

## تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های مختلف استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از روش دیسک انتشاری

\***دکتر محمدعلی ضیاء:** استادیار قارچ شناسی گروه علوم پایه پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان)، اصفهان، ایران (\*نویسنده مسئول).  
mohammadalizia@yahoo.com

**شهناز بهشتی:** کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه پرستاری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان)، اصفهان، ایران. sh\_beheshti35@yahoo.com

**حسین خلخالی:** کارشناس میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان)، اصفهان، ایران. khalkhali\_hossein@yahoo.com

**سمیرا صفاری:** کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران. safari\_samira@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۱۷

تاریخ دریافت: ۹۱/۴/۴

### چکیده

**زمینه و هدف:** استافیلوکوکوس اورئوس یک باکتری کوکسی شکل بی هوازی اختیاری و گرم مثبت است که به وفور به عنوان بخشی از فلور نرمال روی پوست و مجاری بینی یافت می شود. این باکتری می تواند موجب طیفی از بیماریها شامل عفونت های پوستی تا بیماریهای تهدید کننده زندگی شود. ارگانیزم قادر به توسعه مقاومت به طیف وسیعی از آنتی بیوتیکها می باشد. مقاومت به آنتی بیوتیک یکی از مشکلات عمده بهداشت عمومی بوده و استفاده گسترده از آنتی بیوتیک ها نقش عمده ای در ظهور باکتری های مقاوم بازی می کند. هدف این مطالعه تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های مختلف استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی بیوتیک های رایج بود.

**روش کار:** این مطالعه به صورت مقطعی - توصیفی و بر روی ۸ سویه متفاوت استافیلوکوکوس اورئوس انجام شد. ابتدا نمونه مناسب گرفته و جهت تشخیص قطعی بوسیله آزمایشات مورفولوژیک، شیمیائی یا آنزیمی به آزمایشگاه ارسال و سپس با استفاده از روش دیسک انتشاری، تاثیر دیسکهای مختلف آنتی بیوتیکی بر این سویه ها ارزیابی گردید.

**یافته ها:** تمام سویه ها نسبت به ۶ آنتی بیوتیک شامل کلروتتراسیکلین، جنتامایسین، اکسی تتراسیکلین، تری متوپریم و سولفامتوکسازول، ریفامپیسین و توبرامایسین حساس بودند، در حالی که تمام سویه ها فقط نسبت به ۳ آنتی بیوتیک شامل وانکومایسین، اکساسیلین و سفترایمید مقاوم بودند. هر سویه میزان حساسیت و مقاومت متفاوتی نسبت به سایر آنتی بیوتیک ها نشان داد.

**نتیجه گیری:** با توجه به اختلاف میزان حساسیت و مقاومت سویه های مختلف نسبت به آنتی بیوتیک ها، بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی برای درمان عفونت های میکروبی، ضروری است.

**کلیدواژه ها:** استافیلوکوکوس اورئوس، مقاومت دارویی، روش دیسک انتشاری

### مقدمه

در برخی از کشورها آنتی بیوتیکها بدون نسخه فروخته می شوند که منجر به ایجاد انواع باکتریائی مقاوم می شوند. مسئله اصلی در ظهور باکتری های مقاوم، بواسطه استفاده ناصحیح و بیش از حد آنتی بیوتیکها توسط پزشکان و بیماران است (سازمان جهانی بهداشت)، سایر عوامل موثر در پیدایش مقاومت شامل استفاده از آنتی بیوتیکها در غذای دام، استفاده خانگی از آنتی بیوتیکها در صابونها و سایر محصولات و اعمال نادرست در صنایع داروسازی می باشد (۶، ۷، ۸ و ۹). برخی کلاسهای آنتی بیوتیکی در مقایسه با سایر کلاسها به میزان بالائی با کلینیزاسیون سوپرباگها همراهند. خطر کلینیزاسیون در موارد فقدان حساسیت (مقاومت) سوپرباگها (یک کلمه غیر

مقاومت آنتی بیوتیکی نوعی از مقاومت دارویی است که میکروارگانیزم قادر به زندگی و بقا در مجاورت یک آنتی بیوتیک است (۱ و ۲). استفاده گسترده از آنتی بیوتیکها هم در داخل و هم در خارج از حیطه پزشکی نقش ویژه ای در ظهور باکتریهای مقاوم بازی می کند (۳)، اگر چه سطوح پائینی از باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک نیز، قبل از استفاده گسترده از آنتی بیوتیکها موجود بوده است (۴ و ۵). افزایش استفاده از آنتی بیوتیکها در توسعه انواع مقاوم به چند دارو و گردش مقاومت بین گونه های باکتریائی نقش داشته است (۶). آنتی بیوتیکها در غذای حیوانات پرورشی اغلب استفاده می شود و همچنین

می شود که ۲۰٪ از جمعیت انسانی حاملین طولانی مدت استافیلوکوکوس اورئوس می باشند (۱۶ و ۱۵).

