فراوانی سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلم جداشده از بیماران در اصفهان

فاتح رحیمی[1]*

۱- دکتری تخصصی باکتری شناسی، دانشیار بخش میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوریهای زیستی، دانشگاه اصفهان
***نشانی برای مکاتبه:** اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم و فناوریهای زیستی، بخش میکروبیولوژی
f.rahimi@sci.ui.ac.ir

دریافت مقاله: خرداد نود و نه پذیرش برای چاپ: تیر نود و نه

چکیده

سابقه و هدف: استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس یک باکتری فرصت طلب بیماریزا است که قادر به تولید بیوفیلم بوده و اغلب با عفونتهای بیمارستانی همراه است. هدف از این مطالعه، بررسی تشکیل بیوفیلم و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در میان سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین جدا شده از بیماران در شهر اصفهان است.

***روش کار**: در این مطالعه در طی سالهای ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴، در مجموع ۱۳۹ جدایه مشکوک به استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس از نمونه های بالینی بیماران در یک بیمارستان مرجع در شهر اصفهان جمع آوری گردید. تمامی جدایه ها با استفاده از آزمونهای معمول بیوشیمیایی و آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی مورد شناسایی قرار گرفتند. مقاومت سویه ها نسبت به آنتی بیوتیک سفوکسی تین به روش انتشار دیسک و بر اساس دستورالعمل CLSI تعیین گردید و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین نسبت به ۱۰ آنتی بیوتیک مشخص شد. به منظور بررسی توانایی تشکیل بیوفیلم در میان سویه های مقاوم به متی سیلین از آزمونهای کیفی ژلوز قرمز کنگو و کمی میکروتیتر پلیت استفاده گردید.*

***یافته ها**: با استفاده از آزمونهای بیوشیمیایی و PCR، ۱۰۷ سویه استافلوکوکوس اپیدرمیدیس در میان نمونه ها مورد شناسایی و تأیید قرار گرفتند. بر اساس نتایج حاصل از آزمون انتشار دیسک نیز ۵۲ درصد درصد سویه ها مقاوم به متی سیلین بودند و بیشترین میزان مقاومت نیز در میان سویه ها نسبت به آنتی بیوتیک اریترومایسین مشاهده گردید. همچنین، تمامی سویه ها نسبت به آنتی بیوتیکهای ونکومایسین، لینزولاید، کینوپریستین-دالفوپریستین و کلرامفنیکل حساسیت نشان دادند. در آزمون قرمز کنگو، ۴۱ درصد سویه ها واجد کلنیهای مشکی و اسلایم مثبت بودند و در آزمون میکروتیتر پلیت نیز ۵۰ درصد سویه ها بیوفیلم قوی تشکیل دادند.*

***نتیجه گیری**: نتایج این مطالعه نشان دهنده شیوع نسبتا بالای جدایه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلم در بیمارستان مورد مطالعه در اصفهان است. این سویه ها که از مقاومت آنتی بیوتیکی بالایی نیز برخوردار هستند یک چالش و خطر مهم برای بهداشت و سلامت جامعه به شمار می روند.*

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، بیوفیلم، مقاومت به متی سیلین

مقدمه

استافیلوکوکهای کواگولاز منفی به طور گسترده ای در سطح بدن انسان پراکنده شده اند و بیشتر فلور باکتریایی کامنسال انسان را تشکیل می دهند. در میان استافیلوکوکهای کوآگولاز منفی، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس رایجترین و شایعترین گونه بیماریزا می باشد (۱). این باکتری یک بیماریزای فرصت طلب است و به ویژه در بیمارانی که از سوندهای ادراری، کاتترهای وریدی، پروتز، ایمپلنتهای دندانی و دریچه های مصنوعی قلب استفاده می کنند اغلب با باکتریمی و عفونتهای بیمارستانی همراه می باشد (۲). بررسیهای انجام شده بر روی عوامل بیماریزایی این باکتری نشان می دهد که استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس واجد سیستمهای مختلف تکامل یافته ای برای محافظت از خود در برابر عوامل سیستم ایمنی ذاتی، از جمله پپتیدهای ضد میکروبی و فاگوسیتوز است (۳, ۴). همچنین درمانهای سرکوب کننده سیستم ایمنی، ضعف ایمنی در نوزادان نارس، بیماران مبتلا به لوسمی و یا سایر سرطانهای بدخیم خطر ابتلا به عفونت با استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس را افزایش می دهند (۵). بر اساس گزارش موسسه ملی سلامت، عفونتهای باکتریایی انسان تا ۶۰ درصد مربوط به بیوفیلم همراه با میکروارگانیسمها می باشد (۶). برآورد شده است که در حدود ۴۰ تا ۵۰ درصد عفونتهای دریچه مصنوعی قلب و ۱۰ تا ۵۰ درصد عفونتهای بیوفیلمی ناشی از سوند را استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ایجاد می کنند. در ایالت متحده آمریکا، در هر سال؛ حدود ۲۵۰۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰۰ مورد عفونت خون رخ می دهد که در مجموع حدود ۶۱ درصد از این عفونتها ناشی از استافیلوکوکها می باشد (۵). به طور کلی بیوفیلم متشکل از باکتریها در یک ماتریکس پلی ساکاریدی، پروتئین و اسید نوکلئیک می باشد که باعث محافظت آنها در برابر آنتی بیوتیکها و عملکرد سیستم ایمنی میزبان می گردد؛ در نتیجه یک عامل مهم در توسعه عفونت مزمن و عود شونده به شمار می رود (۳, ۷).

