

جداسازی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی سیلین مولد بیوفیلیم از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در اصفهان

فاتح رحیمی

1- دکتری تخصصی باکتری شناسی، دانشیار بخش میکروبیشناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

*نشانی برای مکاتبه: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، بخش میکروبیشناسی، f.rahimi@sci.ui.ac.ir

پذیرش برای چاپ: تیر نود و هفت

دریافت مقاله: اردیبهشت نود و هفت

چکیده

سابقه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهمترین عوامل ایجاد طیف وسیعی از عفونتها از زخمهای ساده تا عفونتهای پیچیده ادراری در بیمارستان و جامعه محسوب می شود. در طی دهه های گذشته، مقاومت سویه های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به کلاسهای مختلف آنتی بیوتیکی مانند متی سیلین افزایش پیدا کرده که همین امر درمان آنها را با مشکل مواجه ساخته است. این مطالعه با هدف جداسازی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی سیلین مولد بیوفیلیم از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در شهر اصفهان در طی سالهای 1394-1396 به انجام رسیده است.

روش کار: در طی 2 سال در مجموع تعداد 729 نمونه ادرار از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در یک بیمارستان مرجع در شهر اصفهان جمع آوری شدند. تمامی سویه ها با استفاده از آزمون PCR و پرایمر اختصاصی شناسایی شدند و توانایی تولید بیوفیلیم در میان این سویه ها با استفاده از روشها کیفی کنگورد آگار و کمی میکروتیتر پلیت مورد سنجش قرار گرفت. مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های حساس و مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلیم نسبت به 15 آنتی بیوتیک تعیین گردید.

یافته ها: در مجموع تعداد 294 سویه استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از آزمون PCR مورد شناسایی قرار گرفت که 50/7 درصد سویه ها مولد اسلایم بودند که از این تعداد 102 سویه به عنوان سویه های مولد بیوفیلیم انتخاب شدند. در میان سویه های مولد بیوفیلیم، 56/9 درصد سویه ها نسبت به سفوکسی تین مقاوم بودند و بالاترین میزان مقاومت را نسبت به آنتی بیوتیکهای پنی سیلین، اریترومايسين و سیپروفلوکساسین نشان دادند. به استثناء کلرامفنیکل، اختلاف معنی داری میان سویه های مقاوم و حساس به متی سیلین از نظر مقاومت به کلاسهای مختلف آنتی بیوتیکی مشاهده گردید. علاوه بر این، تمامی سویه ها نسبت به لینزولاید و کینوپریستین-دالفوپریستین حساسیت نشان دادند.

نتیجه گیری: حضور و دوام سویه های مولد بیوفیلیم بسیار مقاوم به درمان در میان بیماران در بیمارستان مورد بررسی، نشان دهنده انتقال و انتشار گسترده این سویه ها در این بیمارستان است.

کلمات کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، متی سیلین، بیوفیلیم، عفونت ادراری، مقاومت آنتی بیوتیکی

مقدمه

نموده است که منجر به شکست راهکارهای درمانی مختلف می شود(2). متی سیلین یک آنتی بیوتیک نیمه سنتتیک است که نخستین بار در سال 1960 جهت درمان عفونتهای ناشی از سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به پنی سیلین مورد استفاده قرار گرفت و نخستین سویه مقاوم به متی سیلین در سال 1961 معرفی گردید. از آن پس شیوع سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از بیمارستان (HA-MRSA) در سراسر جهان شدت گرفت. این سویه ها از مقاومت بالایی نسبت به عوامل

استافیلوکوکوس اورئوس از جمله عوامل باکتریایی شناخته شده جهت ایجاد عفونتهای اکتسابی از بیمارستان و جامعه به شمار می رود. به دلیل طیف بالای عوامل حدت و بیماریزایی در این باکتری، این عفونتها بسیار متنوع بوده و می توانند از عفونتهای ساده پوستی تا پنومونی و عفونتهای پیچیده ادراری متغیر باشند(1). در کنار قدرت بیماری زایی شدید، این باکتری از استعداد بالایی جهت کسب عوامل ژنتیکی متحرک برخوردار است و همین امر این باکتری را به یک عامل بیماریزای مقاوم به طیف وسیعی از عوامل ضد میکروبی مبدل

