مجله دانشگاه علوم پزشکی تربت‌حیدریه
دوره ۱۲. شماره ۲. تابستان ۱۴۰۳

مقاله پژوهشی

بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تعیین فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت به موپیروسین در استافیلوکوکوس اورئوس جداشده از ناقلین بینی

مهران شکری[۱]، سجاد یعقوبی [۲و۶]، سیدمحمدمهدی جعفری [۳]، کیمیا کامران[۳]، اباذر پورنجف [۱]، احمد قاسمی[۴]، امیر حسن زاده[۵]، سیدرضا میرحافظ[۶]

۱. مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
۲. گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی نیشابور، نیشابور، ایران
۳. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
۴. گروه تغذیه، بیوشیمی بالینی و علوم غذایی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران
۵. گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
۶. مرکز تحقیقات بیماری‌های غیرواگیر، دانشگاه علوم پزشکی نیشابور، نیشابور، ایران

تاریخ دریافت:
۱۴۰۳/۰۲/۳۱
تاریخ پذیرش:
۱۴۰۳/۰۶/۰۳

کلیدواژه‌ها:
استافیلوکوکوس اورئوس، موپیروسین، کارکنان بهداشتی، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، متی سیلین

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی تربت‌حیدریه محفوظ است.

چکیده

زمینه و هدف: موپیروسین با مهار سنتز پروتئین در جهت دکلونیزاسیون استافیلوکوکوس اورئوس استفاده می‌شود. لذا هدف از مطالعه حاضر تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تعیین فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت به موپیروسین در استافیلوکوکوس اورئوس جداشده از ناقلین بینی می‌باشد.

روش‌ها: در این مطالعه توصیفی–مقطعی، تعداد ۱۲۱ سواپ بینی از کارکنان بهداشتی جمع‌آوری گردید. سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین با استفاده از دیسک سفوکسیتین در آزمون آنتی‌بیوگرام و تکثیر ژن mecA درروش PCR انجام شد. روش E-test به‌منظور بررسی مقاومت سطح بالا و پایین موپیروسین انجام گردید و درنهایت ژن‌های کد کننده مقاومت به موپیروسین که شامل ileS-1، mupA و mupB می‌باشند با روش PCR شناسایی شدند.

نتایج: تعداد ۶۸ ایزوله (۵۶/۲٪) استافیلوکوکوس اورئوس جدا گردید که ۴۲ ایزوله (۶۱/۸٪) MRSA بودند. همچنین بیشترین و کمترین میزان مقاومت مربوط به تتراسیکلین (۷۰/۱٪) و جنتامایسین (۱۶/۲٪) بود. همچنین ۷ ایزوله (۱۶/۷٪) MRSA و ۲ ایزوله (۷/۶٪) استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی سیلین مقاوم به موپیروسین بودند. نتایج MIC E-test نشان داد که ۷ سویه دارای مقاومت سطح بالا و ۲ سویه دارای مقاومت سطح پایین بودند. همچنین یک‌سویه (۱۱/۱٪) دارای ژن iles-1 و ۵ سویه (۵۵/۵٪) دارای ژن mupA بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج شیوع نسبتاً بالایی از کلونیزاسیون و مقاومت آنتی‌بیوتیکی را در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جداشده از کارکنان بهداشتی نشان داد، لذا انجام مطالعات بعدی و اقدامات لازم جهت کاهش میزان ناقلین و درنتیجه قطع زنجیره انتقال امری اساسی به نظر می‌رسد.

نویسنده مسئول: اباذر پورنجف ،مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل،ایران
آدرس پست الکترونیک: abazar_pournajaf@yahoo.com

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس، یک کوکسی گرم مثبت دارای آنزیم‌های کاتالاز و کواگولاز است که عامل طیف وسیعی از عفونت‌ها از یک عفونت ساده پوست و بافت نرم[1] (SSTI) تا عفونت‌های تهدیدکننده حیات می‌شود (۱). شاخ قدامی بینی (Anterior nares) شایع‌ترین محل کلونیزاسیون استافیلوکوکوس اورئوس است و ناقلین قدامی بینی در معرض خطر بالای ابتلا و انتقال عفونت استافیلوکوکوس اورئوس هستند (۲). کلونیزاسیون انسان با استافیلوکوکوس اورئوس در روزهای اول زندگی اتفاق می‌افتد. همچنین دست‌ها عامل اصلی انتقال استافیلوکوکوس اورئوس از اشیا و محیط به بینی هستند (۳). بیماران، کارکنان بهداشتی و درمانی و دانشجویان پزشکی از مهم‌ترین عوامل انتقال و سهم استافیلوکوکوس اورئوس در بخش‌های بیمارستان محسوب می‌شوند (٤). حامل‌های بینی به دودسته گذرا و دائمی تقسیم می‌شوند. دو فاکتور اصلی در حفظ حالت ناقلی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و توانایی تشکیل بیوفیلم است. در حال حاضر، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به چند دارو (MDR) به‌عنوان یک عامل شایع عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان و جامعه (HAIs و CAIs) در سراسر جهان در نظر گرفته می‌شود (٥). همچنین، سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) به‌عنوان یکی از عوامل ایجادکننده عفونت بیمارستانی مطرح هستند که در سراسر جهان گسترش‌یافته‌اند (٦). ژن mecA که توسط کاست کروموزوم استافیلوکوکی mec (SCCmec) حمل می‌شود سبب کد نمودن یک پروتئین اصلاح‌شده متصل به پنی‌سیلین به نام PBP-2a یا 'PBP2 می‌شود که میل ترکیبی (افینیتی) کمی جهت اتصال به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام دارد (۷). موپیروسین (Pseudomonic acid A) مشابه اسیدآمینه ایزولوسین است و به‌عنوان یک آنتی‌بیوتیک موضعی ضد باکتری‌های گرم مثبت به‌ویژه استافیلوکوک ها معرفی می‌گردد که برای از بین بردن استافیلوکوکوس اورئوس در بیمارانی که با آن کلونیزه می‌شوند استفاده می‌شود (۸). موپیروسین با مهار عملکرد ایزولوسیل tRNA-سنتتاز (IRS) سبب مهار پروتئین‌سازی می‌شود (۹). مقاومت در سطح پایین و بالا و بسیار بالا در هر دو گروه استافیلوکوکوس اورئوس و سویه‌های استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی مشاهده‌شده است (۱۰). مقاومت به موپیروسین در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس را می‌توان به چندین دسته متمایز تقسیم کرد. حداقل غلظت مهاری 4 ≤ (MICs) میکروگرم در میلی‌لیتر برای حساس به موپیروسین، MIC از ۸ تا ٦٤ میکروگرم در میلی‌لیتر برای مقاومت به موپیروسین در سطح پایین، و MIC ≥ 512 میکروگرم در میلی‌لیتر برای مقاومت به موپیروسین در سطح بالا. سطح پایین مقاومت با جهش در ژن کروموزومی iles-1، سطح بالای مقاومت به کمک ژن iles-2 پلاسمیدی (mupA) و سطح بسیار بالای مقاومت به کمک ژن mupB پلاسمیدی کد می‌شود (۱۱).