مقاومت آنتی بیوتیکی در بسیاری از گونه های استافیلوکوکوس شایع است و به یک چالش بسیار مهم در سیستمهای درمانی مبدل شده است که در نهایت منجر به افزایش هزینه های درمانی بیماران می شود (۷). در طول سه دهه گذشته شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی به سرعت افزایش پیدا کرده است که ناشی از افزایش فشار انتخابی و استفاده از آنتی بیوتیکهای مختلف از جمله خانواده بتا-لاکتام می باشد. افزایش استفاده از آنتی بیوتیکهای وسیع الطیف، به ویژه بتا-لاکتامها، در اثر انتخاب و استفاده در پیشگیری و درمان عفونت در بیماران بستری، منجر به ظهور جدایه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به چند آنتی بیوتیک بر روی پوست بیماران بستری در بیمارستان گردیده است (۸).

طبق برآوردهای انجام شده، سالانه در ایالت متحده آمریکا، عفونتهای ناشی از جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین بیشتر از بیماری ایدز باعث مرگ و میر بیماران می شود. مقاومت نسبت به متی سیلین در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس نیز شایع است (۹). بیش از ۱۰ درصد این جدایه ها را استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین را تشکیل می دهند (۱۰). جدایه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلم، به یک مشکل و چالش بالینی بسیار جدی مبدل شده اند که شیوع این جدایه ها درمان عفونتهای ناشی از استفاده از ابزارهای خارجی در بدن را بسیار پیچیده کرده است. این مطالعه با هدف بررسی تشکیل بیوفیلم و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در میان جدایه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین جدا شده از نمونه های بالینی در شهر اصفهان به انجام رسیده است.

روش کار

در این مطالعه که در طی دی ماه ۱۳۹۳ لغایت تیر ماه سال ۱۳۹۴ صورت گرفته است، در مجموع ۱۳۹ جدایه مشکوک به استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جدا شده از نمونه های بالینی بیماران مراجعه کننده به یک بیمارستان مرجع در شهر اصفهان جمع آوری و به آزمایشگاه باکتری شناسی دانشگاه اصفهان منتقل شدند. نمونه های بیماران شامل خون، ادرار، سوند، زخم، آبسه، مایع مغزی نخاعی، مایع صفاقی، خلط، برونش و بافت بودند. جدایه ها پس از انتقال به آزمایشگاه بر روی محیط کشت مانیتول سالت آگار HiMedia (Mumbai, India) کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. سپس کلنیهای قرمز رنگ بر روی محیط مانیتول سالت آگار انتخاب شدند و بر روی محیط کشت ژلوز BHI (Scharlau, Spain) کشت داده شدند و جهت شناسایی و تأیید جنس و گونه از آزمونهای میکروبشناسی معمول از جمله رنگ آمیزی گرم، کاتالاز، اکسیداز، حساسیت نسبت به نوبیوسین، DNase، کواگولاز و تخمیر مانیتول استفاده گردید (۱۱). پس از شناسایی جدایه ها، تمامی سویه ها با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن gseA مورد تأیید قرار گرفتند (۸).

به منظور استخراج DNA از سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس از دستورالعمل رحیمی و همکاران استفاده گردید (۱۲). همچنین، جهت انجام آزمون PCR از پرایمرهای اختصاصی ژن gseA و بر اساس مخلوط واکنش و برنامه سیکل حرارتی ارائه شده پیشین استفاده گردید (۸).

