

# مقایسه ی میزان شیوع عفونت های استافیلوکوکوس کوآگولازمنفی در بیماران مرد و زن مراجعه کننده به بیمارستان چالوس

قاسم شریفیان توتکله<sup>۱</sup>، اسمعیل قربانعلی نژاد<sup>۲\*</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، ایران.

عضو هیات علمی گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، ایران.

Email:nima.arzani@gmail.com

## چکیده

**زمینه و هدف:** استافیلوکوک های کوآگولاز منفی در تمامی اعضاء باز بدن ساکن هستند. در گذشته به عنوان عوامل غیر پاتوژن یا بیماری زای ضعیف و عوامل آلوده کننده ثانویه قلمداد می شده اند. بیش از دو دهه از پیدایش استافیلوکوکوس های کوآگولاز منفی به عنوان پاتوژن های فرصت طلب بخصوص در افراد دارای نقص سیستم ایمنی و بیماران دارای ایمپلنت می گذرد. بروز فزاینده عفونت های بیمارستانی ناشی از این باکتری ها شناسایی آنها را در حد گونه مطرح می سازد. هدف از انجام این مطالعه شناسایی سویه های استافیلوکوکوس های کوآگولاز منفی جداسازی شده از ۱۰۰ نمونه کلینیکی به روش های کشت و بیوشیمیایی بود.

**مواد و روشها:** تعداد ۱۰۰ نمونه استافیلوکوکوس های کوآگولازمنفی از نمونه های مختلف بالینی شامل: نمونه ادرار، پوست، زخم از بیماران مرد و زن مراجعه به بیمارستان آیت الله طالقانی چالوس جداسازی شد. روش های فنوتایپی شامل کشت در بلاد آگار و مانیتول سالت آگار و DNase و آزمون های بیوشیمیایی شامل تست اکسیداز، کاتالاز، استفاده از دیسک های باسیترا سین و فورازولیدون و نوویوسین بررسی گردیدند.

**نتایج:** در این پژوهش توانستیم ۳۵ جدایه از استافیلوکوکوس کوآگولاز را با روش های فنوتایپی از محل های مورد نظر جداسازی و شناسایی نماییم. که بیشترین درصد عفونت در مجاری ادراری بانوان و پوست مردان مشاهده گردید.

**بحث:** به دلیل وجود این باکتری در مجاری ادراری بانوان به عنوان یک فلور طبیعی و احتمال آلودگی در هنگام بروز بیماری های دیگر لذا نیاز است که بانوان بستری در بیمارستان نسبت به بهداشت این ناحیه اهتمام ویژه داشته و عوامل بیمارستانی هم با آموزش به بیماران به کنترل این عفونت بیمارستانی کمک نمایند.

کلمات کلیدی: شیوع، استافیلوکوکوس، کوآگولاز منفی، بیمارستان

## مقدمه

استافیلوکوکوس به معنی خوشه انگور، در سال ۱۸۷۸ توسط لویی پاستور و رابرت کخ کشف شد. با اینحال به دنبال مطالعات عمیق تر توسط اوگستون روزنباخ در ابتدا اوگستون جنس استافیلوکوکوس را نامگذاری کرد و در ادامه روزنباخ از روی کلنی و پیگمان تولید شده توسط این باکتریها گونه های استافیلوکوکوس را مشخص نمود. روزنباخ مشخص نمود که بیشتر گونه های

پاتوژن رنگ طلائی تولید می کنند و انواع کمتر پاتوژن کلنی سفید دارند و بر این اساس آنها استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس آلبوس<sup>۱</sup> نامگذاری نمود [12].

استافیلوکوکوس های کواگولاز منفی در تمامی اعضاء باز بدن و حیوانات ساکن هستند. در گذشته به عنوان عوامل غیر پاتوژن یا بیماری زای ضعیف و عوامل آلوده کننده ثانویه قلمداد می شده اند [9].

شایع ترین پاتوژن هایی هستند که باعث عفونت کاتترهای وریدی، پیوندها و شنت های همودیالیز، کاترهای دیالیز صفاقی، مفاصل مصنوعی، پیوندهای عروقی و دریچه های مصنوعی می شوند. این باکتری ها دارای گستردگی وسیعی در طبیعت بوده و جزء باکتری های بیماری زای فرصت طلب قلمداد می گردند [5].