در طی دهه گذشته، علاوه بر مقاومت به موپیروسین در بین سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی‌سیلین و استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، مطالعات زیادی درباره ظهور مقاومت نسبت به موپیروسین در بین سویه‌های مختلف استافیلوکوکی ازجمله استافیلوکوک های کوآگولاز منفی نیز انجام‌شده است (۱۲). لذا با توجه به گسترش استفاده از موپیروسین در کاهش نرخ ناقلین استافیلوکوکوس اورئوس به‌عنوان بخشی از استراتژی جلوگیری از عفونت و وجود گزارش‌های متعدد مبنی بر موفقیت‌آمیز بودن این روش در جلوگیری از عفونت، استفاده از موپیروسین اغلب همراه با سایر روش‌ها در کنترل عفونت استفاده می‌شود. هم‌چنین آنتی‌بیوتیک موپیروسین در درمان عفونت‌های موضعی استافیلوکوکی کاربرد فراوان دارد (۱۳). لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تعیین فراوانی ژن‌های مقاومت به موپیروسین در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جداشده از ناقلین بینی می‌باشد.

1. Skin and Soft Tissue Infection

روش‌ها

طراحی مطالعه

در این مطالعه توصیفی- مقطعی تعداد ۱۲۱ سواپ از شاخ قدامی بینی کارکنان بیمارستان آیت‌الله روحانی (بابل، ایران) در شرایط استریل اخذ گردید. حجم نمونه با استفاده از نرم‌افزار EPI Info™ 7.0 (آتلانتا، ایالات‌متحده آمریکا) و بر اساس تعداد داوطلبان در طول دوره مطالعه محاسبه شد. بر اساس یک مرور سیستماتیک و متاآنالیز انجام‌شده توسط محمدی و همکاران (۲۰۱۹) و با فرض کلونیزاسیون ۲۶٪ (۹۵٪ CI=19.4-32.6%) از *استافیلوکوکوس اورئوس* در داوطلبان، حداقل ۱۲۱ فرد غیرتکراری در مطالعه گنجانده شد. رضایت شفاهی پس از تشریح مراحل تحقیق اخذ شد. اطلاعات دموگرافیک، مصرف آنتی‌بیوتیک، بیماری‌های همراه، سابقه بستری شدن در بیمارستان در سه ماه گذشته و عنوان شغلی افراد شرکت‌کننده در مطالعه ثبت گردید. بر اساس پرسش شفاهی، هیچ‌کدام از داوطلبین و افراد شرکت کننده در مطالعه از ۲ هفته قبل آنتی‌بیوتیک موضعی (به‌ویژه موپیروسین) و سیستمیک دریافت نکرده بودند.

جمع‌آوری و ایزولاسیون میکروبی

از هر داوطلب یک نمونه بینی گرفته شد. سواپ به‌آرامی وارد سوراخ بینی شده و سه بار چرخانده شد و در شرایط استریل به آزمایشگاه منتقل شد. هر نمونه بر روی مانیتول آگار حاوی ۷/۵٪ کلرید سدیم (شرکت مرک، آلمان) کشت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. تمامی کلنی‌های رشد یافته بر اساس روش‌های استاندارد میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی شناسایی شدند. برای تائید سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* از PCR ژن *femB* استفاده شد. همه‌سویه‌ها در ۸۰- درجه سانتی‌گراد در تریپتیک سوی براث (Merck، آلمان) حاوی ۲۰٪ گلیسرول برای استفاده بیشتر ذخیره شدند.

آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی (AST)

روش کربی- بائر بر اساس دستورالعمل‌های موسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI نسخه M100، ویرایش ۳۳) انجام شد (۱۴). AST بر روی پلیت مولر-هینتون آگار (Merck، آلمان) برای اریترومایسین (ERY؛ ۱۵ میکروگرم)، کلیندامایسین (CD؛ ۲ میکروگرم)، جنتامایسین (GM؛ ۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (CIP؛ ۵ میکروگرم)، تتراسایکلین (TET؛ ۳۰ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (AMP؛ ۲۰ میکروگرم)، موپیروسین (MUP؛ ۵ میکروگرم)، سفوکسیتین (FOX؛ ۳۰ میکروگرم)، و تری متوپریم-سولفامتوکسازول (SXT؛ ۵ میکروگرم) (پادتن طب، ایران) انجام شد. از سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC) موپیروسین

برای تعیین MIC از روش E-test نسبت به آنتی‌بیوتیک موپیروسین استفاده شد. نوارهای E-test از شرکت لئوفیلکم، ایتالیا خریداری شدند. نوار بر روی سطح پلیت مولر هینتون آگار(مرک، آلمان) با غلظت معادل نیم مک فارلند از سوسپانسیون *استافیلوکوکوس اورئوس* قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری اگر ایزوله‌ها حساس باشند، یک هاله مهاری بیضی‌شکل در رشد باکتری بر روی سطح پلیت تشکیل خواهد شد و نقطه‌ای روی درجه نوار MIC نوار که هاله مهاری آن را قطع می‌کند و به‌عنوان MIC در نظر گرفته می‌شود و طبق تعریف سویه‌هایی با MIC برابر یا کمتر از ٤ µg/ml حساس، ۸-۲۵۶ µg/ml با مقاومت پایین و بالاتر از ۵۱۲ µg/ml با مقاومت بالا و مقاومت بسیار بالا با از ۱۰۲٤ µg/ml به موپیروسین شناخته می‌شود.

شناسایی مولکولی مقاومت به موپیروسین

آزمون PCR به‌منظور تکثیر ژن‌های *mecA*، *ileS-1*، *mupA* و *mupB* در دستگاه ترمال سایکلر (اپندورف، آلمان) انجام گردید. استخراج ژنوم با استفاده از روش فنل-کلروفورم انجام خواهد شد. کیفیت DNA استخراج‌شده با الکتروفورز بر روی ژل

آگارز ۱٪ و خلوص و غلظت آن با اسپکتروفتومتر (Thermo Scientific Nanodrop 2000) در طول‌موج OD 260/280 نانومتر ارزیابی گردید. توالی اولیگونوکلئوتیدی پرایمرهای استفاده شده و شرایط دمایی-زمانی انجام PCR در جدول ۱ آمده است (۱۵، ۱۶).

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای استفاده‌شده و شرایط دمایی-زمانی انجام واکنش PCR

ژن هدف	توالی پرایمری ('۳→'۵)	طول قطعه آمپلیکون (BP)	شرایط دمایی-زمانی انجام PCR	حجم مواد تشکیل‌دهنده میکس PCR
femB	F, 5'-TTACAGAGTTAACTGTTACC-3' R, 5'-ATACAAATCCAGCACGCTCT-3'	۶۵۱	۱µl از DNA الگو، ۱۲/۱µl از مستر میکس و ۱/۲ µl از پرایمرها	دناتوراسیون اولیه در ^{o}C ۹۴ به مدت ۵ دقیقه، دناتوراسیون در دمای ^{o}C ۹۵ به مدت ۳۰ ثانیه، آنلینگ در دمای ^{o}C ۵۶ به مدت ۶۰ ثانیه، گسترش در دمای ^{o}C ۷۲ به مدت ۶۰ ثانیه و گسترش نهایی در ^{o}C ۷۲ به مدت ۵ دقیقه برای ۳۰ سیکل
mecA	F, 5'-AAAATCGTGGTAAAGGTTGGC-3' R, 5'AGTTCTGGAGTACGGATTTGC-3'	۵۳۳	۲µl از DNA الگو، ۱۳/۸µl از مستر میکس و ۳/۸ µl از پرایمرها	دناتوراسیون اولیه در ^{o}C ۹۵ به مدت ۷ دقیقه، دناتوراسیون در دمای ^{o}C ۹۴ به مدت ۴۵ ثانیه، آنلینگ در دمای ^{o}C ۵۷ به مدت ۵۵ ثانیه، گسترش در دمای ^{o}C ۷۲ به مدت ۵۵ ثانیه و گسترش نهایی در ^{o}C ۷۲ به مدت ۷ دقیقه برای ۳۲ سیکل
ileS-1	F;5'-GTAATAGGTAATGTGATTGTAC-3' R; 5'-TCTTCTTTTGTGGTGTATGAGA-3'	۶۹۰	۲/۵µl از DNA الگو، ۱۰/۸µl از مستر میکس و ۲/۲ µl از پرایمرها	دناتوراسیون اولیه در ^{o}C ۹۵ به مدت ۵ دقیقه، دناتوراسیون در دمای ^{o}C ۹۵ به مدت ۵۰ ثانیه، آنلینگ در دمای ^{o}C ۵۵ به مدت ۶۰ ثانیه، گسترش در دمای ^{o}C ۷۲ به مدت ۶۰ ثانیه و گسترش نهایی در ^{o}C ۷۲ به مدت ۵ دقیقه برای ۳۰ سیکل
mupA	F; 5'-TATATTATGCGGGAAGGTTGG-3' R; 5'-AATAAAATCTGGAAAGTGTTG-3'	۴۵۶	۳/۵µl از DNA الگو، ۱۱/۸µl از مستر میکس و ۲/۵ µl از پرایمرها	دناتوراسیون اولیه در ^{o}C ۹۵ به مدت ۵ دقیقه، دناتوراسیون در دمای ^{o}C ۹۴ به مدت ۵۵ ثانیه، آنلینگ در دمای ^{o}C ۵۵ به مدت ۶۰ ثانیه، گسترش در دمای ^{o}C ۷۲ به مدت ۶۰ ثانیه و گسترش نهایی در ^{o}C ۷۲ به مدت ۶ دقیقه برای ۳۳ سیکل
mupB	F; 5'-CTAGAAGGATTTTGGAGTAG-3' R;5'-AGTGTCTAAAATAAGACGATC-3'	۶۷۴	۴/۵µl از DNA الگو، ۵/۸µl از مستر میکس و ۳/۲ µl از پرایمرها	دناتوراسیون اولیه در ^{o}C ۹۵ به مدت ۶ دقیقه، دناتوراسیون در دمای ^{o}C ۹۵ به مدت ۶۰ ثانیه، آنلینگ در دمای ^{o}C ۵۵ به مدت ۶۰ ثانیه، گسترش در دمای ^{o}C ۷۲ به مدت ۶۰ ثانیه و گسترش نهایی در ^{o}C ۷۲ به مدت ۶ دقیقه برای ۳۰ سیکل

