌های ماتریکس چسبنده شناسایی کننده اجزای سطحی میکروبی (MSCRAMMs) نیز ارتباطی وجود ندارد (۱۲).

با توجه به نقش مهم ناقلین بینی *استافیلوکوکوس اورئوس* در بیمارستان‌ها و اهمیت آنها در انتقال باکتری به سایر پرسنل و بیماران،همچنین افزایش در بروز مقاومت به طیف گسترده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌ها در این باکتری و درنتیجه بروز مشکلاتی در درمان عفونت‌های آن و عدم وجود اطلاعاتی در ارتباط با میزان فراوانی نسبی ناقلین بینی، تنوع ژنوتیپی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها در منطقه، مطالعه اپیدمیولوژیکی ناقلین و بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری جهت درمان و حذف باکتری و پیشگیری از ایجاد عفونت‌ها و بیماری‌های ایجاد شونده توسط آن دارای اهمیت می‌باشد. از این رو هدف از این مطالعه بررسی فراوانی ناقلین بینی و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ژنوتایپینگ *استافیلوکوکوس اورئوس*های جدا شده از پرسنل بیمارستان شهید بهشتی یاسوج بود.

روش بررسی

در این مطالعه که به صورت مقطعی_توصیفی در سال ۱۳۹۴ بر روی پرسنل بیمارستان شهید بهشتی شهر یاسوج با تمایل به شرکت در مطالعه، عدم مصرف آنتی‌بیوتیک طی ۲ هفته از زمان نمونه‌گیری و عدم بیماری‌های عفونی تنفسی انجام شد، از بین ۳۴۷ نفر از پرسنل درمانی و خدماتی شاغل در بخش‌های مختلف پزشک (۲۲ نفر)، پرستار (۲۵۵ نفر)، کارشناس آزمایشگاه (۱۸ نفر) و پرسنل خدماتی (۵۲ نفر) نمونه‌برداری انجام شد. ابتدا توسط سواب استریل آغشته به نرمال سالین استریل، از ناحیه‌ی قدامی بینی با یک حرکت چرخشی همراه با فشار ملایم، نمونه‌برداری صورت گرفت، سپس سواب آلوده درون لوله حاوی محیط کشت BHI قرار داده شد و پس از انتقال به آزمایشگاه، لوله‌های محیط کشت BHI حاوی سواب به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.پس از پایان انکوباسیون، کشت اولیه بر روی محیط مانیتول سالت آگار جهت غربالگری انجام و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی گراد به‌مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شدند. نهایتا از روش رنگ آمیزی‌گرم و تست‌های کاتالاز، کوآگولاز لوله‌ای و DNase جهت شناسایی اولیه کلونی‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* استفاده شد. جهت تائید نهایی باکتری‌های جدا شده، با استفاده از روش PCR، وجود ژن ***nuc*A** در ایزوله‌ها مورد بررسی قرار گرفت و نهایتا باکتری‌های واجد ژن ***nuc*A** به‌عنوان باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تایید و جداسازی شدند (۱۰).

برای استخراج DNA ایزوله‌های به دست آمده، از روش جوشاندن استفاده شد. به‌اینصورت که ابتدا سوسپانسیونی از باکتری‌های خالص و جوان تهیه و سپس به مدت ۱۲ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد جوشانده شد. پس از این مرحله محلول‌های حاوی باکتری جوشیده شده را به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰rpm سانتریفیوژ کرده و نهایتا از محلول فاز بالایی که حاوی DNA باکتری است جهت واکنش‌های

PCR استفاده شد (۱۱). برای تکثیر ژن *nuc*A جدا شده از ایزوله‌ها توسط PCR، از روش به کار گرفته شده توسط صاحب اختیاری استفاده شد (۱۳). جهت تکثیر ژن *mec*A با روش PCR، روش استفاده شده توسط ژانگ به کار برده شد (۱۴). برای تکثیر ژن agr در ایزوله‌ها از یک پرایمر forward و چهار پرایمر reverse که هرکدام اختصاص به یکی از گروه‌های agr داشت و توسط شاپسین و همکاران (۹) طراحی شده بود، استفاده شد (جدول ۱).

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن گروه‌های agr.