به منظور تعیین مقاومت به متی سیلین در میان سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جداسازی شده از بیماران از آزمون انتشار دیسک سفوکسی تین (۳۰ میکروگرم) و بر اساس استانداردهای CLSI استفاده گردید (۱۳). پس از تعیین سویه های مقاوم به متی سیلین، مقاومت این سویه ها نسبت به ۱۰ آنتی بیوتیک مختلف شامل اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، تیکوپلانین (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، تری متوپریم-سولفامتوکسازول (۱/۲۵-۲۳/۵ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم)، کینوپریستین-دالفوپریستین (۱۵ میکروگرم) و لینزولاید (۳۰ میکروگرم) به روش انتشار دیسک مورد بررسی قرار گرفت. تمامی دیسکهای آنتی بیوتیکی مورد استفاده در این مطالعه از شرکت MAST کشور انگلستان تهیه شدند.جهت بررسی توانایی تشکیل لایه لعابی (اسلایم) به روش کیفی از روش ژلوز قرمز کنگو بر اساس دستورالعمل Knobloch و همکاران استفاده گردید (۱۴). پس از انجام مراحل آزمایش، کلنیهای باکتریایی از نظر ظهور رنگهای مشکی، قرمز تیره و قرمز روشن تقسیم بندی شدند. بر این اساس، سویه های واجد کلنیهای مشکی به عنوان سویه های اسلایم مثبت، سویه های دارای کلنیهای قرمز تیره به عنوان سویه های مشکوک و اسلایم کاذب و همچنین سویه های مولد کلنیهای قرمز روشن به عنوان سویه های اسلایم منفی دسته بندی شدند.

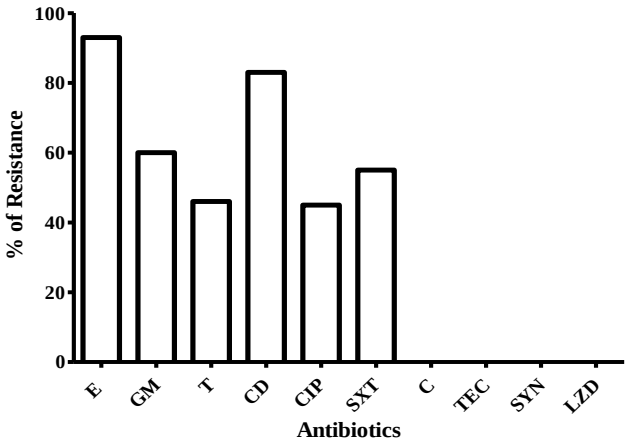
به منظور بررسی توانایی تشکیل بیوفیلم به روش کمی میکروتیتر پلیت در میان سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس که به روش کیفی ژلوز قرمز کنگو، اسلایم مثبت یا اسلایم کاذب بودند، از دستورالعمل Wang و همکاران استفاده گردید (۱۵). در نهایت جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه خوانشگر الایزا (Stat Fax 2100, USA) در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت شد. پس از انجام مراحل آزمایش، سویه هایی که جذب نوری آنها بیشتر از ۱ بود به عنوان سویه های چسبنده قوی و سویه هایی که جذب نوری آنها کمتر از ۰/۵ بود به عنوان سویه های غیرچسبنده دسته بندی شدند. علاوه بر این، زمانی که جذب نوری در محدوده ۰/۵ تا ۱ بود، جدایه به عنوان چسبنده ضعیف در نظر گرفته شد.

جهت انجام بررسیهای آماری و همچنین تجزیه و تحلیل داده های به دست آمده در طی آزمونهای مختلف و همچنین جهت رسم تمامی نمودارها از نرم افزار GraphPad Prism 5 استفاده گردید.

یافته ها

در این مطالعه در مجموع، از ۱۳۹ جدایه بالینی مشکوک به استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جدا شده از آزمایشگاه بیمارستان مورد بررسی، ۱۰۷ سویه (۷۷ درصد) با استفاده از آزمونهای معمول و همچنین با استفاده از آزمون PCR مورد شناسایی قرار گرفتند که ۵۲ درصد (۵۶ سویه) متعلق به زنان و ۴۸ درصد (۵۱ سویه) نیز متعلق به مردان بودند. نتایج حاصل از آزمون PCR کاملا منطبق بر نتایج شناسایی بیوشیمیایی جدایه ها بود.

در مجموع ۵۶ سویه (۵۲ درصد) نسبت به آنتی بیوتیک سفوکسی تین مقاوم بودند و به عنوان سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین انتخاب شدند. در میان این سویه های بیشترین میزان مقاومت نسبت به اریترومایسین مشاهده گردید و پس از آن بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیکهای کلیندامایسین و تری متوپریم-سولفامتوکسازول مشاهده گردید. همچنین تمام سویه ها نسبت به تیکوپلانین، کلرامفنیکل، لینزولاید و کینوپریستین-دالفوپریستین حساس بودند(شکل ۱ ۲۹ سویه (۵۲ درصد) متعلق به مردان بود و ۲۷ سویه (۴۸ درصد) نیز متعلق به زنان بود.



شکل ۱- الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین جداسازی شده از بیماران.