استافیلوکوکوس اورئوس سه ویژگی مبهم را به نمایش میگذارد که در اغلب دیگر باکتری های وابسته مشاهده نمی شود. این گونه قادر به بیان انواعی از فاکتورهای بیماری زایی است و بنابراین تقریباً همیشه وقتی که از یک نمونه بالینی جدا می شود، به عنوان یک مسئله پزشکی مورد توجه قرار می گیرد. اثبات شده است که ارگانیسم قادر به توسعه و گسترش مقاومت به کلاس های وسیعی از آنتی میکروب هاست و یک پاتوژن دائمی در بیمارستان ها و جوامع مربوطه است (۱۷).

هدف از انجام این تحقیق بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های مختلف استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه های بالینی نسبت به آنتی بیوتیک های رایج و نسبتاً پر مصرف در طب بالینی بود.

### روش کار

این مطالعه از نوع مقطعی توصیفی است و بر روی ۸ سویه استافیلوکوکوس اورئوس از افراد مختلف و با استفاده از مشخصات مورفولوژیک و شکل کلنی روی آگار خوندار (کلنی مدور با سطح نرم، صاف، مرطوب، محدب به قطر ۴-۲ میلی متر پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، وجود پیگمان زرد، قوام خشن)، آزمایش میکروسکوپی کلنی ها پس از رنگ آمیزی گرم و مشاهده کوکسی های گرم مثبت به صورت منفرد، زنجیره های کوتاه و خوشه ای، انجام آزمایش همولیز و آزمایشات کاتالاز و کواگولاز جدا سازی و شناسائی گردید. این سویه ها پس از کشت در محیط های بلاد آگار و چاپمن آگار جهت تعیین حساسیت و مقاومت به آنتی بیوتیک های مختلف مورد استفاده قرار گرفتند.

پس از تشخیص قطعی استافیلوکوکوس اورئوس توسط روش های فوق الذکر، از کشت های ۲۴ ساعته هر سویه، مقداری از کلنی باکتریائی را در تریپتی کیس سوی برائاستریل کشت و پس از ۶-۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه

تخصصی است که برای شرح هر میکروارگانیسمی که حداقل به یک یا بیشتر از آنتی بیوتیک های مورد استفاده مقاوم باشد، به کار می رود) به آنتی بیوتیک های مورد استفاده و نفوذ زیاد نسبی و همچنین فعالیت وسیع الطیف علیه باکتری های مفید افزایش می یابد (۱۰ و ۱۱).

حجم آنتی بیوتیک تجویز شده عامل اصلی میزان فزاینده مقاومت باکتریائی است (۱۲). یک دوز تکی از آنتی بیوتیک ها منجر به خطر بیشتر ارگانیسم های مقاوم به آن آنتی بیوتیک در فرد برای بیش از یک سال می گردد (۱۳).

چهار مکانیسم اصلی که میکروارگانیسم ها برای بروز مقاومت به آنتی میکروبیال ها بکار می گیرند عبارتند از (۱۴):

۱- غیر فعال سازی یا تغییر و تبدیل دارو: مثلاً بی اثر کردن آنزیمی پنی سیلین G در باکتری های مقاوم به پنی سیلین از طریق تولید بتالاکتاماز.

۲- تغییر محل هدف: برای مثال، تغییر محل اتصال هدف پنی سیلین در استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA) (Methicillin Resistant Staphylococcus aureus) و سایر باکتری های مقاوم به پنی سیلین.

۳- تغییر مسیر متابولیک: برای مثال، برخی از باکتری های مقاوم به سولفونامید، به پارا آمینوبنزوئیک اسید (PABA) (که یک پیش ساز مهم برای ساخت اسید فولیک و اسیدهای نوکلئیک در باکتری های که بوسیله سولفونامیدها ممانعت می شوند) نیاز ندارند.

۴- جمع آوری داروی کاهش یافته: بوسیله کاهش قدرت نفوذ دارو و یا افزایش افلاکس (پمپ به خارج) دارو از عرض سطح سلول.