آنالیز آماری

تجزیه‌وتحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲,۰ (IBM, Armonk, NY, USA) استفاده شد. متغیرهای کیفی بصورت فراوانی (درصد) گزارش شدند. متغیرهای کمی با استفاده از آزمون تی مستقل(Independent t-test) و متغیرهای کیفی با استفاده از آزمون کای اسکوئر(Chi-squared test) استفاده شد. سطح معناداری معادل ۵ درصد در نظر گرفته شد.

نتایج

تعداد ۱۲۱ سواپ از شاخ قدامی بینی از ۵۰ مرد (۴۲/۱) و ۷۱ زن (۵۷/۹) شاغل در بخش‌های مختلف بیمارستان آیت‌الله روحانی بابل اخذ گردید. میانگین سنی بیماران ۲/۱±۳۱/۸ سال بود. از مجموع سواپ های اخذشده، ۶۸ (۵۶/۲) سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* جداسازی گردید که تمامی آن‌ها توسط PCR ژن *femB* تائید گردیدند. از ۱۲۱ فرد شرکت‌کننده در مطالعه، ۵ نفر (۴/۱) به دیابت میلیتوس (DM) و ۸ نفر (۶/۶) هایپرتنشن (HTN) و دو نفر (۱/۶) نیز به هایپرتیروئیدیسم مبتلا بودند. نتایج آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که ۴۲ ایزوله (۶۱/۸٪) به سفوکسیتین مقاوم بوده و به‌عنوان MRSA در نظر گرفته شدند. همچنین بیشترین و کمترین میزان مقاومت مربوط به تتراسیکلین (۴۸ سویه، ۷۰/۱٪) و جنتامایسین (۱۱ سویه، ۱۶/۲٪) بود (جدول ۲). تفاوت معنی‌داری در بین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی با جنسیت و سن افراد مشاهده نشد(P>0.05). نتایج آزمون دیسک دیفیوژن نشان داد که ۷ ایزوله (۱۶/۷٪) MRSA و ۲ ایزوله (۷/۶٪) *استافیلوکوکوس اورئوس* حساس به متی سیلین (MSSA) مقاوم به دیسک موپیروسین بودند. نتایج آزمون E-test MIC نشان داد که از مجموع ۹ ایزوله مقاوم به موپیروسین ۲ ایزوله دارای MIC برابر ۸-۲۵۶ µg/ml و ۷ ایزوله MIC≥512 µg/ml بود، بنابراین ۷ سویه دارای مقاومت سطح بالا (HLR; high level resistance) و ۲ سویه دارای مقاومت سطح پایین (LLR; low level resistance) بودند. همچنین فراوانی ژن‌های مقاومت به موپیروسین نشان داد که از مجموع ۹ سویه مقاوم به موپیروسین، یک‌سویه (۱۱/۱٪) دارای ژن *iles-1* و ۵ سویه (۵۵٪) دارای ژن *mupA* بودند. تنها یک ایزوله (۱۱/۱٪) به‌طور همزمان حامل ژن‌های *iles-1/mupA* بود. همچنین ژن *mupB* در هیچ ایزوله‌ای یافت نشد (جدول ۳).

جدول ۲- توزیع فراوانی الگوی مقاومت به آنتی‌بیوتیک در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*

عامل ضد میکروبی	تعداد سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* (n=۶۸)					
	استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) (N; 42, 61.7%)			*استافیلوکوکوس اورئوس* حساس به متی‌سیلین (MSSA) (N; 26, 38.3%)		
	حساس	نیمه حساس	مقاوم	حساس	نیمه حساس	مقاوم
ERY	۱۰ (۲۳٪/۸)	۳ (۷٪/۱)	۲۹ (۶۹٪)	۱۵ (۵۷٪/۶)	۱ (۳/۸)	۱۰ (۳۸٪/۵)
CD	۱۹ (۴۵٪/۲)	۵ (۱۱٪/۹)	۱۸ (۴۲٪/۸)	۱۷ (۶۵٪/۴)	۲ (۷٪/۶)	۷ (۲۶٪/۹)
GM	۳۱ (۷۳٪/۸)	۲ (۴٪/۷)	۹ (۲۱٪/۴)	۱۹ (۷۳٪/۱)	۵ (۱۹٪/۲)	۲ (۷٪/۶)
CIP	۲۵ (۵۹٪/۵)	۰	۱۷ (۴۰٪/۵)	۱۶ (۶۱٪/۵)	۳ (۱۱٪/۵)	۷ (۲۶٪/۹)
TET	۵ (۱۱٪/۹)	۱ (۲٪/۴)	۳۶ (۵۸٪/۷)	۱۰ (۳۸٪/۵)	۴ (۱۵٪/۴)	۱۲ (۴۶٪/۱)
AMP	۸ (۱۹٪)	۳ (۷٪/۱)	۳۱ (۷۳٪/۸)	۱۳ (۵۰٪)	۲ (۷٪/۶)	۱۱ (۴۲٪/۳)
MUP	۳۵ (۸۳٪/۳)	۰	۷ (۱۶٪/۷)	۲۴ (۹۲٪/۳)	۰	۲ (۷٪/۶)
SXT	۱۶ (۳۸٪)	۵ (۱۱٪/۹)	۲۱ (۵۰٪)	۱۶ (۶۱٪/۵)	۰	۱۰ (۳۸٪/۵)