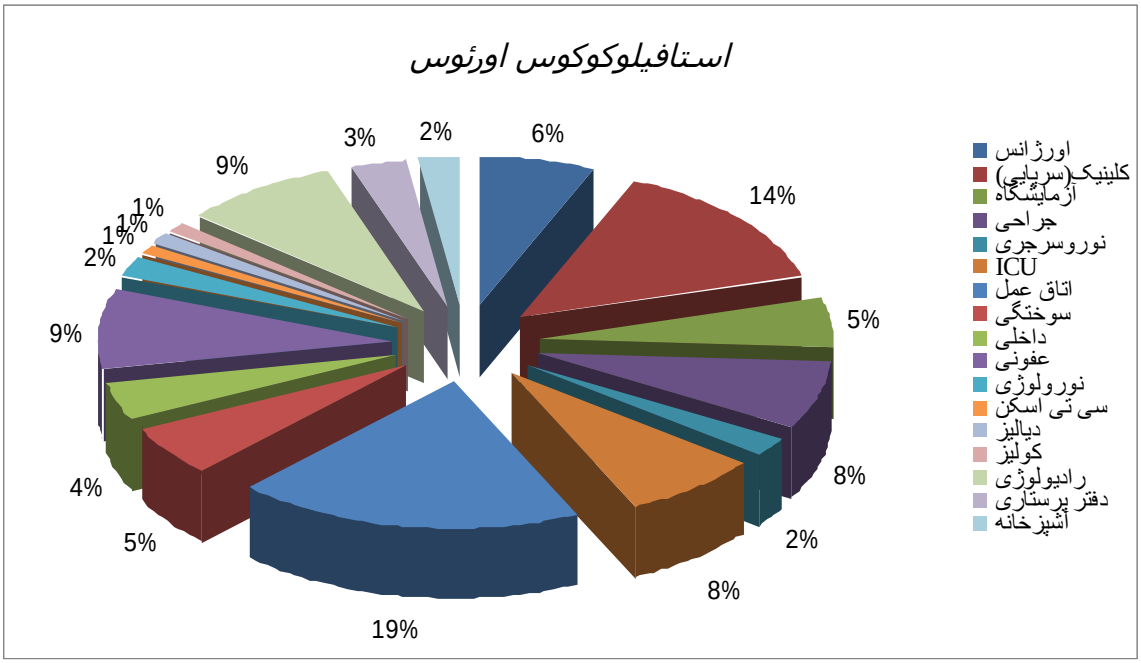
ژن	پرایمر	توالی (3′ ⟵ 5′)	اندازه محصولات(bp)
agrI	Forward	ATGCACATGGTGCACATGC	۴۴۰bp
	Revers	GTCACAAGTACTATAAGCTGCGAT	
agrII	Forward	ATGCACATGGTGCACATGC	۵۷۲bp
	Revers	GTATTACTAATTGAAAAGTGCCATAGC	
agrIII	Forward	ATGCACATGGTGCACATGC	۴۰۶bp
	Revers	CTGTTGAAAAAGTCAACTAAAAGCTC	
agrIV	Forward	ATGCACATGGTGCACATGC	۵۸۸bp
	Revers	CGATAATGCCGTAATAC CCG	

به منظور تکثیر ژن‌هایagr، ازدستگاه ترمال سایکلر (Biorad T100, USA) استفاده شد. برنامه دمایی برای تکثیر ژن‌ها شامل دمای دناتوراسیون اولیه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، پس از آن ۳۰ چرخه شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۵۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و نهایتا ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه مورد استفاده قرار گرفت. در نهایت محصولات به‌دست آمده با روش الکتروفورز و در ژل آگاروز ۱/۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت (۷). اندازه باند مورد انتظار برای محصولات هر کدام از ژن‌های گروه‌های agr به ترتیب agrI (۴۴۰bp)، agrII (۵۷۲bp)، agrIII (۴۰۶bp) و agrIV (۵۸۸bp) بود (۱۵). جهت تعیین و شناسایی سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک سفوکسیتین و روش دیسک دیفیوژن استفاده شد که در نهایت جدایه‌های با عدم رشد بیشتر یا مساوی ۲۲ میلیمتر به‌عنوان سویه‌های حساس و جدایه‌های با عدم رشد کمتر یا مساوی ۲۱ میلیمتر به‌عنوان سویه‌های مقاوم درنظر گرفته شدند (۱۶). سویه‌های مقاوم به سفوکسیتین با شناسایی ژن *mec*A توسط روش PCR تایید گردیدند (۱۴). همچنین برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها از روش دیسک دیفیوژن آگار توصیه شده توسط استاندارد موسسه استاندارد آزمایشگاهی و کلینیکی (CLSI) و ۱۵ آنتی بیوتیک (پنی سیلین (۱۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۲۵ میکروگرم)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم)، تیکوپلانین (۳۰ میکروگرم)، لاینزولید (۳۰ میکروگرم)، موپیروسین (۲۰ میکروگرم)، ریفامپسین (۵ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، توبرامایسین (۱۰ میکروگرم)، تتراسیکلین (۳۰ میکروگرم)، ایمی پنم (۱۰ میکروگرم)، تایگسیکلین (۱۵ میکروگرم) و سیپروفلوکساسین (۵ میکرو گرم) (Himedia, India) استفاده گردید (۱۶). در این مطالعه اطلاعات افراد مورد مطالعه کاملا محرمانه بوده و قوانین اخلاق پژوهشی در ارتباط با این تحقیق رعایت شده است،