(منفرد) نسبت به آن آنتی بیوتیک کاملاً حساس باشند(5).
10). مقاومت شدید بیوفیلیم، یک پدیده چندعاملی است که بسته به کلاس آنتی بیوتیک استفاده شده، شامل سازوکارهای مختلفی از قبیل انتشار ناقص آنتی بیوتیک، بی تفاوتی دارو، بیان سازوکارهای ژنتیکی مختص بیوفیلیم و حضور سلولهای مقاوم است (8). این مطالعه با هدف جداسازی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی سیلین مولد بیوفیلیم از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در شهر اصفهان در طی سالهای 1394-1396 به انجام رسیده است.

روش کار

در طی سالهای 1394 لغایت 1396، تعداد 729 نمونه ادرار از بیماران مبتلا به عفونت ادراری مراجعه کننده به یک بیمارستان مرجع در شهر اصفهان جمع آوری و بررسی شد. تمامی نمونه ها پس از انتقال به آزمایشگاه بر روی محیط اختصاصی *HiCrome Aureus Agar* (Himedia, Mumbai, India) کشت داده شدند و کلنی های حاصل با استفاده از پرایمرهای اختصاصی *nuc* و آزمون *PCR* بر اساس دستورالعمل رحیمی و همکاران شناسایی شدند(4).
به منظور استخراج *DNA* از کلنی ها بر روی محیط اختصاصی *HiCrome Aureus Agar* از روش جوشاندن استفاده گردید(11). بر این اساس، یک کلنی از باکتری در 200 میکرولیتر آب مقطر استریل حل و همگن شد و به مدت 20 دقیقه در دستگاه *Thermoblock* (Biometra, Germany) قرار گرفت. پس از آن به مدت 15 دقیقه در $13000 \times$ سانتریفیوژ گردید و از سوپرناتانت به عنوان الگوی *DNA* در تمامی آزمونهای *PCR* استفاده گردید.
جهت شناسایی و تأیید سویه های استافیلوکوکوس اورئوس که بر روی محیط اختصاصی رشد کرده بودند از آزمون *PCR* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *nuc* بر اساس دستورالعمل رحیمی و همکاران استفاده گردید(4). جهت بررسی تولید بیوفیلیم به روش کیفی از آزمون کنگو رد آگار استفاده گردید(1). بر این اساس، پس از کشت سویه های استافیلوکوکوس اورئوس بر روی محیط کنگو رد آگار و انکوباسیون به مدت 48 ساعت در دمای 37 درجه سانتیگراد، کلنی های مشککی به عنوان سویه های مولد بیوفیلیم و اسلایم