در این مطالعه ۱۶ سویه (۲۸ درصد) از بخش کلیه و مجاری ادراری، ۱۴ سویه (۲۵ درصد) از اورژانس، ۹ سویه (۱۶ درصد) از بخش مراقبتهای ویژه، ۸ سویه (۱۴ درصد) از بخش مراقبتهای ویژه نوزادان، ۴ سویه (۷ درصد) از بخش جراحی، ۲ سویه (۴ درصد) از بخش زنان، ۱ سویه (۲ درصد) از هرکدام از بخشهای داخلی، عفونی و ریه جداسازی گردید. از ۵۶ سویه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین، ۴۵ سویه (۸۰ درصد) متعلق به بیماران بستری و ۱۱ سویه (۲۰ درصد) متعلق به بیماران سرپایی بود.

۳۱ (۵۴ درصد) سویه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین،از کشت خون، ۱۶ سویه (۲۹ درصد) از ادرار و سوند، ۳ سویه (۵ درصد) از زخم، ۲ سویه (۴ درصد) از هرکدام از مواضع آبسه و خلط، ۱ سویه (۲ درصد) از هرکدام از مواضع مایع مغزی نخاعی و مایع صفاقی جدا شد.

بر اساس نتایج حاصل از آزمون کیفی ژلوز قرمز کنگو مشخص گردید که از مجموع ۵۶ سویه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین جدا شده ، ۴۱ درصد (۲۳ سویه) واجد کلنیهای مشکی (اسلایم مثبت)، ۷ درصد (۴ سویه) واجد کلنیهای قرمز روشن (اسلایم منفی) و ۵۲ درصد (۲۹ سویه) واجد کلنیهای قرمز تیره (اسلایم کاذب یا مشکوک) بودند.

بر اساس نتایج بررسی کمی تشکیل بیوفیلم از میان ۵۶ سویه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین جدا شده از نمونه های بالینی، در مجموع ۵۰ درصد (۲۸ سویه) بیوفیلم قوی، ۳۰ درصد (۱۷ سویه) بیوفیلم متوسط، ۱۳ درصد (۷ سویه) بیوفیلم ضعیف تشکیل دادند و ۷ درصد (۴ سویه) نیز فاقد قدرت تشکیل بیوفیلم (غیرچسبنده) بودند.

بحث

استافیلوکوکهای کواگولاز منفی و به ویژه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس از مهمترین عوامل ایجاد عفونت در بیمارانی محسوب می شوند که از ابزارهای پزشکی خارجی مانند سوندهای ادراری، کاتترهای وریدی، پروتز، ایمپلنتهای دندانی و دریچه های مصنوعی قلب استفاده می کنند (۴). در گذشته استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به عنوان باکتری بی خطر کامنسال پوست در نظر گرفته می شد، در حالیکه در حال حاضر به عنوان یک بیماریزای مهم فرصت طلب شناخته شده است (۸). این باکتری سومین عامل ایجاد عفونتهای بیمارستانی به شمار می رود و عامل اصلی بیماریزایی آنها قابلیت چسبیدن و تشکیل بیوفیلم بر سطح ابزارهای پزشکی می باشد. باکتری به وسیله بیوفیلم از حضور آنتی بیوتیکها، استرسهای محیطی، پاسخهای ایمنی و عوامل فاگوسیت کننده فرار می کند و در واقع بیوفیلم باعث محافظت از باکتری می شود. امروزه به منظور بررسی توانایی تشکیل بیوفیلم از روش کیفی ژلوز قرمز کنگو و آزمون کمی میکروتیتر پلیت استفاده می شود. در این مطالعه نیز، فراوانی تشکیل بیوفیلم در میان سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین جداسازی شده از بیماران با استفاده از ترکیب روشهای کیفی ژلوز قرمز کنگو و کمی میکروتیتر پلیت مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. بر این اساس مشخص شد که از لحاظ توانایی ایجاد اسلایم در محیط ژلوز قرمز کنگو، ۴۱ درصد از سویه ها اسلایم مثبت بودند و همچنین ۷ درصد سویه ها نیز قادر به تشکیل اسلایم نبودند. در روش آزمون کمی میکروتیتر پلیت نیز ۵۰ درصد سویه ها بیوفیلم قوی تشکیل دادند. علاوه بر این، ۷ درصد سویه های جداسازی شده امکان اتصال به پلی استیرن را نداشتند. تاکنون گزارشات مختلفی در ایران و سایر کشورها در مورد شیوع سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مولد اسلایم ارائه شده است.