حدود ۷۵-۵۵٪ عفونت های بیمارستانی توسط آنها ایجاد می گردد. با توجه به تنوع و گستردگی سویه ها و وجود عوامل بیماری زا، هزینه های بالایی جهت جداسازی، تشخیص و درمان آنها صرف می شود. تولید بیوفیلم در سطوح پلیمری از جمله مشکلات عدیده ناشی از استافیلوکوکوس های کواگولاز منفی است با وجود این ماده ترشحی باکتری ها از استرس های ناشی از مواد شیمیایی، بیولوژیک و آنتی بیوتیک ها محافظت می گردند [2].

کواگولاز یک پروتئین سطح است که توانایی تبدیل فیبرینوژن به فیبرین را دارد. در نتیجه منجر به تشکیل لخته در پلاسما خون می شود. از آزمون کواگولاز لوله و اسلاید در تشخیص انواع استافیلوکوکوس های کواگولاز مثبت از گونه های کواگولاز منفی استفاده می شود [7].

۲۰ گونه از استافیلوکوکوس های کواگولاز منفی مرتبط با بیماری در انسان شناسایی شده است. ویژگی های ساختاری این میکروارگانیسم ها آنها را قادر به تحمل گرما، خشکی و فعالیت کم در آب و توزیع گسترده در محیط کرده است [6].

## مواد و روش ها

### جمع آوری نمونه ها

در مدت ۱۱ ماه (از بهار ۱۳۹۴ تا پاییز ۱۳۹۴) تعداد یکصد عدد نمونه محیط بیمارستان و پوست، ادرار و زخم بیمارستان بستری در بخشهای ICU، جراحی و اورژانس داخلی از بیمارستان چالوس (نمونه ۴۸) جمع آوری گردید. نمونه های بالینی شامل ۴۱ (۴۱٪) مرد و ۴۱ (۴۱٪) زن بود و ۱۸ (۱۸٪) مورد نیز از ونتیلیاتورها و تخت جمع آوری گردید. نمونه ها با رعایت شرایط آسپتیک در لوله های مجزا، در کمتر از نیم ساعت به آزمایشگاه شبکه بهداشت شهرستان چالوس منتقل و در محیط کشت بلاد آگار به صورت اولیه کشت داده شد.

کلید ی نمونه ها در محیط های کشت شامل سالین، بلاد آگار، مانیتول سالت آگار، DNase، مولر هینتون آگار و تست های بیوشیمیایی H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>، آب مقطر، رنگ آمیزی گرم بررسی گردیدند.

### نتایج

نمونه های جمع آوری شده از بیمارستان های مورد پژوهش شامل: ادرار، پوست، زخم، ترشحات چشم از بخشهای مختلف در طی پنج مرحله بر روی محیط بلاد آگار به صورت اولیه کشت داده شد. با بررسی رشد ایجاد شده در محیط کشت اولیه، کلنی های باکتریایی از نظر ظاهر، همولیز احتمالی و رنگ کلنی مشخص و سپس رنگ آمیزی گرم و تست کاتالاز انجام شد. پس از جداسازی اولیه و مشخص نمودن باکتری های گرم مثبت، کوکسی های با آرایش خوشه انگوری، استافیلوکوکوس در نظر گرفته می شود.

<sup>1</sup>Staphylococcus Albus

از ۱۰۰ نمونه کلینیکی جمع آوری شده، تعداد ۱۹ مورد فاقد رشد بوده و بعد از انکوباسیون مجدد به مدت ۲۴ ساعت و عدم مشاهده رشد، حذف شدند و تعداد ۸۱ مورد نیز واجد رشد بود که از این تعداد ۱۷ مورد شامل کوکسی ها و باسیل های گرم منفی و قارچ بود و مابقی به تعداد ۶۴ مورد گرم مثبت بود.