استافیلوکوکوس اورئوس یا استاف طلائی، یک باکتری کوکسی گرم مثبت و بی هوازی اختیاری است. این کوکسی یکی از پاتوژن های اصلی مقاوم است که روی غشاهای مخاطی و پوست حدود یک سوم جمعیت یافت می شود و بی نهایت با فشار آنتی بیوتیکی قابل انطباق است. این باکتری یکی از اولین باکتری هایی بود که مقاومت به پنی سیلین در سال ۱۹۴۷ و فقط ۴ سال پس از شروع تولید انبوه دارو، در آن دیده شد. تخمین زده

جدول ۱- بررسی اثر آنتی باکتریال آنتی بیوتیک های متداول بر روی سویه های مختلف استافیلوکوکوس اورئوس

		S= Sensitive		R= Resistant		I= Intermediate														
Tobramycin TOB: ۱۰ μg/disk		Lincomycin (L: ۱۵ μg/disk)		Penicillin (P: ۱۰ μg/disk)		Neomycin (N: ۳۰ μg/disk)														
عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد		شماره سویه باکتری												
نتیجه تست	R(mm or less)	Intermediate	S(mm or more)	قطر هاله عدم رشد (mm)	نتیجه تست	R(mm or less)	Intermediate	S(mm or more)	قطر هاله عدم رشد (mm)											
S	۱۲	۱۳-۱۴	۱۵	۱۸	I	۱۳	۱۴-۱۷	۱۸	۱۴	R	۲۸	-	۲۹	۱۹	S	۱۲	۱۴-۱۶	۱۷	۱۹	۱
S	۱۲	۱۳-۱۴	۱۵	۲۰	I	۱۳	۱۴-۱۷	۱۸	۱۴	R	۲۸	-	۲۹	۱۱	I	۱۲	۱۴-۱۶	۱۷	۱۵	۲
S	۱۲	۱۳-۱۴	۱۵	۱۹	I	۱۳	۱۴-۱۷	۱۸	۱۴	R	۲۸	-	۲۹	۲۰	S	۱۲	۱۴-۱۶	۱۷	۱۸	۳
S	۱۲	۱۳-۱۴	۱۵	۱۹	I	۱۳	۱۴-۱۷	۱۸	۱۴	R	۲۸	-	۲۹	۲۰	S	۱۲	۱۴-۱۶	۱۷	۱۷	۴
S	۱۲	۱۳-۱۴	۱۵	۱۹	S	۱۳	۱۴-۱۷	۱۸	۲۰	S	۲۸	-	۲۹	۲۴	S	۱۲	۱۴-۱۶	۱۷	۱۸	۵
S	۱۲	۱۳-۱۴	۱۵	۱۷	I	۱۳	۱۴-۱۷	۱۸	۱۴	R	۲۸	-	۲۹	۹	S	۱۲	۱۴-۱۶	۱۷	۱۷	۶
S	۱۲	۱۳-۱۴	۱۵	۱۹	I	۱۳	۱۴-۱۷	۱۸	۱۵	R	۲۸	-	۲۹	۲۰	S	۱۲	۱۴-۱۶	۱۷	۱۸	۷
S	۱۲	۱۳-۱۴	۱۵	۱۹	I	۱۳	۱۴-۱۷	۱۸	۱۵	R	۲۸	-	۲۹	۱۵	S	۱۲	۱۴-۱۶	۱۷	۱۷	۸

  

		Ceftazidime (CAZ: ۳۰ μg/disk)		Amikacin (AN: ۳۰ μg/disk)		Ceftriaxone CRO® ۳۰ μg/disk)		Oxytetracycline T: ۳۰ μg/disk)												
عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد												
نتیجه تست	R(mm or less)	Intermediate	S(mm or more)	قطر هاله عدم رشد (mm)	نتیجه تست	R(mm or less)	Intermediate	S(mm or more)	قطر هاله عدم رشد (mm)											
R	۱۴	۱۵-۱۷	۱۸	۶	S	۱۴	۱۵-۱۶	۱۷	۱۹	R	۱۳	۱۴-۲۰	۲۱	۱۳	S	۱۴	۱۵-۱۸	۱۹	۲۱	۱
R	۱۴	۱۵-۱۷	۱۸	۶	S	۱۴	۱۵-۱۶	۱۷	۱۷	R	۱۳	۱۴-۲۰	۲۱	۱۳	S	۱۴	۱۵-۱۸	۱۹	۲۴	۲
R	۱۴	۱۵-۱۷	۱۸	۶	S	۱۴	۱۵-۱۶	۱۷	۲۰	R	۱۳	۱۴-۲۰	۲۱	۱۳	S	۱۴	۱۵-۱۸	۱۹	۲۰	۳
R	۱۴	۱۵-۱۷	۱۸	۶	S	۱۴	۱۵-۱۶	۱۷	۱۸	I	۱۳	۱۴-۲۰	۲۱	۱۴	S	۱۴	۱۵-۱۸	۱۹	۱۹	۴
R	۱۴	۱۵-۱۷	۱۸	۶	S	۱۴	۱۵-۱۶	۱۷	۲۱	I	۱۳	۱۴-۲۰	۲۱	۱۷	S	۱۴	۱۵-۱۸	۱۹	۲۶	۵
R	۱۴	۱۵-۱۷	۱۸	۶	I	۱۴	۱۵-۱۶	۱۷	۱۵	I	۱۳	۱۴-۲۰	۲۱	۱۴	S	۱۴	۱۵-۱۸	۱۹	۲۱	۶
R	۱۴	۱۵-۱۷	۱۸	۶	S	۱۴	۱۵-۱۶	۱۷	۱۷	R	۱۳	۱۴-۲۰	۲۱	۱۳	S	۱۴	۱۵-۱۸	۱۹	۲۱	۷
R	۱۴	۱۵-۱۷	۱۸	۶	S	۱۴	۱۵-۱۶	۱۷	۱۷	R	۱۳	۱۴-۲۰	۲۱	۱۲	S	۱۴	۱۵-۱۸	۱۹	۲۰	۸