دمیکروبی مختلف برخوردار بودند، اما نخستین سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه (CA-MRSA) در سال 1999 شناسایی گردید که واجد حساسیت نسبت به طیف وسیعی از عوامل ضد میکروبی به استثناء پنی سیلین بود (3, 4). این عوامل همچنین، به عنوان عوامل اصلی ایجاد عفونت ادراری و تشکیل بیوفیلیم به ویژه در بیماران واجد سوندهای ادراری شناخته می شوند(1).
باکتریها معمولاً به صورت یک ماتریکس باکتریایی در طبیعت وجود دارند که به شکل غیرقابل برگشت به سطوح چسبیده اند که به آن بیوفیلیم اطلاق می شود. بیوفیلیمها در خاک، آب و بدن انسان یافت می شوند. بیوفیلیمها بر روی ابزارهای پزشکی مانند سوندهای ادراری نیز یافت می شوند که باکتریها را نسبت به درمان با آنتی بیوتیک و همچنین در مقابل پاسخهای سیستم ایمنی میزبان مقاومتر می سازند که ریشه کن کردن آنها را با مشکل مواجه می کند (1, 5, 6).
باکتریهای موجود در بیوفیلیم با میزان رشد کمتر و رفتارهای منظم چند سلولی، متفاوت از باکتریهای منفرد عمل می کنند. پلی ساکاریدهای خارج سلولی جزء مهمی از بیوفیلیمها را تشکیل می دهند که می توانند باکتری ها را در مقابل ترکیبات خطرناکی مانند عوامل اکسیدکننده و آنتی بیوتیکها، محافظت کنند(6). برای تشکیل بیوفیلیم، باکتری ابتدا باید به یک سطح متصل شود که این اتصال قابل برگشت است اما تولید پلیمرهای خارج سلولی منجر به یک اتصال غیرقابل برگشت می شود. هنگامی که اتصال محکم برقرار شد، باکتری ها تکثیر پیدا می کنند تا بیوفیلیم کامل و بالغ را تشکیل دهند. سپس باکتریهای منفرد متحرک از بیوفیلیم به سمت محل جدیدی حرکت می کنند تا بیوفیلیم جدیدی را ایجاد کنند (5, 7).
توانایی زنده ماندن باکتریهای بیماریزای موجود در بیوفیلیم در حضور غلظتهای بالای آنتی بیوتیک، مقاومت شدید نامیده می شود و یکی از بارزترین خصیصه های بیوفیلیم است که باعث شکست در درمان و عود عفونت می شود(8). مقاومت به آنتی بیوتیکها در باکتریها ممکن است به طرق مختلفی از قبیل مهار میانکنش آنتی بیوتیک و هدف، تغییر محل اتصال آنتی بیوتیک و پمپ آنتی بیوتیک به خارج از سلول صورت گیرد(9). باکتریهای قرار گرفته در بیوفیلیم می توانند تا حدودی در مقابل غلظتهای بالای آنتی بیوتیکهای باکتری کش نیز مقاومت کنند حتی اگر در حالت پلانکتونیک

روش کار

در طی سالهای 1394 لغایت 1396، تعداد 729 نمونه ادرار از بیماران مبتلا به عفونت ادراری مراجعه کننده به یک بیمارستان مرجع در شهر اصفهان جمع آوری و بررسی شد. تمامی نمونه ها پس از انتقال به آزمایشگاه بر روی محیط اختصاصی *HiCrome Aureus Agar* (Himedia, Mumbai, India) کشت داده شدند و کلنی های حاصل با استفاده از پرایمرهای اختصاصی *nuc* و آزمون PCR بر اساس دستورالعمل رحیمی و همکاران شناسایی شدند(4).

به منظور استخراج DNA از کلنی ها بر روی محیط اختصاصی *HiCrome Aureus Agar* از روش جوشاندن استفاده گردید(11). بر این اساس، یک کلنی از باکتری در 200 میکرولیتر آب مقطر استریل حل و همگن شد و به مدت 20 دقیقه در دستگاه *Thermoblock* (Biometra, Germany) قرار گرفت. پس از آن به مدت 15 دقیقه در $13000 \times$ سانتریفیوژ گردید و از سوپرناتانت به عنوان الگوی DNA در تمامی آزمونهای PCR استفاده گردید.

جهت شناسایی و تأیید سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* که بر روی محیط اختصاصی رشد کرده بودند از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *nuc* بر اساس دستورالعمل رحیمی و همکاران استفاده گردید(4).

جهت بررسی تولید بیوفیلیم به روش کیفی از آزمون کنگو رد آگار استفاده گردید(1). بر این اساس، پس از کشت سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* بر روی محیط کنگو رد آگار و انکوباسیون به مدت 48 ساعت در دمای 37 درجه سانتیگراد، کلنی

های مشکی به عنوان سویه های مولد بیوفیلیم و اسلایم مثبت در نظر گرفته شدند. همچنین، کلنی های قرمز روشن به عنوان سویه های اسلایم منفی و کلنیهای قرمز تیره به عنوان سویه های اسلایم کاذب (مشکوک) شناسایی گردیدند.

جهت تعیین تولید بیوفیلیم به روش کمی در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* اسلایم مثبت و اسلایم کاذب (بررسی شده به روش کیفی) از آزمون میکروتیتر پلیت استفاده بر اساس دستورالعمل رحیمی و همکاران گردید(1). بررسی نتایج در دستگاه *ELISA Reader* (Stat Fax-2100) و طول موج 570 نانومتر انجام گرفت. بر این اساس نتایج به این

شکل تفسیر شدند: $OD570 \geq 1$ (بیوفیلیم قوی)، $OD570 \leq 0.2$ (بیوفیلیم منفی)، $0.2 < OD570 < 1$ (بیوفیلیم متوسط).