بعد از کشت خطی و رشد باکتری در محیط بلادآگار و ایجاد کلنی های تک، در این مرحله از تست های اکسیداز، باسیتراسین و فورازولیدون به منظور تمایز میکروکوکوس ها از استافیلوکوکوس استفاده شد. از ۶۴ نمونه گرم مثبت بعد از انجام تست اکسیداز، کشت سفره ای به منظور انجام تست های باسیتراسین و فورازولیدون تهیه شد. بعد از انکوباسیون در دمای °C ۳۷ به مدت ۲۴ ساعت هاله عدم رشد و یا مقاومت بررسی و اندازه گیری شد. تعداد ۵ مورد اکسیداز منفی بود که در بررسی تست باسیتراسین نیز هاله عدم رشد بیش از ۱۰ mm مشاهده گردید. همچنین در بررسی حساسیت نسبت به دیسک فورازولیدون نیز مقاوم بودند. بنابراین میکروکوکوس تشخیص داده شده و در نتیجه این پنج مورد حذف شدند.

### نتایج نمونه برداری از روی پوست

از ۱۰۰ نمونه: تعداد ۵۲ مورد از روی پوست و عمدتاً از پا جمع آوری گردید که از این تعداد ۲۸ (۵۳٫۸٪) مورد از مردان و ۲۴ (۴۶٫۱٪) مورد از زنان نمونه برداری شده بود. ۲۰ (۳۸٫۴٪) مورد از جدایه ها مربوط به استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس و ۲۴ (۴۶٫۱٪) مورد سایر میکروارگانیسم ها و همچنین ۸ (۱۵٫۳٪) مورد نیز فاقد رشد بود. از ۲۰ جدایه استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، ۹ (۴۵٪) از زنان و ۱۱ (۵۵٪) از مردان جداسازی شد. در نتیجه تفاوت فاحشی در بین مردان و زنان مشاهده نشد.

### جدول ۱ نمونه برداری از پوست و نتایج حاصل از آن

مردان		زنان		از ۱۰۰ نمونه		موارد نمونه پوست
تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
۲۸	۵۳٫۸٪	۲۴	۴۶٫۱٪	۵۲	۵۲٪	فراوانی
۱۱	۵۵٪	۹	۴۵٪	۲۰	۲۰٪	استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس
*	*	*	*	۸	۸٪	فاقد رشد
*	*	*	*	۲۴	۲۴٪	سایر میکروارگانیسمها

### نتایج نمونه برداری از ادرار

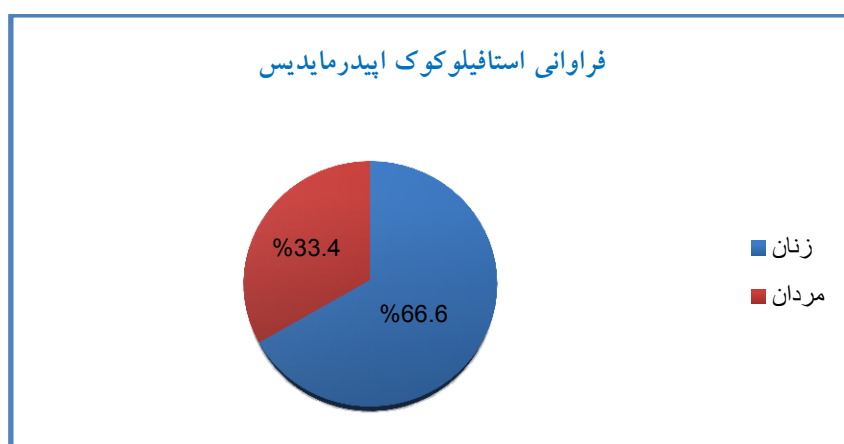
از ۱۰۰ نمونه: از ۲۴ نمونه ادرار جمع آوری شده از بخش ICU، ۱۵ مورد مربوط به زنان و ۹ مورد مربوط به مردان بود. از این تعداد ۵ (۵٪) مورد استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، ۲ (۲٪) مورد استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، ۹ (۹٪) مورد فاقد رشد و ۸ (۸٪) مورد مربوط به سایر میکروارگانیسم ها بود. همچنین از ۵ جدایه استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس ۱ مورد (۲۰٪) از مردان و ۴ مورد (۸۰٪) از زنان جداسازی شد و نیز هر ۲ جدایه استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس مربوط به زنان بود.