دیسک‌های آنتی بیوتیک روی محیط کشت مولر هینتون آگار حاوی باکتری (به طریقی که در مرحله قبل توضیح داده شد) قرار گرفت. از ۲۵ دیسک آنتی بیوتیک (پادتن طب) شامل اکسی‌تتراسیکلین، سفتریاکسون، آمیکاسین، سفنازیدیم، کلروتتراسیکلین، آموکسی کلاو، سفراکسین، جنتامایسین، تری متوپی‌ریم و سولفامتوکسازول، اکساسیلین، سفوتاکسیم، سفالکسین، متی سیلین، کاربنی سیلین، وانکومایسین، نئومایسین، پنی سیلین، لینکو

سانتی‌گرا و رسیدن باکتری به فاز لگاریتمی رشد، غلظت باکتری موجود در محیط کشت مایع، با استفاده از محلول های استاندارد مک فارلند و اسپکتروفوتومتری استاندارد شد. یکصد میکرولیتر (1/5 × 10<sup>8</sup> cfu/ml) از سوسپانسیون باکتریائی هر سویه به پتری دیش‌های محتوی ۱۵ میلی لیتر محیط کشت مولر هینتون آگار مذاب اضافه و به منظور همگن و یکنواخت شدن کاملاً مخلوط گردید. سپس تا زمان جامد شدن کامل در آزمایشگاه نگهداری شد.

ادامه جدول ۱:

Ampicillin (AM:۱۰۰µg/disk)		Difloxacin (DF:۱۰µg/disk)		Rifampicin (RA:۵µg/disk)		Cephalothin (CF:۳۰µg/disk)	
عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد	
نتیجه تست	R(mm or less)	نتیجه تست	R(mm or less)	نتیجه تست	R(mm or less)	نتیجه تست	R(mm or less)
۱	۲۸	S	۱۳	S	۱۶	S	۱۴
۲	۲۸	S	۱۳	S	۱۶	S	۱۴
۳	۲۸	R	۱۳	S	۱۶	S	۱۴
۴	۲۸	I	۱۳	S	۱۶	S	۱۴
۵	۲۸	S	۱۳	S	۱۶	S	۱۴
۶	۲۸	S	۱۳	S	۱۶	I	۱۴
۷	۲۸	I	۱۳	S	۱۶	S	۱۴
۸	۲۸	S	۱۳	S	۱۶	S	۱۴

Cefotaxime g/disk)۳۰µ (CTX:		Cloxacillin g/disk)۱µCX:		Oxacillin g/disk)۱µ (OX:		Trimethoprim & Sulfamethoxazol (SXT)	
عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد	
نتیجه تست	R(mm or less)	نتیجه تست	R(mm or less)	نتیجه تست	R(mm or less)	نتیجه تست	R(mm or less)
۱	۱۴	R	۱۱	R	۱۳	S	۱۰
۲	۱۴	R	۱۱	R	۱۳	S	۱۰
۳	۱۴	R	۱۱	R	۱۳	S	۱۰
۴	۱۴	R	۱۱	R	۱۳	S	۱۰
۵	۱۴	S	۱۱	R	۱۳	S	۱۰
۶	۱۴	R	۱۱	R	۱۳	S	۱۰
۷	۱۴	R	۱۱	R	۱۳	S	۱۰
۸	۱۴	R	۱۱	R	۱۳	S	۱۰

۹ نوع دیسک آنتی بیوتیکی مقاومت نشان داد و سویه شماره ۵ فقط نسبت به ۴ نوع آنتی بیوتیک مقاوم بود. سویه شماره ۵ و ۷ نسبت به متی سیلین حساس، سویه شماره ۴ در حالت Intermediate و سایر سویه ها نسبت به متی سیلین مقاوم بودند.