در مطالعه رحیمی و کریمی در سال ۲۰۱۶ در تهران، ۸۲ درصد سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس اسلایم مثبت بودند و ۶۸ درصد سویه ها نیز قابلیت اتصال محکم به پلی استرین در آزمون میکروتیتر پلیت را داشتند (۱). در مطالعه دیگری در شهرکرد در سال ۲۰۱۵، ۵۰ درصد سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس قادر به ایجاد اسلایم در محیط قرمز کنگو بودند و در آزمون میکروتیتر پلیت نیز ۲۵ درصد سویه ها توانایی تشکیل بیوفیلم داشتند (۱۶). در سال ۱۳۹۳ در زابل، فراوانی سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مولد اسلایم ۹۶ درصد بود (۱۷). همچنین، افتخار و میرمحمدی در تهران در سال ۲۰۰۹، ۵۰ سویه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جداشده از نمونه های بیمارستانی را از نظر تشکیل بیوفیلم مورد بررسی قرار دادند. بر این اساس مشخص گردید که در روش ژلوز قرمز کنگو، ۲۴ درصد سویه کلنی مشکی، ۳۶ درصد کلنی قرمز روشن و ۴۰ درصد کلنی حدواسط داشتند. علاوه بر این، از نظر تشکیل بیوفیلم در آزمون آزمون میکروتیتر پلیت، ۵۲ درصد سویه ها قادر به تشکیل بیوفیلم بودند (۱۸).

در مطالعه ای در سال ۲۰۰۰ در سوئد، ۶۲/۹ درصد سویه ها بیوفیلم مثبت بودند (۱۹). در مطالعه ای دیگر در سوئد در سال ۲۰۰۹، ۲۸ درصد جدایه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در روش ژلوز قرمز کنگو واجد توانایی تولید اسلایم بودند و ۴۷ درصد نیز در آزمون میکروتیتر پلیت بیوفیلم مثبت گزارش شدند (۲۰). در سال ۲۰۰۹ در مطالعه ای در مصر ۸۸/۶ درصد سویه ها قادر به تولید بیوفیلم بودند که ۵۱/۴ درصد آنها بیوفیلم قوی، ۳۷/۱ درصد بیوفیلم متوسط و ۱۱/۴ درصد بیوفیلم ضعیف داشتند (۲۱). در سال ۲۰۱۰ در برزیل، ۸۵/۴ درصد سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس بیوفیلم مثبت بودند (۲۲). طی بررسی دیگری در برزیل در سال ۲۰۱۴، ۵۸/۵ درصد سویه ها بیوفیلم مثبت بودند (۲۳). در مطالعه Du و همکاران در سال ۲۰۱۳ در چین، ۲۶/۹ درصد سویه های بالینی بیوفیلم مثبت بودند (۲۴).

نوع نمونه های بالینی از جمله عواملی است که ممکن است میزان تشکیل بیوفیلم را تحت تأثیر قرار دهند، که در این زمینه نتایج متفاوتی نیز گزارش شده است. در برخی از مطالعات، تولید مقادیر بالای بیوفیلم توسط استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در نمونه های غیرمایع و ابزارهای ارتوپدی مصنوعی و در برخی دیگر نیز در نمونه های خون و ادرار گزارش شده است (۲۵). در مطالعه حاضر ۵۸ درصد از جدایه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس از کشت خون و ۲۶ درصد از کشت ادرار جدا شد، که منطبق با نتایج مطالعات صورت گرفته در ایران (تهران، گرگان و تبریز)، عراق، چین و لیتوانی است که بیشترین میزان استافیلوکوس اپیدرمیدیس در نمونه های کشت خون را گزارش کرده اند (۱, ۱۸, ۲۴, ۲۸-۲۶). در مقابل، مطالعات صورت گرفته در برزیل، مصر و ایران (شهرکرد) حاکی از فراوانی بالای جداسازی استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس از کشت نمونه های ادرار و سوندهای ادراری می باشد (۱۶, ۲۲, ۲۹). تفاوت در فراوانی جداسازی از نمونه های مختلف بالینی می تواند ناشی از شرایط انجام آزمایشها (مانند شرایط انکوباسیون)، تفسیر نتایج و همچنین تفاوت در فراوانی نمونه های بالینی جمع آوری شده باشد.

امروزه شیوع سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین نیز به میزان زیادی افزایش پیدا کرده است، که یک عامل نگران کننده می باشد و مشکلات زیادی را در طی درمان بیماران ایجاد می کند. از طرفی شیوع سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک می تواند به عنوان منبعی از ژنهای مقاومت حائز اهمیت باشد که امکان انتقال آنها به سایر استافیلوکوکها به خصوص استافیلوکوکوس اورئوس را فراهم می سازد. از این جهت که استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس شایعترین باکتری ساکن طبیعی سطح بدن محسوب می شود، تشخیص عفونتهای حقیقی از موارد آلودگی یکی از مهمترین مشکلاتی است که در رابطه با این باکتری وجود دارد و مطالعات مختلفی به منظور شناسایی جدایه های مهاجم از جدایه های آلوده کننده صورت گرفته است (۱, ۸).