همچنین این پژوهش در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی یاسوج با کد اخلاق ir.yums.rec.1394.5 ثبت شده است. داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ وارد شد و نتایج با استفاده از تست‌های آماری توصیفی و مربع کای تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری برابر با P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

از مجموع ۳۴۷ نمونه گرفته شده از بینی پرسنل در این مطالعه، پس از انجام تست‌های تشخیصی، تعداد ۹۳ ایزوله (۲۶/۸ درصد) *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شد که از این میان، بیشترین فراوانی در میان گروه‌های شغلی متعلق به پرسنل خدماتی با ۱۵ ایزوله (۲۸/۸٤ درصد) بود. همچنین بیشترین فراوانی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در میان پرسنل شاغل در بخش رادیولوژی (۵۷/۱٤ درصد) بود و پس از آن بخش‌های سوختگی (۵۵/۵۵ درصد) و آشپزخانه (۵۰ درصد) قرار داشتند. کمترین فراوانی نیز در پرسنل شاغل در بخش دیالیز (۱۱/۱۱ درصد) بود (نمودار ۱). از مجموع ۹۳ ایزوله به‌دست آمده، ۵ ایزوله (۵/۳۷ درصد) مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) بوده که از این میان، ۴ ایزوله از پرستاران و ۱ ایزوله نیز از نیروهای خدماتی جدا شد.



نمودار ۱: درصد فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس در میان ۹۳ نمونه مثبت در بیمارستان شهید بهشتی یاسوج براساس بخش محل خدمت

همچنین از میان تمامی ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به دست آمده در این بررسی، agr گروه I (۴۰/۸۶ درصد) و agr گروه III (۴۰/۸۶ درصد)، گروه‌های agr غالب بوده و کمترین فراوانی مربوط به agr گروه IV (۳/۲۳ درصد) بود. در بررسی‌ها مشخص شد که بیشترین فراوانی ناقلین بینی *استافیلوکوکوس اورئوس* مربوط به بخش‌های اتاق عمل

(۱۹ درصد) و کلینیک سرپایی (۱٤ درصد) است، همچنین از نظر فراوانی گروه‌های agr، در بخش‌های جراحی، کولیز، رادیولوژی، دفتر پرستاری و آشپزخانه، گروه agr غالب، گروه agrI بود. در بخش سی تی اسکن گروه agrII و در بخش‌های کلینیک سرپایی، آزمایشگاه، نوروسرجری، اتاق عمل، سوختگی، داخلی، عفونی و دیالیز نیز گروه agrIII غالب بود. بین الگوی ژنوتایپینگ با بخش محل خدمت ارتباط معنی‌داری وجود نداشت (P=۰/۰۵)(جدول ۲).

همچنین تمام ۹۳ ایزوله به دست آمده نسبت به آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین مقاوم بودند. پس از پنی‌سیلین، بیشترین میزان مقاومت متعلق به آنتی‌بیوتیک اریترومایسین (۱۲/۹ درصد) بود. میزان مقاومت به سایر آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه بدین‌صورت بود که کوتریموکسازول (۵/۳۸ درصد)، کلیندامایسین (۳/۲۳ درصد)، تیکوپلانین (۱/۰۸ درصد)، لاینزولید (۱/۰۸ درصد)، موپیروسین (۱/۰۸ درصد)، و ریفامپسین (۱/۰۸ درصد) و نیز مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین، جنتامایسین، توبرامایسین، تتراسیکلین، ایمی پنم، تایگسیکلین و سیپروفلوکساسین صفر درصد نشان داده شد. همچنین مقاومت حدواسط به اریترومایسین (۵/۳۸ درصد)، سیپروفلوکساسین (۲/۱٦ درصد) و کوتریموکسازول (۲/۱٦ درصد) نیز مشاهده شد. هیچکدام از سویه های MRSA نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه مقاومت نشان ندادند.