سویه شماره ۵ تنها سویه ای بود که هم به پنی سیلین، هم به کلوزاسیلین و هم به آمپی سیلین حساسیت نشان داد. نکته قابل توجه این بود که بیشترین میزان قطر هاله عدم رشد در بین تمام سویه ها و دیسک های آنتی بیوتیکی، در مورد این سویه و این آنتی بیوتیک ها بود که به ترتیب برابر با ۳۴ و ۳۲ میلی متر بود. قطر هاله عدم رشد این سویه برای متی سیلین برابر ۳۲ میلی متر بود. ضمناً سویه شماره ۵ نسبت به کلوزاسیلین نیز حساسیت نشان داد در حالی که

مایسین، تورامایسین، سفالوتین، ریفامپیسین، دیفلوکساسین (کاربرد در دامپزشکی)، کلواکساسیلین، داکسی سیکلین و آمپی سیلین استفاده شد. پس از انکوباسیون لازم، قطر هاله ممانعت از رشد اندازه گیری شد.

### یافته ها

تجزیه و تحلیل نتایج حاصل در جدول ۱ نشان می دهد که سویه شماره ۵ با حساسیت نسبت به ۱۷ نوع آنتی بیوتیک مورد مطالعه، بیشترین حساسیت را به انواع مختلف آنتی بیوتیک داشت و متعاقب آن سویه های شماره ۸، ۷، ۳، ۴، ۱، ۲ و ۶ به ترتیب هر کدام به ۱۵، ۱۴، ۱۳، ۱۱، ۱۱، ۱۰ و ۱۰ نوع آنتی بیوتیک حساس بودند. بیشترین میزان مقاومت، مربوط به سویه شماره ۶ بود که به

ادامه جدول ۱:

Gentamycin (GM: ۱۰۰µg/disk)		Cephadrine (CD: ۳۰µg/disk)		Amoxi-Clav (AMC: (۱۰+۲۰)۳۰µg/disk)		Chlorotetracycline (CT: ۳۰µg/disk)	
عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد	
نتیجه تست	R(mm or less)	Intermediate	S(mm or more)	نتیجه تست	R(mm or less)	Intermediate	S(mm or more)
نتیجه تست	R(mm or less)	Intermediate	S(mm or more)	نتیجه تست	R(mm or less)	Intermediate	S(mm or more)
۱	۲۰	۱۹	۱۵-۱۸	۱۴	۱۴	۱۵-۱۸	۱۹
۲	۲۶	۱۹	۱۵-۱۸	۱۴	۱۴	۱۵-۱۸	۱۹
۳	۲۲	۱۹	۱۵-۱۸	۱۴	۱۴	۱۵-۱۸	۱۹
۴	۲۱	۱۹	۱۵-۱۸	۱۴	۱۴	۱۵-۱۸	۱۹
۵	۲۷	۱۹	۱۵-۱۸	۱۴	۱۴	۱۵-۱۸	۱۹
۶	۲۲	۱۹	۱۵-۱۸	۱۴	۱۴	۱۵-۱۸	۱۹
۷	۲۱	۱۹	۱۵-۱۸	۱۴	۱۴	۱۵-۱۸	۱۹
۸	۲۲	۱۹	۱۵-۱۸	۱۴	۱۴	۱۵-۱۸	۱۹

  

Vancomycin (V: ۳۰µg/disk)		Carbenicillin (CB: ۱۰۰µg/disk)		Meticillin (ME: ۵µg/disk)		Cephalexin (CN: ۳۰µg/disk)	
عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد		عدد جدول استاندارد	
نتیجه تست	R(mm or less)	Intermediate	S(mm or more)	نتیجه تست	R(mm or less)	Intermediate	S(mm or more)
نتیجه تست	R(mm or less)	Intermediate	S(mm or more)	نتیجه تست	R(mm or less)	Intermediate	S(mm or more)
۱	۱۷	۱۸	۱۵-۱۷	۱۴	۱۴	۱۵-۱۷	۱۸
۲	۱۶	۱۸	۱۵-۱۷	۱۴	۱۴	۱۵-۱۷	۱۸
۳	۱۸	۱۸	۱۵-۱۷	۱۴	۱۴	۱۵-۱۷	۱۸
۴	۱۵	۱۸	۱۵-۱۷	۱۴	۱۴	۱۵-۱۷	۱۸
۵	۱۹	۱۸	۱۵-۱۷	۱۴	۱۴	۱۵-۱۷	۱۸
۶	۱۴	۱۸	۱۵-۱۷	۱۴	۱۴	۱۵-۱۷	۱۸
۷	۱۸	۱۸	۱۵-۱۷	۱۴	۱۴	۱۵-۱۷	۱۸
۸	۱۸	۱۸	۱۵-۱۷	۱۴	۱۴	۱۵-۱۷	۱۸

مقاوم بودند. نسبت حساسیت و مقاومت در مورد سایر آنتی بیوتیک ها، در سویه های مختلف، متفاوت بود. در نهایت بیشترین حساسیت مربوط به سویه شماره ۵ و نسبت به پنی سیلین بود که قطر هاله عدم رشد به ۳۴ میلی متر رسید و بیشترین میزان مقاومت مربوط به اکساسیلین و سفنازیدیم بود که تمام سویه ها نسبت به آنها مقاومت نشان داده و قطر هاله عدم رشد برابر با ۶ میلی متر بود.