در مطالعه حاضر ۵۲ درصد جدایه ها نسبت به سفوکسی تین مقاوم بودند که طبق استاندارد CLSI به عنوان سویه های مقاوم به متی سیلین مورد تأیید قرار گرفتند. نتایج حاصل از مطالعه حاضر تا حدودی منطبق بر مطالعات صورت گرفته در چین و برزیل است. در سال ۲۰۱۳ در چین، فراوانی سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین جداسازی شده از نمونه های بالینی ۶۸/۱ درصد بود (۲۴).

نتایج حاصل از مطالعه حاضر در زمینه میزان مقاومت سویه ها به متی سیلین با برخی مطالعات صورت گرفته در ایران از جمله در تبریز در سال ۲۰۱۴، در تهران در سال ۲۰۱۵ و در اصفهان در سال ۱۳۹۵ (۲۶, ۳۰, ۳۱) و همچنین با مطالعات صورت گرفته در سایر کشورها از جمله ایتالیا، برزیل و سوئد مطابقت داشت (۲۳, ۳۲, ۳۳). همچنین، نتایج متفاوتی در مقایسه با برخی مطالعات صورت گرفته در ایران مشاهده شد، در مقایسه با نتایج مطالعه حاضر، فراوانی کمتری از سویه های مقاوم به متی سیلین در مطالعات رحیمی و همکاران، نجار پیرایه و همکاران در تهران گزارش شده است (۸, ۲۸). در سایر مطالعات انجام گرفته در مشهد، تبریز و اصفهان نیز مقاومت بالاتری گزارش شده است (۳۶-۳۴). شیوع بیشتر سویه های مقاوم به متی سیلین در شهرهای بزرگتر را می توان به دلیل مراجعه بیشتر افراد با عفونتهای مختلف از سایر شهرهای اطراف به مراکز درمانی شهرهای تهران، مشهد و اصفهان دانست که به طور معمول به عنوان بیمارستانهای مرجع شناخته می شوند.

در مطالعه حاضر تمام سویه های مورد بررسی نسبت به آنتی بیوتیکهای تیکوپلانین، لینزولاید و کینوپریستین-دالفوپریستین حساس بودند که مطابق با یافته های سایر گزارشات در تهران، تبریز و سوئد می باشد (۲۶, ۲۸, ۳۲, ۳۷, ۳۸). از این نظر که آنتی بیوتیکهای لینزولاید و سینرسید، آنتی بیوتیکهای نسبتا جدیدی به شمار می روند که استفاده از آنها در کشور بسیار محدود و پایین است که تنها برای درمان عفونتهای ناشی از جدایه های مقاوم به ونکومایسین مورد استفاده قرار می گیرند، در نتیجه حساسیت سویه ها نسبت به این آنتی بیوتیکها کاملا قابل پیش بینی بود. بنابراین، همانگونه که پیشتر در مورد سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مطرح گردید (۳۷, ۴۲-۳۹)، به عنوان مؤثرترین آنتی بیوتیکها جهت درمان عفونتهای ناشی از سویه های مقاوم به متی سیلین در کشور مطرح هستند.

بر اساس نتایج حاصل از آزمون تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی، مشخص گردید که بالاترین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک اریترومایسین در میان سویه های جداسازی شده مشاهده گردید که این یافته منطبق بر سایر مطالعات انجام گرفته در تهران، تبریز و اصفهان می باشد (۲۶, ۳۱, ۳۶, ۳۸). یکی از دلایل این امر می تواند ناشی از استفاده بیش از حد و بی رویه اریترومایسین در درمانهای بالینی و به خصوص جهت درمان جوشهای صورت باشد. چنانچه در گذشته در رابطه با سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین نیز مطرح گردید، اریترومایسین نمی تواند آنتی بیوتیک مؤثری جهت درمان عفونتهای ناشی از این باکتریها باشد (۳۷, ۴۱-۳۹). ماکرلیدها از قبیل اریترومایسین، آنتی بیوتیکهای وسیع الطیفی هستند که فعالیت ضد بیوفیلمی نیز به آنها نسبت داده شده است (۴۳). علاوه بر این، در این مطالعه رابطه معنا داری بین تشکیل بیوفیلم و مقاومت آنتی بیوتیکی به کلیندامایسین، جنتامیسین و تری متوپریم-سولفامتوکسازول در میان جدایه ها مشاهده گردید که با مطالعه انجام گرفته در اسپانیا مطابقت دارد (۴۴).