### جدول ۲ نمونه برداری از ادرار و نتایج حاصل از آن

مردان		زنان		از ۱۰۰ نمونه		موارد نمونه ادرار
تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
۹	۳۷٫۵٪	۱۵	۶۲٫۵٪	۲۴	۲۴٪	فراوانی

استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس	۵	۵٪	۱	۲۰٪	۴	۸۰٪
استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس	۲	۲٪	۰	۰	۲	۱۰۰٪
فاقد رشد	۹	۹٪	*	*	*	*
سایر میکروارگانیسمها	۸	۸٪	*	*	*	*

. با توجه به آمار بدست آمده، علی رغم در نظر گرفتن تعداد بیشتر نمونه های جمع آوری شده از زنان (به میزان ۱٫۶ برابر بیشتر) همچنان تفاوت فاحشی در فراوانی سویه های استافیلوکوکوس های کواگولاز منفی مشاهده شد. تعداد استافیلوکوک اپیدرمایدیس در زنان (۶۶٫۶٪) و ۲ برابر بیشتر از مردان بود و تعداد استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس در زنان ۱۰۰٪ بیشتر از مردان مشاهده گردید.



نمودار ۱ مقایسه فراوانی استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس در نمونه های ادرار مردان و زنان

### نتایج نمونه برداری از زخم و ترشحات چشم

از ۴ نمونه زخم مربوط به بخش ICU ۲ مورد از مرد و دو مورد از زن گرفته شده بود که در همه موارد سایر میکروارگانیسم ها مشاهده گردید. هر دو نمونه ترشحات چشم مربوط به مردان بود که یک مورد آن استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس بود.

با در نظر گرفتن تمامی داده ها، نتایج کشت ها و تست های انجام شده مشخص گردید که میزان فراوانی این میکروارگانیسم ها با مدت زمان بستری افراد و استفاده از دستگاه های پزشکی در بخش های مورد تحقیق رابطه مستقیم دارد و با افزایش موارد یاد شده تعداد جدایه های استافیلوکوکوس های کواگولاز منفی نیز افزایش داشته است. در مورد سن بیماران تفاوت محسوسی مشاهده در افزایش بروز این باکتری ها مشاهده نگردید. بر این اساس از ۳۵ مورد جدایه های استافیلوکوکوس کواگولاز منفی بیشترین فراوانی به ترتیب با ۱۳ مورد مربوط به بخش ICU، ۱۰ مورد مربوط به بخش داخلی، ۸ مورد مربوط به بخش جراحی و ۴ مورد مربوط به اورژانس بود. بیشترین موارد باکتری با ۳۲ مورد، مربوط به استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس بود و فراوانی آن در بین زنان و مردان تفاوت چندانی نداشت. کمترین جدایه با ۳ مورد، مربوط به استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس بود که دو مورد آن از زنان و یک مورد آن از محیط جداسازی شد.

### بحث

صدیقه جوادیپور و همکاران در گروه میکروبیولوژی مرکز تحقیقات بیماری های عفونی در پژوهش خود بر روی بیماران بیمارستان شهید محمدی بندر عباس نشان دادند که از ۵۰۶۳ نمونه بالینی، ۲۷۶ (۱۷/۵٪) نمونه ها مربوط به استافیلوکوکوس های کواگولاز منفی بوده است که از این میان ۷۳/۹٪ مربوط به خارج بدن بیمار (محیط بیمارستان) و ۲۶/۱٪ از بیماران بدست

آمد. حدود ۶۸/۵٪ از استافیلوکوکوس های کواگولاز منفی از نمونه های بالینی زنان بدست آمد. اغلب استافیلوکوکوس های کواگولاز منفی جدا شده از سایت های مختلف بدن مربوط به کشت ادرار (۷۸/۶٪) را نشان می داد. ۳۸/۹٪ نمونه ها مربوط به بخش داخلی و ۳۴/۷٪ مربوط به اورژانس داخلی بوده است. وانکومایسین (۱۰۰٪) و امی پنم (۹۴٪) به عنوان دو آنتی بیوتیک موثر، بیشترین تاثیر را را داشتند. سیپروفلوکساسین، نورفلوکساسین، آمینوگلایکوزیدها بیشترین آنتی بیوتیک های موثر بر روی استافیلوکوکوس های کواگولاز منفی جدا شده از بخش های مختلف بیمارستان بودند [3].