جدول ۲: فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس، سویه‌های مقاوم به متی سیلین (MRSA) و گروه‌های agr در میان پرسنل بیمارستان شهید بهشتی یاسوج

پرسنل / ژنوتایپینگ		تعداد پرسنل				agr				
		۳٤۷								
باکتری		پزشک (درصد)	پرستار (درصد)	کارشناس آزمایشگاه (درصد)	خدماتی (درصد)	I (درصد)	II (درصد)	III (درصد)	IV (درصد)	ND (درصد)
		۲۲	۲۵۵	۱۸	۵۲					
استافیلوکوکوس اورئوس	۹۳(۲٦/۸)	٦(۲۷/۲۷)	٦۷(۲٦/۲۷)	۵(۲۷/۷۷)	۱۵(۲۸/۸٤)	۳۸(٤۰/۹)	۸(۸/٦)	۳۸(٤۰/۹)	۳(۳/۲)	٦(٦/۵)
MRSA	۵(۵/۳۷)	۰(۰)	٤(۵/۹۸)	۰(۰)	۱(٦/٦۷)	۲(٤۰)	۰(۰)	۳(٦۰)	۰(۰)	۰(۰)

**** درصد فراوانی سویه‌های MRSA و درصد فراوانی گروه‌های agr نسبت به نمونه‌های مثبت در نظر گرفته شده است.***

ND: تشخیص داده نشده

بحث

در مطالعه مورد نظر تعداد ۹۳ ایزوله (۲۶/۸ درصد) *استافیلوکوکوس اورئوس* از بینی پرسنل بیمارستان شهید بهشتی جداسازی شد که از این میان ۹ ایزوله (۵/۳۷ درصد) بعنوان سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین شناسایی گردید. از میان ایزوله‌های جدا شده، گروه‌های agrI (۴۰/۹ درصد) و agrIII (۴۰/۹ درصد) گروه‌های غالب بودند و تمام ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک پنی سیلین (۱۰۰ درصد) مقاوم بودند. همچنین در میان سایر آنتی‌بیوتیک‌ها، بیشترین میزان مقاومت مربوط به اریترومایسین (۱۲/۹ درصد) بود. غالب ایزوله‌ها نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی حساس بودند.