### بحث و نتیجه گیری

افزایش میکروارگانیسم های مقاوم به آنتی بیوتیک ها یکی از مشکلات جدی در سیستم های مراقبت بهداشتی در جهان هستند و

سایر سویه ها نسبت به کلوزاسیلین مقاوم بودند. تمام سویه های دیگر نسبت به این دو آنتی بیوتیک مقاوم بودند. همین سویه نسبت به لینکومایسین حساسیت نشان داد، در حالی که سایر گونه ها نسبت به این آنتی بیوتیک در حالت بینابینی بودند. نتیجه اینکه این سویه به تمامی آنتی بیوتیک های خانواده پنی سیلین ها بجز اکساسیلین حساس بود (جدول ۱).

تمام سویه ها نسبت به ۶ آنتی بیوتیک شامل کلروتتراسیکلین، جنتامایسین، اکسی تتراسیکلین، تری متوپریم و سولفامتوکسازول، ریفامپیسین و توبرامایسین حساسیت نشان دادند. در حالی که تمام سویه ها فقط نسبت به ۳ آنتی بیوتیک شامل وانکومایسین، اکساسیلین و سفنازیدیم

غیر از سویه شماره ۶، سایر سویه ها نسبت به آمیکاسین و تمام سویه ها نسبت به توبرامایسین حساس بودند که دقیقا عکس مطالعه فوق الذکر بود. ضمنا در مطالعه ما تمام سویه ها به جنتامایسین حساسیت نشان دادند و در مورد متی سیلین به غیر از ۳ سویه، سایر سویه ها مقاومت نشان دادند. همچنین در مطالعه مهاجری و همکاران در سال ۲۰۱۱ میزان مقاومت به متی سیلین ۳۱٪ گزارش گردید (۱۹). اما در مورد سفالوتین به غیر از ۳ سویه، سایر سویه ها حساس و در مورد تری متوپریم و سولفامتوکسازول نتایج مشابه با نتایج کراسلی بود. لذا به نظر می رسد الگوی حساسیت و مقاومت به دلایل مختلف می تواند در برخی موارد مشابه و در برخی موارد کاملا متفاوت باشد و تعیین این الگوها برای سویه های پاتوژن امری اجتناب ناپذیر است.

در مطالعات اشاره شده است که یک ارتباط معکوس بین شدت بیماری زائی و مقاومت آنتی بیوتیکی در استافیلوکوکوس اورئوس وجود داشته باشد و به نظر می رسد سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین و آمینوگلیکوزیدها، ممکن است باعث عفونت های شدید شده و مشکلات جدی در درمان آنتی میکروبی ایجاد کنند (۱۸).

نتایج حاصل از تاثیر آنتی بیوتیک ها از خانواده های مختلف مشخص نمود که سویه های مورد مطالعه همگی به سفالوسپورین های نسل سوم مقاوم بودند باستثنا سویه ۴، ۵ و ۶ که در حالت بینابین قرار داشتند و در بین سفالوسپورین های نسل اول، سفالکسین و سفالوتین توانستند از رشد ۴ سویه جلوگیری نمایند و بقیه سویه ها در حالت بینابین بودند. تمامی سویه های مورد مطالعه نسبت به ونکومایسین مقاومت نشان دادند که در مقایسه با سایر مطالعات افزایش بسیاری را نشان می دهد. در مطالعه مصطفوی زاده و همکاران در سال ۲۰۰۷ میزان مقاومت به ونکومایسین ۱/۶٪، مقاومت نسبی ۱۹/۴٪ و حساسیت ۷۹٪ گزارش گردید، همچنین در مطالعه ای در شهر مشهد در سال ۱۳۸۰ این میزان برابر با ۸٪ گزارش شد و این

ادامه جدول ۱:

شماره سویه باکتری	قطر هاله عدم رشد (mm)	Cephalexin (CN: ۳۰ µg/disk)		
		S(mm or more)	Intermediate	R(mm or less)
۱	۱۷	۱۸	۱۵-۱۷	۱۴
۲	۱۶	۱۸	۱۵-۱۷	۱۴
۳	۱۸	۱۸	۱۵-۱۷	۱۴
۴	۱۵	۱۸	۱۵-۱۷	۱۴
۵	۱۹	۱۸	۱۵-۱۷	۱۴
۶	۱۴	۱۸	۱۵-۱۷	۱۴
۷	۱۸	۱۸	۱۵-۱۷	۱۴
۸	۱۸	۱۸	۱۵-۱۷	۱۴

بیماری های عفونی دومین عامل جدی مرگ و میر در سرتاسر دنیا می باشد. بنابراین داروهای جدید یا ترکیبات جدید که دارای ویژگی های ضد میکروبی هستند، به منظور مبارزه با چنین بیماری هایی، ضروری می باشند.