در سالهای اخیر با توجه به افزایش تعداد عفونت های بیمارستانی و حضور روز افزون استافیلوکوکوس های کواگولاز در اغلب کشت های آزمایشگاهی به منظور اثبات ارتباط این میکروارگانیسم ها با عفونت های بیمارستانی، تحقیقات زیادی توسط بسیاری از افراد در این ارتباط صورت گرفته است. در یکی دیگر از این پژوهش ها، ساراتباوم و همکارانش در آندرها پرادش هند، بر روی خصوصیات استافیلوکوکوس های کواگولاز منفی جدا شده از ادرار، خلط، چرک و نمونه خون تحقیقاتی را انجام دادند [10].

نونو کروکا و همکارانش در آمریکا در پژوهشی اقدام به مقایسه کمی حساسیت آنتی بیوتیکی نمونه های آزاد و بیوفیلیم در استافیلوکوکوس های کواگولاز منفیه خصوص اپیدرمایدیس و همولیتیکوس نمودند و دریافتند که در فرم آزاد سلول های باکتریایی، آنتی بیوتیک های مهار کننده دیواره سلولی بسیار موثرتر طی یک دوره ۳ ساعته نسبت به فرم بیوفیلیم باکتری که ۶ ساعت زمان نیاز داشت، اثر گذار هستند [8].

عفونت استافیلوکوکی، عفونت هایی هستند که در طی زمان بستری شدن بیمار در بیمارستان ایجاد می شوند. آمار موجود در مورد میزان بروز این عفونت در مراکز مختلف، از ۲/۸ تا ۱۰٪ متفاوت است. تحمیل خسارات زیاد جانی و مالی توسط این عفونت ها و عدم وجود آمار دقیق بروز این مشکل، ما را بر آن داشت تا میزان بروز عفونت های استافی و عوامل مرتبط با آن را بررسی نماییم. با توجه به نتایج حاصل از تحقیق فوق، بروز عفونت بیمارستانی در مراکز درمانی غیر قابل اجتناب می باشد و کنترل آن از مهمترین اهداف بهداشتی مراکز درمانی می باشد. در مطالعه اخیر برای کاهش میزان بروز عفونت بیمارستانی و استافی نیاز به مداخلات درمانی بموقع و صحیح می باشد. بایستی در شرایط خاص و در حداقل موارد از کاتتر، سوند و غیره استفاده نمود. با توجه به حساسیت بالای بخش های مراقبت ویژه بایستی رعایت بهداشت کامل به کارکنان و کادر پزشکی درمانی این بخش ها بویژه ICU و CCU آموزش داده شود. شستشوی مرتب دستها، استفاده از ژل های ضد میکروبی و استفاده از دستکش یکبار مصرف و ماسک در مواجهه با بیماران بسیار منطقی و ضروری می باشد. علاوه بر آن مصرف آنتی بیوتیک ها بایستی کنترل شود. کارکنان بایستی واکسینه شده و از سلامتی آنها در مجاورت با بیماران اطمینان حاصل شود [1] و [4] و [11]. همین طور پیگیری صحیح و گزارش به موقع از موارد عفونت بیمارستانی و تشخیص صحیح انواع میکروارگانیسم های دخیل در این امر و پیگیری بیماران ترخیص شده از نظر عفونت بیمارستانی، می تواند در اعتبار موارد ثبت شده مفید باشد و تمامی این موارد زمانی حاصل می شود که مسئولین دلسوزانه با محققین همراه شوند.