در این مطالعه فراوانی ناقلین بینی *استافیلوکوکوس اورئوس* در بیمارستان شهید بهشتی (۲۶/۸ درصد) بود که با مطالعات انجام شده توسط کلهر در شهرکرد (۲۵/۴۹ درصد)، رحیمی النگ در گرگان (۲۴ درصد)، افروغ در تهران (۲۵/۴ درصد) و آیوآ در کامرون (۲۳/۷ درصد)، (۲۰-۱۷) همخوانی داشت. دلیل این میزان فراوانی را احتمالا بتوان به سابقه کار بالا و درنتیجه تماس زیاد با بیماران و وسایل آلوده، نزدیک تر بودن و در دسترس بودن بیمارستان شهید بهشتی نسبت به سایر بیمارستان‌های شهر یاسوج برای مراجعه بیماران و در نتیجه مراجعه بیشتر و ازدحام بیشتر بیماران در این بیمارستان و همچنین وجود بخش‌های سوختگی، عفونی، دیالیز وکولیز که همگی به نوعی محل بستری شدن بیماران عفونی و یا بیماران بسیار ضعیف از نظر سیستم ایمنی در بیمارستان شهید بهشتی هستند، نسبت داد. همچنین نتایج به دست آمده نسبت به نتایج حاصل از مطالعه شیخ الاسلامی و همکاران (۲۰ درصد)، پراکاش سا و همکاران (۲۰/۳۷ درصد)، صادری و همکاران (۱۹/۸۲ درصد)، وینوتکومارادیتیا و همکاران (۱۳ درصد) و ریتا خانال و همکاران (۱۵/۷ درصد) (۲۵-۲۱) درصد بالاتری را نشان داد که دلیل این موضوع شاید تفاوت‌های جغرافیایی و عدم رعایت اصول بهداشت فردی، انجام اقدامات گندزدایی و ضدعفونی در بیمارستان مورد مطالعه به شکل معیوب و همچنین نوع پوشش سنتی مورد استفاده توسط مردم مراجعه کننده به بیمارستان در این منطقه عنوان نمود. همچنین از آنجا که بیشترین فراوانی در میان گروه های شغلی متعلق به پرسنل خدماتی با ۱۵ ایزوله (۲۸/۸٤ درصد) بود، لذا دلیل این امر را می‌توان به اطلاعات ناکافی این پرسنل در مورد رعایت اصول بهداشت فردی، گاها تماس مستقیم این پرسنل با بیماران به عنوان بیماربر و ورود به بخش‌ها و اتاق‌های محل بستری بیمار جهت انجام نظافت بیمارستان عنوان نمود. نتایج به دست آمده در مورد فراوانی نسبی گروه‌های agr در میان ناقلین بینی*استافیلوکوکوس اورئوس* در این مطالعه نشان داد که هر یک از گروه‌های agrI و agrIII با ۳۸ ایزوله (۴۰/۹ درصد) نسبت به سایر گروه‌های agr فراوانی بیشتری داشتند. این نتایج از لحاظ غالب بودن فراوانی گروه‌های agrI و agrIII، با نتایج تحقیق انجام شده توسط کونسکائو و همکاران بر روی پرسنل و بیماران بیمارستان دکتر آیرس منزس (۲٦)، تحقیق انجام شده توسط حسن‌نژاد بی بالان و همکاران در سویه های جدا شده از بینی کارکنان در گرگان (۲۷)، تحقیق شاپسین و همکاران بر روی جمعیتی سالم از بچه‌ها و اولیای آنها در نیویورک (۹) و مطالعه انجام شده توسط سادیا خان و همکاران در سال ۲۰۱۱ در پاکستان (۲۸) مطابقت داشت. در تحقیقی که توسط پیرایه و همکاران (۱۳۸۵) در تهران انجام شد بیشتر ایزوله‌ها (۵۵ درصد) حامل گروه agrI بودند (۱۵). همچنین برخی از مطالعات انجام گرفته نیز نشان داد که دیگر گروه‌های agr از لحاظ فراوانی غالب هستند که از این لحاظ با مطالعه‌ی حاضر تفاوت داشتند. ازجمله کاوامورا و همکاران در مطالعه خود بر روی بیماران در ژاپن در فاصله سال‌های ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۹ نشان دادند که ۷۸/۳ درصد از ایزوله دارای agr گروه II بود (۲۹). همچنین آرگودین و همکاران در مطالعه خود بر روی ناقلین سالم در اسپانیا نشان دادند که ۳۶ درصد از ایزوله دارای agr گروه II می‌باشد (۳۰).

در ارتباط با میزان مقاومت در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، نتایج به‌دست آمده از مطالعه‌ی حاضر با مطالعات انجام شده توسط عسکریان و همکاران، شروین شکوهی و همکاران و مطالعه انجام گرفته در مشکین شهر توسط نیکبخت (۳۳-۳۱) همخوانی دارد. در این مطالعه همانند مطالعات انجام شده توسط واعظ و شیخ الاسلامی (۳۴و۲۱)، ۱۰۰ درصد سویه‌های جداسازی شده در برابر پنی‌سیلین مقاوم بودند که با توجه مصرف بالای این آنتی بیوتیک و داشتن ژن مقاومت به پنی‌سیلین و قابلیت انتقال آن در میان *استافیلوکوکوس اورئوس* طبیعی به‌نظر می‌رسد. با توجه به