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه مؤید شیوع نسبتا بالای جدایه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلم در بیمارستان مورد مطالعه در اصفهان است. این سویه ها که از مقاومت آنتی بیوتیکی بالایی نیز برخوردار هستند یک چالش و خطر مهم برای بهداشت و سلامت جامعه به شمار می روند. عدم رعایت اصول بهداشتی و کنترل عفونت در بیمارستانها منجر به انتشار این سویه ها (همانند سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین) در جامعه و در میان افراد سالم خواهد شد. با توجه به توانایی بالا جهت تشکیل بیوفیلم در میان جدایه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین، تشخیص سریع و دقیق این جدایه ها و همچنین افتراق سویه های بیماریزا از سویه های آلوده کننده در آزمایشگاه از اهمیت بالایی برخوردار است.

تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه اصفهان به انجام رسیده است.

REFERENCES

1. Rahimi F, Karimi S. Biofilm Producing *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from clinical samples in Tehran, Iran. Archives of Clinical Infectious Diseases. 2016;11(3):e33343.
2. Gomes F, Leite B, Teixeira P, Oliveira R. Strategies to control *Staphylococcus epidermidis* biofilms. In: Méndez-Vilas's A, editor. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances Formatex Research Center; 2011. p. 843-52.
3. Fey PD, Olson ME. Current concepts in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis*. Future Microbiology. 2010;5(6):917-33.
4. García P, Benítez R, Lam M, Salinas AM, Wirth H, Espinoza C, et al. Coagulase-negative staphylococci: clinical, microbiological and molecular features to predict true bacteraemia. Journal of Medical Microbiology. 2004;53(1):67-72.
5. von Eiff C, Peters G, Heilmann C. Pathogenesis of infections due to coagulasenegative staphylococci. Lancet Infectious Diseases. 2002;2(11):677-85.
6. Szymanska G, Szemraj M, Szewczyk EM. Species-specific sensitivity of coagulase-negative staphylococci to single antibiotics and their combinations. Polish Journal of Microbiology. 2011;60(2):155-61.
7. Cheung GY, Otto M. Understanding the significance of *Staphylococcus epidermidis* bacteremia in babies and children. Current Opinion in Infectious Diseases. 2010;23(3):208.
8. Rahimi F. Molecular characteristics of biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* isolates causing urinary tract infections. Archives of Clinical Infectious Diseases. 2018;13(6):e61704.

9. Otto M. *Staphylococcus* colonization of the skin and antimicrobial peptides. Expert Review of Dermatology. 2010;5(2):183-95.

10. Chen M, Yu Q, Sun H. Novel strategies for the prevention and treatment of biofilm related infections. International Journal of Molecular Sciences. 2013;14(9):18488-501.

11. Winn WC. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Edition S, editor: Lippincott williams & wilkins; 2006.

12. 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. Archives of Clinical Infectious Diseases. 2009;4(3):143-50.

13. Clinical and Laboratory Standard Institute C. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 25th informational supplement. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa. 2015.

14. Knobloch JK-M, Horstkotte MA, Rohde H, Mack D. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. Medical Microbiology and Immunology. 2002;191(2):101-6.

15. Wang L, Li M, Dong D, Bach T-HL, Sturdevant DE, Vuong C, et al. SarZ is a key regulator of biofilm formation and virulence in *Staphylococcus epidermidis*. Journal of Infectious Diseases. 2008;197(9):1254-62.

16. Solati SM, Tajbakhsh E, Khamesipour F, Gugnani HC. Prevalence of virulence genes of biofilm producing strains of *Staphylococcus epidermidis* isolated from clinical samples in Iran. AMB Express. 2015;5(1):47.

17. Shahkarami F, Rashki S. Prevalence of ica operon related genes in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2016;9(4):16-23.

18. Eftekhar F, Mirmohamadi Z. Evaluation of biofilm production by *Staphylococcus epidermidis* isolates from nosocomial infections and skin of healthy volunteers. International Journal of Medicine and Medical Sciences. 2009;1(10):438-41.

19. Galdbart J-O, Allignet J, Tung H-S, Rydèn C, El Solh N. Screening for *Staphylococcus epidermidis* markers discriminating between skin-flora strains and those responsible for infections of joint prostheses. Journal of Infectious Diseases. 2000;182(1):351-5.

20. Koskela A, Nilsdotter-Augustinsson Å, Persson L, Söderquist B. Prevalence of the *ica* operon and insertion sequence IS*256* among *Staphylococcus epidermidis* prosthetic joint infection isolates. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2009;28(6):655-60.

21. 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.

22. Oliveira A, Maria de Lourdes R. Comparison of methods for the detection of biofilm production in coagulase-negative staphylococci. BMC Research Notes. 2010;3(1):260.

23. Pinheiro L, Brito CI, Pereira VC, Oliveira Ad, Camargo CH, Cunha MdLRd. Reduced susceptibility to vancomycin and biofilm formation in methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* isolated from blood cultures. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. 2014;109(7):871-8.