اریترومایسین (ERY)، کلیندامایسین (CD)، جنتامایسین (GM)، سیپروفلوکساسین (CIP)، تتراسایکلین (TET)، آمپی‌سیلین (AMP)، موپیروسین (MUP) و تری متوپریم-سولفامتوکسازول (SXT)، *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین (MRSA)، *استافیلوکوکوس اورئوس* حساس به متی‌سیلین (MSSA).

جدول ۳: توزیع ژن‌های مقاومت به موپیروسین در جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به موپیروسین

	MIC	تعداد (درصد) ژن‌های مقاومت به موپیروسین (N=9)		
		iles-1	*mupA*	***mupB***
MRSA	MIC≥512 µg/ml	۰	۱ (۱۱/۱)	۰
	MIC≥512 µg/ml	۰	۰	۰
	MIC≥512 µg/ml	۰	۰	۰
	MIC≥512 µg/ml	۰	۰	۰
	۸-۲۵۶ µg/ml	۱ (۱۱٪/۱)	۱ (۱۱/۱)	۰
	MIC≥512 µg/ml	۰	۱ (۱۱/۱)	۰
	MIC≥512 µg/ml	۰	۰	۰
MSSA	۸-۲۵۶ µg/ml	۰	۱ (۱۱/۱)	۰
	MIC≥512 µg/ml	۰	۱ (۱۱/۱)	۰

بحث

مدت کوتاهی پس از معرفی متی‌سیلین، ناقلین بیمار و شیوع بیمارستانی MRSA شناسایی شد که اولین اسناد از یک ناقل پرستار کادر پزشکی گزارش گردید(۱۷). از آن زمان، پذیرفته‌شده که دست‌های آلوده کارکنان مراقبان بهداشتی به‌عنوان روشی مؤثر در انتقال MRSA می‌باشد (۱۸). یکی از مهم‌ترین مکان‌های کلونیزاسیون استافیلوکوکوس اورئوس، شاخ قدامی بینی می‌باشد. لذا به‌منظور حذف حالت ناقلی از موپیروسین و یا کلرهگزیدین استفاده می‌شود. موپیروسین که به‌صورت موضعی استفاده می‌شود، به‌وفور در درمان عفونت‌های پوستی و جلدی استافیلوکوکی و حذف ناقلین بینی استفاده می‌شود (۱۹). از این‌رو در مطالعه حاضر دینامیک مقاومت به موپیروسین در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* در کارکنان بهداشتی سنجیده شده است.

درمجموع از ٦٨ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* جداشده از شاخ قدامی بینی کارکنان مرتبط با کادر درمانی، ٦١/٨٪ (٤٢ ایزوله) به‌عنوان MRSA در نظر گرفته شدند. تمامی سویه‌های MRSA به دیسک سفوکسیتین مقاوم بوده و حامل ژن *mecA* بودند. همچنین بیشترین و کمترین میزان مقاومت در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مربوط به تتراسیکلین (٤٨ سویه، ٧٠/١٪) و جنتامایسین (١١ سویه، ١٦/٢٪) بود. نتایج آزمون آماری نشان داد که مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌طور معنی‌داری در ایزوله‌های MRSA نسبت به MSSA بیشتر بود (P<0.05). گرچه از نظر مقاومت به موپیروسین نتایج مطالعه حاضر بامطالعه صادری و همکاران (١٣٨٧) موافقت دارد، اما در مورد سایر آنتی‌بیوتیک‌ها مغایرت دارد. از دلایل این مغایرت می‌توان به نوع نمونه (نمونه‌های بالینی در مقایسه با سواپ بینی ناقلین)، سال اجرای مطالعه و چندمرکزی بودن مطالعه (بررسی سویه‌های جمع‌آوری‌شده از ٤ مرکز درمانی در شهر تهران در مطالعه صادری و همکاران) اشاره نمود (٢٠). از سوی دیگر در سال ٢٠٢٠ در غنا، Walana و همکاران نشان دادند که از ١٠٦ سواپ جمع‌آوری‌شده از بینی ٢٥/٥٪ (٢٧ جدایه) MRSA بودند. همچنین شیوع سویه‌های MRSA در کارکنان مراقبان سلامت بیشتر از سایر گروه‌ها بود. به‌طور معنی‌داری الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های MRSA نسبت به MSSA بالاتر بود (٢١).

از سوی دیگر نتایج نشان داد که از ٩ ایزوله مقاوم به موپیروسین ٧ ایزوله (١٦/٧٪) MRSA و ٢ ایزوله (٧/٦٪) MSSA بود. موافق با مطالعه حسامی و همکاران (١٣٩٢)، نتایج آزمون E-test در مطالعه حاضر نشان داد که ٧ سویه دارای مقاومت سطح بالا و ٢ سویه دارای مقاومت سطح پایین LLR