جهت تعیین مقاومت به متی سیلین در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مولد بیوفیلیم (به روش کمی) از آنتی بیوتیک سفوکسی تین (30 میکروگرم) بر اساس دستورالعملهای *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) استفاده گردید (12). پس از تعیین سویه های مقاوم و حساس به متی سیلین، مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های مولد بیوفیلیم نسبت به آنتی بیوتیکهای *Rosco, Neo Sensitab, Denmark* (جنتامایسین 10 میکروگرم)، کلیندامایسین (2 میکروگرم)، کینوپریستین-دالفوپریستین (15 میکروگرم)، ریفامپین (5 میکروگرم)، کانامایسین (15 میکروگرم)، اریترومایسین (15 میکروگرم)، پنی سیلین (5 میکروگرم)، کلرامفنیکل (30 میکروگرم)، تتراسایکلین (30 میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (5 میکروگرم)، لینزولاید (30 میکروگرم)، آمیکاسین (15 میکروگرم)، تری متوپریم-سولفامتوکسازول (25 میکروگرم)، توبرامایسین (10 میکروگرم) و نیتروفورانتوئین (300 میکروگرم) با استفاده از روش دیسک دیفیوژن و بر اساس دستورالعمل CLSI مشخص شد(12).

در این مطالعه جهت انجام تجزیه و تحلیل آماری آزمون Fisher's exact و برنامه *GraphPad Prism 5.0* مورد استفاده قرار گرفت.

یافته ها

در این مطالعه 294 سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* از نمونه های ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری در طی 2 سال جداسازی گردید. تمامی سویه ها با استفاده از پرایمرهای اختصاصی *nuc* شناسایی و تأیید شدند. از این تعداد، 173 (59 درصد) سویه از خانم ها و 121 (41 درصد) سویه نیز از آقایان جدا گردیدند(جدول 1). بر این اساس مشخص گردید که بیشترین تعداد سویه ها از بیماران مرد و زن در بازه سنی بیشتر از 60 سال جدا شده است (38/4 درصد).

جدول 1- فراوانی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس در میان بیماران در بازه های سنی مختلف

تعداد	جنس		گروه سنی
	آقایان	خانم ها	
12 (4/1 درصد)	3 (2/5 درصد)	9 (5/2 درصد)	>1
7 (2/4 درصد)	2 (1/6 درصد)	5 (2/9 درصد)	10-1
11 (3/7 درصد)	4 (3/3 درصد)	7 (4 درصد)	20-11
17 (5/8 درصد)	7 (5/7 درصد)	10 (5/8 درصد)	30-21
27 (9/2 درصد)	8 (6/6 درصد)	19 (11 درصد)	40-31
44 (15 درصد)	20 (16/6 درصد)	24 (13/9 درصد)	50-41
63 (21/4 درصد)	32 (26/4 درصد)	31 (17/9 درصد)	60-51
113 (38/4 درصد)	45 (37/2 درصد)	68 (39/3 درصد)	60<
294	121 (41 درصد)	173 (59 درصد)	تعداد

بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مولد بیوفیلم متعلق به پنی سیلین بود و 96 درصد سویه ها نسبت به این آنتی بیوتیک مقاوم بودند. علاوه بر این، بیش از 60 درصد سویه ها نیز نسبت به اریترومایسین، سیپروفلوکساسین، کلیندامایسین، توبرامایسین و تتراسایکلین مقاومت نشان دادند. در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، بیشترین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیکهای پنی سیلین، اریترومایسین و سیپروفلوکساسین مشاهده شد که بیش از 90 درصد سویه ها نسبت به آنها مقاوم بودند. همچنین، مقاومت نسبت به آنتی بیوتیکهای نیتروفورانئوتین و کلرامفنیکل نیز کمتر از سایر آنتی بیوتیکها بود و تمامی سویه ها در این مطالعه نسبت به آنتی بیوتیکهای لینزولاید و کینوپریستین-دالفوپریستین حساسیت نشان دادند. در مقابل، در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی سیلین، 91 درصد سویه ها نسبت به پنی سیلین مقاوم بودند و پس از آن مقاومت نسبت به اریترومایسین، تتراسایکلین، سیپروفلوکساسین و تری متوپریم-سولفامتوکسازول (بیشتر از 30 درصد) از سایر آنتی بیوتیکها بالاتر بود. در مورد تمامی آنتی بیوتیکها به استثناء کلرامفنیکل، لینزولاید و کینوپریستین-دالفوپریستین اختلاف معناداری از نظر مقاومت در میان سویه های مقاوم و حساس به متی سیلین مشاهده گردید (جدول 2).