24. Du X, Zhu Y, Song Y, Li T, Luo T, Sun G ,et al. Molecular analysis of *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from community and hospital environments in China. PLoS One. 2013;8(5):e62742.

25. El-Khier NTA, El-Kazzaz SS, Elganainy AE. Phenotypic and genotypic detection of biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* isolates from retrieved orthopaedic implants and prostheses. British Microbiology Research Journal. 2015;9(4):1-10.

26. Aghazadeh M, Ghotaslou R, Rezaee MA, Moshafi MH, Hojabri Z, Saffari F. Determination of antimicrobial resistance profile and inducible clindamycin resistance of coagulase negative staphylococci in pediatric patients: the first report from Iran. World Journal of Pediatrics. 2015;11(3):250-4.

27. Līduma I, Tračevska T, Bērs U, Žileviča A. Phenotypic and genetic analysis of biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis*. Medicina. 2012;48(6):45.

28. Najar-Peerayeh S, Moghadas AJ, Behmanesh M. Antibiotic susceptibility and *mecA* frequency in *Staphylococcus epidermidis*, isolated from intensive care unit patients .Jundishapur Journal of Microbiology. 2014;7(8):e11188.

29. Nasr RA, AbuShady HM, Hussein HS. Biofilm formation and presence of *icaAD* gene in clinical isolates of staphylococci. Egyptian Journal of Medical Human Genetics. 2012;13(3):269-74.

30. Sabzehali F, Gudarzi M, Gudarzi H. Determination of antibiotic resistance in clinical isolates of coagulase negative staphylococci from hospitalized patients in selected hospitals of Tehran. Journal of Paramedical Sciences 2015;6(2):31-7.

31. Nourbakhsh F, Momtaz H. An investigation of antibiotic resistance pattern in the strains of methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* isolated from clinical samples in Isfahan province, Iran. Qom University Medical Scince Journal. 2016;10(6):68-74.

32. Hellmark B, Unemo M, Nilsdotter-Augustinsson Å, Söderquist B. Antibiotic susceptibility among *Staphylococcus epidermidis* isolated from prosthetic joint infections with special focus on rifampicin and variability of the *rpoB* gene. Clinical Microbiology and Infection. 2009.۲۳۸-۴۴:(۳)۱۵;

33. Montanaro L, Campoccia D, Pirini V, Ravaioli S, Otto M, Arciola CR. Antibiotic multiresistance strictly associated with IS*256* and ica genes in *Staphylococcus epidermidis* strains from implant orthopedic infections. Journal of Biomedical Materials Research. 2007;83(3):813-8.

34. Mohaghegh MA, Ghazvini K, Jafari R, Alikhani MY, Safari M, Garamjan A, et al. Retrospective study on the prevalence and antibiotic resistance pattern of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* among patients suspicious of bacteremia during 2006-2011. International Journal of Enteric Pathogens. 2015;3(2):1-5.

35. Pishva E, Havaei SA, Arsalani F, Narimani T, Azimian A, Akbari M. Detection of methicillin-resistance gene in *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from patients in Al-Zahra Hospital using polymerase chain reaction and minimum inhibitory concentration methods. Advanced Biomedical Research. 2013;6(2):23.

36. Shoja S, Nahaei MR, Nahaei M, Farajnia S, Ahangarzadeh Rezaei M, Nikvash S. Study of methicillin-resistance by oxacillin disc diffusion and PCR methods in *Staphylococcus epidermidis* isalates collected from blood cultures and their antibiotic susceptibility. Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences 2009;31(1):39-44.

37. Rahimi F. Characterization of resistance to aminoglycosides in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from a tertiary care hospital in Tehran, Iran. Jundishapur Journal of Microbiology. 2016;9(1):e29237.

38. Rahimi F, Arabestani MR, Karimi S. Antibiotic resistance pattern of methicillin resistant *Staphylococcus epidermidis* isolated from clinical samples in Tehran. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicin 2014;18(63):37-42.

39. Rahimi F, Bouzari M. Biochemical fingerprinting of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from sewage and hospital in Iran. Jundishapur Journal of Microbiology. 2015;8(7):e19760.

40. 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.

41. Rahimi F, Katouli M, Pourshafie MR. Characteristics of hospital-and community-acquired meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Tehran, Iran. Journal of Medical Microbiology. 2014;63(Pt 6):796-804.

42. 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.

43. Miragaia M, Couto I, Pereira SF, Kristinsson KG, Westh H, Jarløv JO, et al. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* clones: evidence of geographic dissemination. Journal of Clinical Microbiology. 2002;40(2):430-8.

44. Sahal G, Bilkay IS. Multi drug resistance in strong biofilm forming clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis*. Brazilian Journal of Microbiology. 2014;45(2):539-44.