اینکه میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه پایین است، احتمالا می‌توان دلیل این مقاومت پایین را محدودیت مصرف این آنتی‌بیوتیک‌ها توسط پرسنل بیمارستان مورد مطالعه بیان نمود. در مطالعه حاضر مقاومت به آمینوگلیکوزیدها صفر درصد بود که با مطالعات عسگریان، ریتاخانال، تشکری و پراکاش سا (۳۵و ۳۱و ۲۵و ۲۲) مغایرت داشت. در مطالعه حاضر مقاومت به تیکوپلانین ۱/۰۸ درصد گزارش شد که این میزان در مطالعات ریتاخانال ۹/٤ درصد گزارش شده است (۲۵). وجود مقاومت به آنتی بیوتیک تیکوپلانین می‌تواند به‌عنوان زنگ خطری برای افزایش فراوانی سویه‌های مقاوم به این آنتی‌بیوتیک و در نتیجه مشکلات درمانی متعاقب آن باشد. در مجموع یافته‌های حاصل از بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی نشان دهنده‌ی این نکته است که درصورت ایجاد بیماری‌های اندوژن در نتیجه *استافیلوکوکوس اورئوس* در ناقلین مورد مطالعه، و یا انتقال باکتری از آنها به سایرین و ایجاد عفونت و بیماری در آنها، آنتی بیوتیک‌های مورد مطالعه کماکان می‌توانند به عنوان داروهای انتخابی برای درمان عفونت‌های ایجاد شده مطرح باشند. همچنین حساسیت بسیار بالای این سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک موپیروسین بیانگر این است که می‌توان همچون گذشته از این آنتی‌بیوتیک جهت کنترل ناقلین بینی *استافیلوکوکوس اورئوس* استفاده نمود.

از آنجا که کلونیزاسیون باکتری در بینی پرسنل مراکز درمانی نقش مهمی در ایجاد بیماری‌های اندوژن و یا انتقال و ایجاد عفونت در سایر پرسنل و یا بیماران دارد، لذا رعایت بهداشت فردی، شستشوی دست‌ها و استفاده از وسایل حفاظتی مثل ماسک و دستکش توسط پرسنل مراکز درمانی توصیه می‌شود. با توجه به دخالت ژن‌های مختلف در کلونیزاسیون *استافیلوکوکوس اورئوس* در بینی، پیشنهاد می‌شود که در مطالعات بعدی میزان فراوانی نسبی ژن‌های مذکور نیز بررسی گردد.

نتیجه گیری

نتایج به‌دست آمده در این مطالعه نشان داد که در پرسنل بیمارستان شهید بهشتی میزان مقاومت *استافیلوکوکوس اورئوس* به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف و رایج در درمان، پایین است که به همراه پایین بودن فراوانی سویه‌های MRSA ، دلیلی برای کارآمد بودن درمان‌های رایج برای از بین بردن عفونت و بیماری‌های ناشی از این ایزوله‌ها خواهد بود. همچنین بالاتر بودن فراوانی نسبی ناقلین بینی در اتاق عمل، احتمالا می‌تواند عاملی برای افزایش عفونت‌های زخم جراحی استافیلوکوکی در بیماران مراجعه کننده باشد. علاوه بر این مشخص گردید که گروه‌های agrI و agrIII در کلونیزاسیون باکتری در بینی افراد نسبت به سایر گروه‌های agr دخالت بیشتری دارند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه علوم پزشکی یاسوج صورت گرفته است بدین وسیله از حمایت‌های این معاونت محترم قدردانی می‌گردد.

References

1- Erami M, Soltani B, Ardakani AT, et al. Nasal carriage and resistance pattern of multidrug resistant *Staphylococcus aureus* among healthy children in Kashan, Iran. *Iran Red Cres Med J.* 2014; 16: e21346.

2- Messaritakis I, Samonis G, Dimopoulou D, et al. *Staphylococcus aureus* nasal carriage might be associated with vitamin D receptor polymorphisms in type 2 diabetes.