بودند. همچنین توزیع ژن‌های مقاومت به موپیروسین نشان داد که تنها یک‌سویه دارای ژن *iles-1* و ۵ سویه دارای ژن *mupA* بودند. همچنین فقط یک ایزوله به‌طور هم‌زمان حامل ژن‌های *iles-1/mupA* بود. ژن *mupB* در هیچ ایزوله‌ای یافت نشد. این نتایج بامطالعه صادری و همکاران (۱۳۸۷) مغایرت دارد (۲۰). در هند، Kaur و همکاران و در سال ۲۰۱٤ دریافتند که از مجموع ۱٤۰ کارمندان خدمات درمانی ۲۷/۱٪ (۳۸ سویه) *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا گردید. فراوانی سویه‌های MRSA، ۱٤/۳٪ (۲۰ جدایه) بود. تمامی سویه‌های MSSA درروش آزمون انتشار از دیسک‌های موپیروسین (۵ µg و ۲۰۰ µg) حساس بودند، اما ۲ ایزوله MRSA (۱/٤٪) به موپیروسین مقاوم بودند (۲۲). در سال ۲۰۱۵، Agarwal و همکاران دریافتند که از مجموع ۲۰۰ کارکنان کادر درمانی، ۱٤٪ حامل استافیلوکوکوس اورئوس بودند که اکثراً پرستاران را شامل می‌شد. آزمون E-test چهار جدایه مقاوم به موپیروسین را نشان داد. آنتی‌بیوگرام جدایه‌های MRSA مقاومت بالاتری را نسبت به MSSA نشان داند (۲۳). پورنجف و همکار (۲۰۱٤) در تهران نشان دادن که از مجموع ۱۲۷ سویه استافیلوکوکوس اورئوس جمع‌آوری‌شده از نمونه‌های مختلف بالینی، ٦۲/۲٪ و ۷/۸٪ به ترتیب مقاوم به متی‌سیلین و موپیروسین بودند. تمامی سویه‌های مقاوم به موپیروسین حامل ژن *iles-2* بودند (۲٤). در سال ۲۰۲۳، Vestberg و همکاران دریافتند که از مجموع ٤٤ *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به موپیروسین ژن *mupA* در تمامی سویه‌های با مقاومت بالا (MuH) شناسایی شد. جهش‌های نقطه‌ای در ژن *ileS* منجر به N213D و V588F در سه جدایه MuL شد. ٤۱ جدایه MuH با MIC ≥1024 میلی‌گرم در لیتر رودند درحالی‌که سه جدایه مقاومت موپیروسین در سطح پایین (MuL) را نشان دادند (۲۵). در سال ۲۰۲۰ در مصر Mostafa و همکاران دریافتند که از ۱۰۰ جدایه MRSA، تنها ۷ ایزوله به موپیروسین مقاوم بودند. چهار جدایه MRSA مقاومت سطح پایینی به موپیروسین داشتند و ژن *MupA* آن‌ها روی DNA کروموزومی قرار داشت، درحالی‌که سه جدایه با مقاومت سطح بالایی، ژن *MupA* را روی DNA پلاسمید داشتند (۲٦). از دلایل مهم مغایرت نتایج مطالعه ما با سایر مطالعات می‌توان به محدودیت‌ها در مصرف خودسرانه آنتی‌بیوتیک، فاصله جغرافیایی، سطح بهداشت و نوع نمونه را اشاره نمود. با توجه به مطالعه ما و سایرین می‌توان به این مطلب رسید که عواملی می‌تواند روی میزان شیوع استافیلوکوکوس مقاوم به موپیروسین در کشورهای مختلف ازجمله ایران مؤثر باشد، این موارد شامل سیاست‌های مختلف در اجرای برنامه کنترل عفونت، میزان و چگونگی تجویز آنتی‌بیوتیک، جمعیت، سال اجرای مطالعه، نوع یا تایپ سویه غالب و در نهایت به نوع متدولوژی آزمایشگاهی جهت تشخیص استافیلوکوک های مقاوم به موپیروسین بستگی دارد و با توجه به افزایش مقاومت به موپیروسین به‌ویژه در کارکنان کادر درمانی پایش و انجام غربالگری به‌منظور کاهش میزان ناقلین در مرکز درمانی امری غیرقابل‌اجتناب است (۲۷).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه ما شیوع نسبتاً بالایی از کلونیزاسیون و مقاومت آنتی‌بیوتیکی را در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جداشده از کارکنان کادر درمانی نشان داد، لذا انجام مطالعات بعدی و اقدامات لازم جهت کاهش میزان ناقلین و درنتیجه قطع زنجیره انتقال امری اساسی به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این مقاله از طرح تحقیقاتی مصوب با کد ۷۲٤۱۳۵۸٦۰ و شناسه اخلاق IR.MUBABOL.REC.1403.071 دانشگاه علوم پزشکی بابل می‌باشد.لازم به ذکر است که بخشی از مراحل اجرایی این تحقیق ومواد و وسایل از طرح قبلی با کد طرح ۷۲٤۱۳٤۳٤۰و شناسه اخلاق IR.MUBABOL.REC.1401.141 دانشگاه علوم پزشکی بابل می‌باشد. نویسندگان مراتب قدردانی را از افراد شرکت‌کننده در این مطالعه و کارکنان بیمارستان آیت‌الله روحانی بابل ابراز می‌نمایند.

تضاد منافع

در این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافعی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

مشارکت نویسندگان:

(۱) مفهوم‌پردازی و طراحی مطالعه، یا جمع‌آوری داده‌ها، یا تجزیه‌وتحلیل و تفسیر داده‌ها: همه نویسندگان

(۲) تهیه پیش‌نویس مقاله یا بازبینی آن جهت تدوین محتوای اندیشمندانه: همه نویسندگان

(۳) تائید نهایی دست‌نوشته پیش از ارسال به مجله: همه نویسندگان

References

1. Foster TJ, Geoghegan JA. Staphylococcus aureus. Molecular Medical Microbiology. 2024; 1(655-79). https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818619-0.00026-5

2. Iredia QI, Ebode NO, Iyoha UJ, Ogbeide JO. Nasal Carriage of Staphylococcus aureus among Students of a Tertiary Institution in Edo State. Nasal Carriage of Staphylococcus aureus among Students of a Tertiary Institution in Edo State. Biology and Life Sciences. 2024; 25; 141(1):8-. https://doi.org/10.47119/IJRP1001411120245986.