نتایج حاصل از بررسی کیفی تولید بیوفیلم در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد که در مجموع، 85 سویه (28/9 درصد) قادر به تشکیل کلنی های مشکی رنگ بودند و به عنوان سویه های اسلامیم مثبت شناسایی شدند. همچنین، 64 سویه (21/8 درصد) نیز واجد کلنی های قرمز تیره بودند (اسلامیم کاذب) و 145 سویه (49/3 درصد) نیز فاقد توانایی تشکیل اسلامیم و واجد کلنیهای قرمز روشن بودند.

به دنبال بررسی توانایی تشکیل بیوفیلم به روش کمی میکروتیتر پلیت در میان 149 سویه استافیلوکوکوس اورئوس اسلامیم مثبت و اسلامیم کاذب مشخص گردید که 68 سویه (45/6 درصد) توانایی تشکیل بیوفیلم قوی داشتند ($OD_{570} \geq 1$) و 47 سویه (31/5 درصد) نیز بیوفیلم منفی بودند ($OD_{570} \leq OD_c$). همچنین، 34 سویه (22/8 درصد) نیز به عنوان سویه های مولد بیوفیلم متوسط شناسایی شدند ($0.2 < OD_{570} < 1$) و هیچکدام از سویه ها قادر به تشکیل بیوفیلم ضعیف نبودند.

از مجموع 102 سویه استافیلوکوکوس اورئوس مولد بیوفیلم (بیوفیلم قوی و متوسط) 58 سویه (56/9 درصد) نسبت به سفوکسی تین مقاومت نشان دادند و به عنوان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در این مطالعه انتخاب شدند. همچنین، 44 سویه (43/1 درصد) نیز به عنوان سویه های حساس به متی سیلین تعیین گردیدند. بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مولد بیوفیلم متعلق به پنی سیلین

جدول 2- مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی سیلین نسبت به 15 آنتی بیوتیک

P value	تعداد	سویه های استافیلوکوکوس اورئوس		آنتی بیوتیک
		حساس به متی سیلین	مقاوم به متی سیلین	
< 0.0001	57 (56 درصد)	10 (23 درصد)	47 (81 درصد)	آمیکاسین
< 0.0001	70 (69 درصد)	16 (36 درصد)	54 (93 درصد)	اریترومایسین
< 0.0001	59 (58 درصد)	11 (25 درصد)	48 (83 درصد)	کانامایسین
< 0.0001	61 (60 درصد)	14 (32 درصد)	47 (81 درصد)	تتراسایکلین
< 0.0001	62 (61 درصد)	13 (30 درصد)	49 (84 درصد)	کلیندامایسین
-	0	0	0	لینزولاید
< 0.0001	62 (61 درصد)	12 (27 درصد)	50 (86 درصد)	توبرامایسین
< 0.0001	66 (65 درصد)	13 (30 درصد)	53 (91 درصد)	سیپروفلوکساسین
0.0032	98 (96 درصد)	40 (91 درصد)	58 (100 درصد)	پنی سیلین
0.0594	3 (3 درصد)	0	3 (5 درصد)	کلرامنیکل
-	0	0	0	کینوپریستین-دالفوپریستین
< 0.0001	46 (45 درصد)	6 (14 درصد)	40 (69 درصد)	جنتامایسین
< 0.0001	50 (49 درصد)	8 (18 درصد)	42 (72 درصد)	ریفامپین
< 0.0001	56 (55 درصد)	13 (30 درصد)	43 (74 درصد)	تری متوپریم-سولفامتوکسازول
< 0.0001	9 (9 درصد)	0	9 (16 درصد)	نیتروفورانئوتین