Clin Microbiol Infect. 2014; 20: 920-5.
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: 603-61.
4- Kluytmans J, Wertheim H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and prevention of nosocomialinfections. *Infection.* 2005; 33: 3-8.
5- Ramana K, Mohanty S, Wilson C. *Staphylococcus aureus* colonization of anterior nares of school going children. *Indian J Pediatr*. 2009; 76: 813-6.
6- Shittu AO, Okon K, Adesida S, et al. Antibiotic resistance and molecular epidemiology of Staphylococcus aureus in Nigeria. *BMC Microbiol.* 2011; 11: 1.
7- Azimian A, Najar-Pirayeh S, Mirab-Samiee S, Naderi M. Occurrence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among clinical samples in tehran-iran and its correlation with polymorphism of specific accessory gene regulator (AGR) groups. *Brazil J Microbiol.* 2012; 43: 779-85.
8- Malachowa N, DeLeo FR. Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus. Cell Molec Life Sci.* 2010; 67: 3057-71.
9- Shopsin B, Mathema B, Alcabes P, et al. Prevalence of agr specificity groups among *Staphylococcus aureus* strains colonizing children and their guardians. *J Clin Microbiol.* 2003; 41: 456-9.
10- Khoramrooz SS, Mansouri F, Marashifard M, et al. Detection of biofilm related genes, classical enterotoxin genes and agr typing among *Staphylococcus aureus* isolated from bovine with subclinical mastitis in southwest of Iran. Microb Pathogen. 2016; 97: 45-51.
11- Darban-Sarokhalil D, Khoramrooz SS, Marashifard M, et al. Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from southwest of Iran using spa and SCCmec typing methods. *Microb Pathogen.* 2016; 88: 92-98.
12- Post V, Wahl P, Richards RG, Moriarty TF. Vancomycin displays time-dependent eradication of mature *Staphylococcus aureus* biofilms. *J Orthop Res.* 35: 381-88.
13- Sahebekhtiari N, Nochi Z, Eslampour M, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw milk of bovine subclinical mastitis in Tehran and Mashhad. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica.* 2011; 58: 113-21.
14- Zhang K, McClure J-A, Elsayed S, Louie T, Conly JM. Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome mec types I to V in methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *J Clin Microbiol.* 2005; 43: 5026-33.
15- Peerayeh SN, Azimian A, Nejad QB, Kashi M. Prevalence of agr specificity groups among *Staphylococcus aureus* isolates from university hospitals in Tehran. *Lab Med J.* 2009; 40: 27-9.

16- Guideline A. CLSI document MM18-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2008.

17- Kalhor H, Validi M, Nafisi M-R. Evaluation of the frequency of methicillin-resistant staphylococs isolated from nose of nursing personnel of hajar hospital of shahrekord. *Qom Unive Med Sci J.* 2011; 7: 1.

18- Rahimi-Alang S, Asmar M, Cheraghali F, et al. Frequency of methicillinresistant Staphylococcus aureus in health care. *J Zahedan Unive Med Sci.* 2011; 13: 17-22.

19- Afrough P, Pourmand MR, Zeinalinia N, Yousefi M, Abdossamadi Z, Yazdchi SB. Molecular typing of clinical and nasal carriage isolates ofstaphylococcus aureus by spa gene patterns. *J Mazand Univ Med Sci.* 2012; 22: 28-34.

20- Eyoh A, Toukam M, Okomo A, et al. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* by hospital personnel of three health institutions in Yaounde Cameroon. *Int Res J Microb.* 2012; 2: 271-4.

21- Ziasheykh AN, Rezaeian M, Tashakori M. Determination of the prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal carriers and antibiotic resistance pattern in clinical wards staff of Ali-EbneAbitaleb Hospital. *Rafsanjan Univ Med Sci J.* 2009; 1: 27-36.

22- Sah P, Rijal K, Shakya B, Tiwari B, Ghimire P. Nasal carriage rate of *Staphylococcus aureus* in hospital personnel of National Medical College and Teaching Hospital and their susceptibility pattern. *J Health Appl Sci.* 2013; 21: 3.

23- Saderi H, Oulia P, Jalali NM, Falah N, Mohammadi FF, Barati NM. The rate of *staphylococcus aureus* nasal carriage among personnels of a hospital in Tehran. *Daneshvear Med.* 2004; 11: 33-38..

24- Vinodhkumaradithyaa A, Uma A, Shirivasan M, Ananthalakshmi I, Nallasivam P, Thirumalaikolundusubramanian P. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among surgical unit staff. *Jpn J Infect Dis.* 2009; 62: 228-9.

25- Khanal R, Sah P, Lamichhane P, Lamsal A, Upadhaya S, Pahwa VK. Nasal carriage of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among health care workers at a tertiary care hospital in Western Nepal. *Anti Microb Resist Infect Control.* 2015; 4: 1.

26- Conceiçao T, Santos Silva I, de Lencastre H, Aires-de-Sousa M. *Staphylococcus aureus* nasal carriage among patients and health care workers in São Tomé and Príncipe. *Microbial Drug Resistance.* 2014; 20: 57-66.

27- Hasannejad Bibalan M, Shakeri F, Javid N, Ghaemi EA. Study the association of accessory gene regulator types and methicillin resistance/Sensitivity of *Staphylococcus aureus* Isolated in Gorgan, Iran. *Infect Epidemiol Med.* 2016; 2: 1-4.