هدف از انجام این تحقیق بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در ۸ سویه مختلف استافیلوکوکوس اورئوس بود. سویه های مختلف الگوی متفاوتی از مقاومت را در برابر ۲۵ نوع آنتی بیوتیک رایج نشان دادند، برای مثال، سویه شماره ۵، الگوی متفاوت تری از حساسیت و مقاومت را نسبت به سایر سویه ها نشان داد، و نسبت به آمپی سیلین، پنی سیلین و متی سیلین حساسیت نشان داد، که نشانگر تفاوت عمده در میزان پاسخ گوئی به آنتی بیوتیک ها است. این موضوع اهمیت انجام آزمایش آنتی بیوگرام قبل از تجویز دارو را مشخص می سازد.

کراسلی و همکاران در سال ۱۹۷۹ به بررسی شیوع عفونت های ایجاد شده بوسیله سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین و آمینوگلیکوزیدها پرداختند. در این مطالعه، تقریبا تمام سویه ها به توبرامایسین و آمیکاسین مقاوم و تقریبا ۷۵٪ از جدایه ها به جنتامایسین حساس بودند، ضمن این که تمام جدایه ها به متی سیلین مقاوم بودند. در همین مطالعه اکثریت سویه ها به سفالوتین و تری متوپریم و سولفامتوکسازول حساس بودند (۱۸). در حالی که در مطالعه ما به

of Paleontology. 2011. Available from: [http://evolution.berkeley.edu/evolibrary/article/mutations\\_07](http://evolution.berkeley.edu/evolibrary/article/mutations_07).

5. Hawkey PM, Jones AM. "The changing epidemiology of resistance". *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2009; 64 Suppl 1: i3-10.

6. Ferber D. "Livestock Feed Ban Preserves Drugs' Power". *Science*. 2002; 295 (5552): 27-28.

7. Mathew AG, Cissell R, Liamthong S. "Antibiotic resistance in bacteria associated with food animals: a United States perspective of livestock production". *Foodborne Pathog. Dis.* 2007; 4 (2): 115-33.

8. CDC. "Antibiotic Resistance Questions & Answers [Are antibacterial-containing products (soaps, household cleaners, etc.) better for preventing the spread of infection? Does their use add to the problem of resistance?]". Atlanta, Georgia, USA: Centers for Disease Control and Prevention. 2004;53 (45): 1063-6.

9. Larsson DG, Fick J. "Transparency throughout the production chain -- a way to reduce pollution from the manufacturing of pharmaceuticals?". *Regul Toxicol Pharmacol.* 2009; 53 (3): 161-3.

10. Muto CA, Jernigan JA, Ostrowsky BE, Richet HM, Jarvis WR, Boyce JM, et al. "SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *enterococcus*". *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2003; 24 (5): 362-86.

11. Tacconelli E, De Angelis G, Cataldo MA, Pozzi E, Cauda R. "Does antibiotic exposure increase the risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolation? A systematic review and meta-analysis". *J. Antimicrob. Chemother.* 2008; 61 (1): 26-38

12. Pechère JC, Hughes D, Kardas P, Cornaglia G. "Non-compliance with antibiotic therapy for acute community infections: a global survey". *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2007; 29 (3): 245-53.

الگوی افزایش مقاومت به ونکومايسين باید به عنوان یک زنگ خطر هشدار دهنده مورد توجه قرار گیرد (۲۰).

در مورد پنی سیلین‌ها به غیر از کاربنی سیلین که توانست از رشد ۷ سویه جلوگیری نماید، سویه‌های مورد مطالعه نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌های این خانواده مقاومت نشان دادند و تنها سویه‌ای که به آمپی سیلین، پنی سیلین و اکساسیلین حساس بود سویه شماره ۵ بود. بنابراین استفاده از پنی سیلین‌ها نمی‌تواند در درمان عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس موثر باشد.

بر عکس آنتی‌بیوتیک‌های خانواده تتراسیکلین‌ها و آمینوگلیکوزیدها اثر خوبی بر سویه‌ها داشتند. همچنین سویه‌ها نسبت به سایر خانواده‌ها نظیر کینولون‌ها، سولفانامیدها و لینکوزامیدها حساسیت داشتند.

مدیریت کنترل عفونت نیازمند راهکار درمانی مناسب و روش تشخیص سریع مقاومت است. استفاده وسیع از آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به مقاومت آنتی‌بیوتیکی گسترده در باکتری‌های بیماری‌زای انسان شده است و در نتیجه نیاز به تحقیق در مورد عوامل ضد میکروبی جدید را برجسته می‌سازد.