بحث

مقایسه با سایر بازه های سنی) در بیمارستان به دلایل مختلف دانست(1). با استفاده از روشهای کمی و کیفی بررسی تولید بیوفیلیم در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس در این مطالعه مشخص گردید که در مجموع، 102 سویه (68/4 درصد) واجد توانایی تشکیل بیوفیلیم قوی و متوسط بودند. علاوه بر این، 56/9 درصد از سویه های مولد بیوفیلیم نیز نسبت به آنتی بیوتیک سفوکسی تین مقاومت نشان دادند و به عنوان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلیم در این مطالعه مشخص گردیدند. این یافته ها به شکل معناداری ($P < 0/004$) کمتر از فراوانی سویه های مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلیم (77 درصد) در مطالعه پیشین است که در سال 2016 در شهر تهران به انجام رسیده است(1). دلیل این امر را می توان ناشی از تفاوت در شهرها و بیمارستانهای مورد بررسی و همچنین نوع نمونه ها در 2 مطالعه دانست. در مطالعه پیشین، جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس تنها از نمونه های بیماران واجد سوند ادراری جداسازی شده بودند، در حالیکه در این مطالعه نمونه های ادراری مختلف مورد بررسی قرار گرفتند. در مطالعه حاضر شیوع سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در مقایسه با سایر مطالعات انجام گرفته بر روی نمونه های مختلف در کشور متفاوت بود (1, 4, 11, 13-25). این

استافیلوکوکوس اورئوس از جمله باکتریهای مهم عامل ایجاد عفونتهای ادراری در جامعه محسوب می شود. این باکتری واجد طیف وسیعی از عوامل بیماریزایی و حدت است که توسط عوامل ژنتیکی متحرک مختلفی از جمله پلاسمیدهها، باکتریوفاژها، جزایر بیماریزایی و اینتگرونها رمزگذاری می شوند که همین امر استافیلوکوکوس اورئوس را مبدل به یکی از خطرناکترین و مهمترین عوامل بیماریزای عفونی در جهان نموده است (4, 13). تولید بیوفیلیم از مهمترین عوامل بیماریزایی در باکتریهای مختلف از جمله استافیلوکوکوس اورئوس به شمار می رود. استافیلوکوکوس اورئوس قادر به اتصال به طیف وسیعی از ماتریکسهای مختلف و آغاز کلینیزاسیون سطوح بافتهای میزبان از جمله اپیتلیوم دستگاه ادراری می باشد (1). در صورت عدم درمان صحیح، عفونتهای ادراری مبدل به عفونتهای عود کننده و مکرر شده که در بسیاری از موارد منجر به شکست راهکاری درمانی می شود. در مطالعه حاضر که در طی 2 سال بر روی نمونه های ادراری بیماران مبتلابه عفونت ادراری در شهر اصفهان انجام گرفته است، شیوع سویه های استافیلوکوکوس اورئوس در بازه سنی بزرگتر از 50 سال در خانمها و آقایان بیشتر از سایر سنین بود (59/8 درصد) بود که این امر را می توان ناشی از ضعیفتر بودن سیستم ایمنی در افراد در این بازه سنی، ابتلا به بیماریهای زمینه ای و یا احتمال بستری شدن بیشتر (در

نبود. اختلاف شیوع مقاومت در میان سویه های مولد بیوفیلیم حساس و مقاوم به متی سیلین معنادار بود و سویه های حساس به متی سیلین از مقاومت بالایی نسبت به آنتی بیوتیکهای مورد استفاده (به استثناء پنی سیلین) برخوردار نبودند. این نتایج تا حدودی کمتر از نتایج حاصل از مطالعه دیگری در سال 2013 در شهر تهران است که در آن مجموعه ای از نمونه ها شامل ادرار، زخم، خون، خلط، آبسه و ... مورد بررسی قرار گرفتند (21). یافته های این مطالعه نشان داد که در مورد سویه های مقاوم به متی سیلین آنتی بیوتیک نیتروفورانئوئین همچنان می تواند گزینه درمانی مناسبی به شمار رود.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده شیوع نسبتا بالای سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مولد بیوفیلیم در نمونه های ادراری بیماران مبتلا به عفونت ادراری می باشد. در این میان سویه های مولد بیوفیلیم مقاوم به متی سیلین از مقاومت آنتی بیوتیکی بالایی نیز نسبت به طیف وسیعی از آنتی بیوتیکها در این مطالعه برخوردار بودند. حضور و دوام این سویه های مولد بیوفیلیم بسیار مقاوم به درمان در بیمارستان مورد بررسی، نشان دهنده انتقال و انتشار گسترده این سویه ها در میان بیماران در این بیمارستان است. این یافته ها مؤید نقش مهم تشکیل بیوفیلیم و مقاومت آنتی بیوتیکی در ایجاد عفونت در بیماران می باشد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه در قالب طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه اصفهان، شماره 920411، به انجام رسیده است.