28- Khan S, Rasheed F, Zahra R. Genetic polymorphism of agr locus and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* at two hospitals in Pakistan. *Pakistan J Med Sci.* 2014; 30: 172.

29- Kawamura H, Nishi J, Imuta N, et al. Quantitative analysis of biofilm formation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains from patients with orthopaedic device-related infections. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2011; 63: 10-5.

30- Argudín MA, Argumosa V, Mendoza MC, Guerra B, Rodicio MR. Populationstructure and exotoxin gene content of methicillin-susceptible Staphylococcus aureus from Spanish healthy carriers. *Microb Pathogen.* 2013; 54: 26-33.

31- Askarian M, Zeinalzadeh A, Japoni A, Alborzi A, Memish ZA. revalence of nasal carriage of methicillin-resistant Staphylococcus aureus and its antibiotic susceptibility pattern in healthcare workers at Namazi Hospital, Shiraz, Iran. *Int J Infect Dis.* 2009; 13: e241-e7.

32- Nikbakht M, Rezazade B, Nagizadeh, et al. Antibiotic resistance pattern of isolated strains of staphy from personnel nasal specimens in meshgin shahar valiasr hospital. *J Ardabil Univ Med Sci.* 2009; 9: 80-8.

33- Sh S, Aminzadeh Z, Sharafi M .Investigation of antibiotic resistance pattern of hospital acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus. Iran J Microbiol.* 2008; 2: 59.

34- Vaez H, Ghazi Saeidi K, Moradi A, et al. Antibiotic resistance pattern of methicillin resistant Staphylococcus aureus isolated from Health-educational centers of Gorgan, Iran, 2008-2009. *Iran J Med Microbiol.* 2010; 3: 31-6.

35- Tashakori M, Moghadam FM, Ziasheikholeslami N, et al. *Staphylococcus aureus* nasal carriage and patterns of antibiotic resistance in bacterial isolates from patients and staff in a dialysis center of southeast Iran. *Iran J Microbiol.* 2014; 6: 79-83.

Antimicrobial Resistance Pattern and *agr* Typing among *Staphylococcus aureus* Isolated from Nasal Carrier Personnel in Shahid Beheshti Hospital in Yasuj City

Mahmoudi Mourderaz Y[1], Chaman R[2], Malekhosseini AA[1], Sharifi A[3], Khosravani SA[3], Taher Rezanejad M[1], Hassani M[1], Mohammadi R[4], Khoramrooz SS[3]

[1]Student Research Committee, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

[2]Dept. of Community Medicine, School of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

[3] Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

[4] Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

***Corresponding Author**:* Khoramrooz SS, Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

E-mail: khoramrooz@gmail.com

Received: 25 Dec 2016 **Accepted:** 16 Apr 2017

Background and Objective: Based on the important role of nasal carriers of *Staphylococcus aureus* in hospital settings and their importance in the transmission of bacterium to patients and other personnel, the aim of the present study was to determine the frequency of nasal carriers, antibiotic resistance patterns and genotyping of *S. aureus* isolated from personnel of Shahid Beheshti hospital in Yasuj city (Iran) using the agr typing method.

Materials and Methods: In this cross-sectional study, a total of 347 nasal samples were collected from the healthcare workers of Shahid Beheshti Hospital in order to identify *S. aureus*. Cefoxitin containing disks and detection of the *mec*A gene were used for the identification of methicillin resistant isolates. The antimicrobial susceptibility patterns of isolates were tested against 15 different antibiotics using the Disc Agar Diffusion method. The Multiplex-PCR method was used for the agr typing of *S. aureus* isolates.

Results: Ninety-three (26.8%) of personnel were nasal carriers of *S. aureus*, among them 9 isolates were identified as MRSA. Among agr groups, agrI (40.9%) and agrIII (40.9%) were the prominent genotypes. All of the isolates (100%) were resistant to Penicillin. The resistance rate to erythromycin and co-trimoxazole were 12.9% and 5.38% respectively. Most of the isolates were sensitive to other antibiotics.

Conclusion: Based on the low resistance rate of *S. aureus*, it appears that the eradication of nasal carrier states could be possible. *S. aureus* agr types I and III have an important role in nasal colonization in comparison to other *agr* types.

Keywords: Staphylococcus aureus, Nasal carrier, Agr type, Antibiotic resistance