3. Adediran TY, Robinson GL, Johnson JK, Liang Y, Bejo S, Leekha S, Rasko DA, Stine OC, Harris AD, Thom KA. Factors associated with patient-to-healthcare personnel (HCP) and HCP-to-subsequent patient transmission of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Infection Control & Hospital Epidemiology. 2024; 18:1-7. https://doi.org/10.1017/ice.2023.269

4.Johnson SS, Mietchen MS, Lofgren ET. Healthcare Worker Staffing Ratios Affect Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Acquisition. medRxiv. 2024; -02. https://doi.org/10.1101/2024.02.14.24302485

5. Verhoeven PO, Gagnaire J, Botelho-Nevers E, Grattard F, Carricajo A, Lucht F, Pozzetto B, Berthelot P. Detection and clinical relevance of Staphylococcus aureus nasal carriage: an update. Expert review of anti-infective therapy. 2014; 1;12(1):75-89. https://doi.org/10.1586/14787210.2014.859985

6. Huang YH, Tseng SP, Hu JM, Tsai JC, Hsueh PR, Teng LJ. Clonal spread of SCCmec type IV methicillin-resistant Staphylococcus aureus between community and hospital. Clinical microbiology and infection. 2007; 1;13(7):717-24. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01718.x.

7. Liu J, Chen D, Peters BM, Li L, Li B, Xu Z, Shirliff ME. Staphylococcal chromosomal cassettes mec (SCCmec): A mobile genetic element in methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Microbial pathogenesis. 2016; 101:56-67. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.10.028

8. Dadashi M, Hajikhani B, Darban-Sarokhalil D, van Belkum A, Goudarzi M. Mupirocin resistance in Staphylococcus aureus: A systematic review and meta-analysis. Journal of global antimicrobial resistance. 2020; 1;20:238-47. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2023.02.018.

9. Prakash R, Garg A, Arya R, Kumawat RK. Chronicity of high and low level mupirocin resistance in Staphylococcus aureus from 30 Indian hospitals. Scientific Reports. 2023; 22; 13(1):10171. https://doi.org/10.1038/s41598-023-37399-0

10. Duan XC, Li XX, Li XM, Wang S, Zhang FQ, Qian P. Exploiting Broad-Spectrum Chimeric Lysin to Cooperate with Mupirocin against Staphylococcus aureus-Induced Skin Infections and Delay the Development of Mupirocin Resistance. Microbiology Spectrum. 2023; 15;11(3):e05050-22. https://doi.org/10.1128/spectrum.05050-22

11. Mondino PJ, Netto dos Santos KR, do Carmo de Freire Bastos M, Giambiagi-deMarval M. Improvement of mupirocin E-test for susceptibility testing of Staphylococcus aureus. Journal of medical microbiology. 200; 52(5):385-7. https://doi.org/10.1099/jmm.0.05011-0.

12. Chen W, He C, Yang H, Shu W, Cui Z, Tang R, Zhang C, Liu Q. Prevalence and molecular characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus with mupirocin,

fusidic acid and/or retapamulin resistance. BMC microbiology. 2020; 20:1-2 https://doi.org/10.1186/s12866-020-01862-z

13. Udo EE, Jacob LE, Mathew B. Genetic analysis of methicillin-resistant Staphylococcus aureus expressing high-and low-level mupirocin resistance. Journal of Medical Microbiology. 2001; 50(10):909-15. https://doi.org/10.1099/0022-1317-50-10-909

14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 33rd ed. CLSI supplement M100 (ISBN 978-1-68440-170-3 [Print]; ISBN 978-1-68440-171-0 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, 2023.

15. Simor AE, Stuart TL, Louie L, Watt C, Ofner-Agostini M, Gravel D, Mulvey M, Loeb M, McGeer A, Bryce E, Matlow A. Mupirocin-resistant, methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains in Canadian hospitals. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2007; 51(11):3880-6. https://doi.org/10.1128/AAC.00846-07

16. Perez-Roth E, Claverie-Martın F, Villar J, Mendez-Alvarez S. Multiplex PCR for simultaneous identification of Staphylococcus aureus and detection of methicillin and mupirocin resistance. Journal of clinical microbiology. 2001;39(11):4037-41. https://doi.org/10.1128/JCM.39.11.4037-4041.2001.

17. Heininger U, Datta F, Gervaix A, Schaad UB, Berger C, Vaudaux B, Aebi C, Hitzler M, Kind C, Gnehm HE, Frei R. Prevalence of nasal colonization with methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in children a multicenter cross-sectional study. The Pediatric infectious disease journal. 2007; 26(6):544-6. https://doi.org/10.4103/jfmpc.jfmpc_345_16

18. Price JR, Cole K, Bexley A, Kostiou V, Eyre DW, Golubchik T, Wilson DJ, Crook DW, Walker AS, Peto TE, Llewelyn MJ. Transmission of Staphylococcus aureus between health-care workers, the environment, and patients in an intensive care unit: a longitudinal cohort study based on whole-genome sequencing. The Lancet Infectious Diseases. 2017;17(2):207-14. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30413-3

19. Cimolai N. The role of healthcare personnel in the maintenance and spread of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Journal of infection and public health. 2008; 1(2):78-100. https://doi.org/10.1016/j.jiph.2008.10.001

20. Sadari H, Olya P, Habibi M. Identification of mupirocin resistance in Staphylococcus aureus strains isolated from patients of 4 Tehran University Hospitals by PCR method. Medical Scholar [Internet]. 1387;16(78):29-36. magiran.com/p668061.