تفاوت در فراوانی سویه های مقاوم به متی سیلین می تواند به دلیل نحوه انتخاب سویه ها، نوع نمونه ها، سرپایی یا بستری بودن بیماران، تفاوت در نوع بیمارستانها و سیاستهای کنترل عفونت متفاوت در بیمارستانها مختلف باشد. در مطالعه حاضر، از میان 294 سویه استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شده از نمونه های ادراری، در ابتدا سویه های مولد بیوفیلیم مشخص شدند و سپس به بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی این سویه ها پرداخته شد.

در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی سیلین مولد بیوفیلیم، بالاترین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک پنی سیلین مشاهده گردید که در مجموع 96 درصد سویه های مولد بیوفیلیم نسبت به آن مقاومت نشان دادند. این یافته ها منطبق بر یافته های پیشین است که در مورد سویه های مقاوم به متی سیلین در تمامی مطالعات انجام گرفته 100 درصد سویه ها نسبت به این آنتی بیوتیک مقاومت نشان دادند (1, 4, 13, 25-20). علاوه بر این، در مطالعه حاضر هیچکدام از سویه ها نسبت به آنتی بیوتیکهای لینزولاید و کینوپریستین-دالفوپریستین مقاومت نشان ندادند. در سایر مطالعات نیز در کشور تاکنون مقاومتی نسبت به این آنتی بیوتیکها گزارش نشده است (1, 4, 13-26). با توجه به این یافته ها و یافته های پیشین، این آنتی بیوتیکها می توانند گزینه های مناسبی جهت درمان عفونتهای ناشی از سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین باشند. همچنین، همانند سایر گزارشات در کشور (1, 4, 13, 20-25) آنتی بیوتیکهای اریترومایسین، سیپروفلوکساسین نمی توانند درمانهای انتخابی برای عفونتهای ناشی از سویه های مقاوم به متی سیلین باشند. مقاومت بالا نسبت به این آنتی بیوتیکها ناشی از استفاده فراوان از آنها در سیستم درمانی کشور است بنابراین شیوع بالای مقاومت چندان تعجب برانگیز

REFERENCES

1. Rahimi F, Katouli M, Karimi S. Biofilm production among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from catheterized patients with urinary tract infection. *Microbial Pathogenesis*. 2016;98:69-76.
2. Petrelli D, Repetto A, D'Ercole S, Rombini S, Ripa S, Prenna M, et al. Analysis of methicillin-susceptible and methicillin-resistant biofilm-forming *Staphylococcus aureus* from catheter infections isolated in a large Italian hospital. *Journal of Medical Microbiology*. 2008;57(3):364-72.
3. Evans ME, Kralovic SM, Simbartl LA, Freyberg RW, Obrosky DS, Roselle GA, et al. Nationwide reduction of health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in veterans affairs long-term care facilities. *American Journal of Infection Control*. 2014;42(1):60-2.
4. Rahimi F, Katouli M, Pourshafie MR. Characteristics of hospital-and community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Tehran, Iran. *Journal of Medical Microbiology*. 2014;63(Pt 6):796-804.
5. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 1999;284(5418):1318-22.
6. O'Gara JP. *ica* and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiology Letters*. 2007;270(2):179-88.
7. Gad GFM, El-Feky MA, El-Rehewy MS, Hassan MA, Abolella H, El-Baky RMA. Detection of *icaA*, *icaD* genes and biofilm production by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from urinary tract catheterized patients. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2009;3(05):342-51.
8. Marr AK, Gooderham WJ, Hancock RE. Antibacterial peptides for therapeutic use: obstacles and realistic outlook. *Current Opinion in Pharmacology*. 2006;6(5):468-72.
9. Lebeaux D, Ghigo J-M, Beloin C. Biofilm-related infections: bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2014;78(3):510-43.
10. Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *The lancet*. 2001;358(9276):135-8.
11. Rahimi F, Bouzari M, Maleki Z, Rahimi F. Antibiotic susceptibility pattern among *Staphylococcus* spp. with emphasis on detection of *mecA* gene in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates. *Iranian Journal of Clinical Infectious Diseases*. 2009;4(3):143-50.
12. Clinical and Laboratory Standard Institute C. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 25th informational supplement. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa. 2015.
13. Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie MR. Prophage and antibiotic resistance profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in Iran. *Archives of Virology*. 2012;157(9):1807-11.