## References

1. Costantini M / Donisi P M / Turrin M G / Diana L , Hospital acquired infections surveillance and control in intensive care services, Results of an incidence study 2004;3(4):347-355.
2. Hoseinzadeh, E., Samarghandie, M., R., Ghiasian, S., A., Alikhani, M., Y., Roshanaie, G.H. Evaluation of Bioaerosols in Five Educational Hospitals Wards Air in Hamedan. Jundishapur Journal of Microbiology. 2013.6(6)

3. Javadpour,S., Karimi, E., Karmostaji, A. Frequency and anti-biogram pattern of coagulase negative Staphylococcus in clinical specimens of Shahid Mohammadi Hospital in patients, Bandar-Abbas. African Journal of Microbiology Research.2010 4(14): 1581-1583
4. Katz J.D/ et al.,Hand washing and hand disinfection: more than your mother taught you, Anesthesiol. Clin North America2004;22 (3): 457-471.
5. Khosravi,A,D., Parhizgari,N .,Abbasi Montazeri,E., Mozaffari ,A. The Prevalence of Bacteria Isolated From Endotracheal Tubes of Patients in Golestan Hospital Ahvaz. Jundishapur J Microbiol 2013.6(1): 67-71
6. Malik Asif Hussain.Comparative study of coagulase Negative Staphylococci From Clinical Isolates,Skin and Nasal Sources.Medical Lab Tecnology.20011
7. Mashhadi Abar Bojar,M.The Pptern of Staphylococcus epidermidis bacteria resistance in the pediatric ward of imam Khomeini Hospital.1387
8. Nuno, C., Silvia, M., Filipe, C., Kimberly, K. J., Gerald, B.,Rosa´ rio Oliveira,P . Comparative assessment of antibiotic susceptibility of coagulase-negative staphylococci in biofilm versus planktonic culture as assessed by bacterial enumeration or rapid XTT colorimetry. Journal of Antimicrobial Chemotherapy.2005;56: 331–336
9. Ramzi,M Helewa,. John M.,What to do with Coagulase-Negative Staphylococci. Canadian Journal of CME . 2007
10. Sarathbabum,S., rajkumari,N.,Ramani,T,V. Characterization of Coagulase negative Staphylococci isolated from urine,pus, sputum and blood samples. International Journal of Pharmaceutical Science Invention.2013.2(1): 37-46
11. Shahsavari S /Beigi Marvast P/Behinaaine n/Ayatollahi A,Teaching Nursing students about the Basic principles of Infection Control:Programmed Instruction or Lecture Method.Iranian J med Educat 2004;4(1):22-27.
12. Wilhelmina,S., Marleen, M., Andries,W., Dreyer.,Marthie M. E. Molecular markers of resistance in coagulase-negative staphylococci implicated in catheter-related bloodstream infections. Microbial pathogens and strategies for combating them.2013.

# Comparison Of The Prevalence Of Coagulase-Negative *Staphylococci* Infections In Surgical Wards And Emergency ICU, CCU chalos Hospital

Qasem Sharifian Totkahl <sup>1</sup>, Ismaiel ghorbamalinezhad <sup>\*2</sup>

## Abstract

Background: Coagulase Negative Staphylococci In The Living Body Are Open To All Members. Non-Pathogenic Or Low Pathogenic Factors And Died As Secondary Pollutants Are Considered. Over Two Decades, The Emergence Of Coagulase Negative Staphylococci As Opportunistic Pathogens, Especially In Immunocompromised Individuals And Patients With Implants Passes. Rising Incidence Of Nosocomial Infections Caused By These Bacteria And Raises Them To The Level Of Species. The Aim Of This Study Is To Identify Strains Of Coagulase Negative Staphylococci Isolated From Clinical Samples Using Culture And Biochemical Was 100.

Materials And Methods: A Total Of 100 Samples Of Coagulase Staphylococcus Various Clinical Samples, Including Urine, Skin, Wound And Noshahr Ayatollah Beheshti Hospital Environment Chalus Was Isolated. Phenotype Methods Include Mannitol Salt Agar And Cultured In Blood Agar And Dnase And Biochemical Tests Include Testing Oxidase And Catalase Using Bacitracin And Furazolidone And Novobiocin Discs Were Evaluated.

Results: In This Study 35 Isolates Of Staphylococcus Coagulase Were Able To Isolate And Identify Ways Phenotype Of Our Desired Location.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, coagulase negative, prevalence

\*Responsible for correspondence