## منابع

1. D'Costa V, King C, Kalan L, Morar M, Sung W, Schwartz C, et al. "Antibiotic resistance is ancient". *Nature*. 2011; 477 (7365): 457-461.

2. Davies J, Davies D. Origins and evaluation of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Review*. 2010; 74: 417-433.

3. Goossens H, Ferech M, Vander Stichele R, Elseviers M. "Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study". *Lancet*. 2005; 365 (9459): 579-87.

4. Caldwell R, Lindberg D, eds. "Understanding Evolution [Mutations are random]". University of California Museum

13. Costelloe C, Metcalfe C, Lovering A, Mant D, Hay AD. "Effect of antibiotic prescribing in primary care on antimicrobial resistance in individual patients: systematic review and meta-analysis". *BMJ*. 2010; p. c2096. doi: 10.1136/bmj.c2096.
14. Li X, Nikadio H. "Efflux-Mediated Drug Resistance in Bacteria: an Update". *Drug*. 2009; 69 (12): 1555-623
15. Bozdogan BÜ, Esel D, Whitener C, Browne FA, Appelbaum PC. "Antibacterial susceptibility of a vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* strain isolated at the Hershey Medical Center". *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003; 52 (5): 864-868.
16. Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. "Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks". *Clin.Microbiol. Rev.* 1997; 10 (3): 505-20.
17. Styers D, Sheehan D, Hogan P, Sahn D. Laboratory-based surveillance of current antimicrobial resistance patterns and trends among *Staphylococcus aureus*: 2005 status in the United States. *Ann ClinMicrobiolAntimicrob.* 2006; 5(2): 10.1186/1476-0711-5-2.
18. Crossley K, Loesch D, Landesman B. An outbreak of infections caused by strains of *Staphylococcus aureus* resistant to methicillin and aminoglycosides. *The Journal of Infectious Diseases*. 1979;139 (3): 273-279.
19. Mohajeri P, Izadi B, Rezaei M, Fallahi B, Moradi ZH, Zare ME. Study of nasal carriage Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in hemodialysis patients in Kermanshah. *Behbood*.2011; 15 (6): 485-491.
20. Mostafavizadeh K, Fasihidastjerdi M, Mobasherizadeh S. Antibiotic resistance of community-acquired *Staphylococcus aureus*. *Journal of Isfahan Medical School*. 2007. 25 (85): 1-8.



## Detection of antibiotic resistance in different strains of staphylococcus aureus using Disc diffusion Agar

\***Mohammadali Zia**, PhD, Assistant Professor of Mycology, Khorasgan (Isfahan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran (\*Corresponding author). [mohammadalizia@yahoo.com](mailto:mohammadalizia@yahoo.com)

**Shahnaz Beheshti**, MSc, Khorasgan (Isfahan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran. [sh\\_beheshti35@yahoo.com](mailto:sh_beheshti35@yahoo.com)

**Hossein Khalkhali**, BSc, Khorasgan (Isfahan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran. [khakhali\\_hossein@yahoo.com](mailto:khakhali_hossein@yahoo.com)

**Samira Saffari**, MSc, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran. [safari\\_samira@yahoo.com](mailto:safari_samira@yahoo.com)

### Abstract

**Background:** Staphylococcus aureus is a facultative anaerobic Gram-positive coccial bacterium which is frequently found as part of the normal flora on the skin and nasal passages. S. aureus can cause a range of illnesses from minor skin infections to life-threatening diseases. The organism is able to develop resistance to a wide range of antibiotics. Resistance to antibiotic is one of the major public health problems and, nowadays, widespread use of antibiotics is playing a significant role in the emergence of resistant bacteria. The aim of this study was to detect antibiotic resistance of different strains of S. aureus to current antibiotics.

**Methods:** This cross-sectional descriptive study was performed on eight different strains of S. aureus. Initially, appropriate samples were taken and then, the morphological, chemical or enzymatic tests were done to confirm diagnosis. Finally, using disc diffusion agar, the effects of different antibiotic discs were evaluated.

**Results:** All strains were sensitive to six antibiotics including Chlorotetracycline, Gentamycin, Oxytetracycline, Trimethoprim -Sulfamethoxazole, Rifampicin and Tobramycin, while all strains were resistant just to three antibiotics including Vancomycin, Oxacillin and Ceftazidime. Each strain showed different sensitivity and resistance rate to other antibiotics.

**Conclusions:** With due regard to the differences in antibiotic sensitivity and resistance rate in different strains, evaluation of antibiotic resistance is necessary for treatment of microbial infections.

**Keywords:** Staphylococcus aureus, Drug resistance, Disk diffusion method