21. Walana W, Bobzah BP, Kuugbee ED, Acquah S, Ezekiel VK, Yabasin IB, Abdul-Mumin A, Ziem JB. Staphylococcus aureus nasal carriage among healthcare workers, inpatients and caretakers in the Tamale Teaching Hospital, Ghana. Scientific African. 20201; 8:e00325. https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00325.

22. Kaur DC, Narayan PA. Mupirocin resistance in nasal carriage of Staphylococcus aureus among healthcare workers of a tertiary care rural hospital. Indian journal of critical care medicine: peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine. 2014; 18(11):716. https://doi.org/10.4103/0972-5229.144013

23. Agarwal L, Singh AK, Sengupta C, Agarwal A. Nasal carriage of Methicillin-and Mupirocin-resistant S. aureus among health care workers in a tertiary care hospital. Journal of research in pharmacy practice. 2015; 4(4):182-6. doi: 10.4103/2279-042X.167046 https://doi.org/10.4103/2279-042X.167046

24. Pournajaf A, Ardebili A, Allah-Ghaemi E, Omidi S, Borhani K, Khodabandeh M,

Davarpanah M. Identification of clinical methicillin and mupirocin-resistant Staphylococcus aureus by multiplex-PCR. Journal of Medical Bacteriology. 2014;3(1-2):52-9.

25. Vestberg N, Razavi M, Giske CG, Fang H. Antimicrobial susceptibilities and genomic characteristics of methicillin-resistant Staphylococcus aureus resistant to mupirocin in Stockholm, Sweden. APMIS. 2024; 132(2):94-9.
https://doi.org/10.1111/apm.13357.

26. Mostafa MS, Awad AR. Localization and Characterization of MupA Gene in High and Low-Level Mupirocin Resistant Methicillin Resistant Staphylococcus aureus. Egyptian Journal of Medical Microbiology. 2020; 29(3):171-7.
https://doi.org/10.51429/EJMM29322

27. Hesami S, Hosseini SD, Amouzandeh-Nobaveh A, Eskandari S, Ghaznavi-Rad E. Phenotypic and genotypic determination of mupirocin resistance among methicillin susceptibility and resistance in Staphylococci isolated from nosocomial infections. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2013; 22(1):30-39.
URL: http:// jmums.mazums.ac.ir/article-1-3610-en.htm

Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences
2024, Volume 12, No. 2: 41-52.

Original article

Investigating the antibiotic resistance pattern and determining the phenotypic and genotypic resistance to mupirocin in *Staphylococcus aureus* isolated from nasal carriers

Mehran Shokri[1], Sajad Yaghoubi [2,6], Seyed Mohammad Mehdi Jafari [3], Kimia Kamran[3], Abazar Pournajaf [1], Ahmad ghasemi[4], Amir Hasanzadeh[5], Seyed Reza mirhafez[6]

1. Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R. Iran

2. Department of Clinical laboratory, Faculty of Medicine, Neyshabur University of Medical Sciences, Neyshabur, Iran

3. Student Research Committee, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R. Iran

4. Department of Nutriation, Clinical Biochemistry and Food Sciences, School of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran

5. Department of Microbiology and Virology, School of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

6. Noncommunicable Diseases Research Center, Neyshabur University of Medical Sciences,

Neyshabur, Iran

Corresponding author: Abazar Pournajaf**,** Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R. Iran.

E-Mail: abazar_pournajaf@yahoo.com

Submitted: 20 April 2024 Accepted: 24 August 2024

Abstract

Background & Aim: Mupirocin is used to decolonize *Staphylococcus aureus* using inhibiting protein synthesis. Therefore, the purpose of this study is to investigate the pattern of antibiotic resistance and determine the phenotypic and genotypic resistance to mupirocin in *S. aureus* isolated from nasal carriers.

***Methods*:** In this cross-sectional study, 121 nasal swabs were collected from healthcare workers. Methicillin-resistant strains were tested using cefoxitin disk in the antibiogram test and *mecA* gene amplification in PCR method. E-test method was performed to check high and low level resistance to mupirocin and finally the genes encoding resistance to mupirocin including *ileS-1*, *mupA* and *mupB* were identified using PCR.

***Results*:** 68 isolates (56.2%) of *S. aureus* were isolated, of which 42 isolates (61.8%) were MRSA. Also, the highest and lowest levels of resistance were related to tetracycline (70.1%) and gentamicin (16.2%). Only, 7 isolates (16.7%) of MRSA and 2 isolates (7.6%) of *S. aureus* sensitive to methicillin were resistant to mupirocin. MIC E-test results showed that 7 and 2 strains had high and low level resistance to mupirocin, respectively. Also, one strain (11.1%) had *iles-1* gene and 5 strains (55.5%) had *mupA* gene.

***Conclusion*:** The results showed a relatively high prevalence of colonization and antibiotic resistance in *S. aureus* strains isolated from healthcare workers; therefore, it is essential to carry out further studies and necessary measures to reduce the amount of carriers.

Keywords:

S. aureus, mupirocin, healthcare workers, polymerase chain reaction, methicillin

How to Cite this Article: Shokri M, Yaghoubi S, Jafari M, Kamran K, Pournajaf A, et al. Investigating the antibiotic resistance pattern and determining the phenotypic and genotypic resistance to mupirocin in Staphylococcus aureus isolated from nasal carriers. Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. 2024;12(2):41-52.

Copyright © 2024 Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cite.