14. Fatholahzadeh B, Emaneini M, Gilbert G, Udo E, Aligholi M, Modarressi MH, et al. Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) analysis and antimicrobial susceptibility patterns of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) isolates in Tehran, Iran. *Microbial Drug Resistance*. 2008;14(3):217-20.
15. Goudarzi M, Goudarzi H, Figueiredo AMS, Udo EE, Fazeli M, Asadzadeh M, et al. Molecular characterization of methicillin resistant Staphylococcus aureus strains isolated from intensive care units in Iran: ST22-SCCmec IV/t790 emerges as the major clone. *PLoS One*. 2016;11(5):e0155529.
16. Havaei SA, Ghanbari F, Rastegari AA, Azimian A, Khademi F, Hosseini N, et al. Molecular typing of hospital-acquired Staphylococcus aureus isolated from Isfahan, Iran. *International Scholarly Research Notices*. 2014;2014:1-6.
17. Japoni A, Jamalidoust M, Farshad S, Ziyaeyan M, Alborzi A, Japoni S, et al. Characterization of SCCmec types and antibacterial susceptibility patterns of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in southern Iran. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 2011;64(1):28-33.
18. Javidnia S, Talebi M, Saifi M, Katouli M, Rastegar Lari A, Pourshafie MR. Clonal dissemination of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in patients and the hospital environment. *International Journal of Infectious Diseases*. 2013;17(9):e691-5.
19. Mohammadi S, Sekawi Z, Monjezi A, Maleki M-H, Soroush S, Sadeghifard N, et al. Emergence of SCCmec type III with variable antimicrobial resistance profiles and spa types among methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated from healthcare-and community-acquired infections in the west of Iran. *International Journal of Infectious Diseases*. 2014;25:152-8.
20. Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie M. Prophage typing of methicillin resistant Staphylococcus aureus isolated from a tertiary care hospital in Tehran, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2013;6(1):80-5.
21. Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie MR. Antibiotic resistance pattern of methicillin resistant and methicillin sensitive Staphylococcus aureus isolates in Tehran, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2013;6(2):144-9.
22. Rahimi F, Karimi S. Characteristics of methicillin resistant Staphylococcus aureus strains isolated from poultry in Iran. *Archives of Clinical Infectious Diseases*. 2015;10(4):e30885.
23. Rahimi F, Karimi S. Isolation of methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains producing enterotoxins A, K and Q from chicken meat in Isfahan, Iran, 2014. *Archives of Clinical Infectious Diseases*. 2016;11(4):e35601.
24. Rahimi F, Karimi S. Characteristics of virulence factors in methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains isolated from a referral hospital in tehran, iran. *Archives of Clinical Infectious Diseases*. 2016;11(1):e33220.
25. Rahimi F, Shokoohizadeh L. Characterization of methicillin resistant Staphylococcus aureus strains among inpatients and outpatients in a referral hospital in Tehran, Iran *Microbial Pathogenesis*. 2016;97:89-93.
26. Havaei SA, Vidovic S, Tahmineh N, Mohammad K, Mohsen K, Starnino S, et al. Epidemic methicillin-susceptible Staphylococcus aureus lineages are the major cause of infections at an Iranian university hospital. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011;49(11): 3990-3.