پژوهنده (مجله پژوهشي دانشگاه علوم پزشكي شهيد بهشتي)
سال سيزدهم, شماره ۵ , پي در پي ۶۵ ، صفحات ۴۵۹ تا ۴۶۷
آذر و دی ۱۳۸۷

تاريخ دريافت مقاله ۸۶/۱۲/۲۲
تاريخ پذيرش مقاله ۸۷/۳/۱۲

بررسي شيوع توليد آنزيم β-لاكتاماز در بين فلور ميكروبي پوست انسان و تعيين الگوي مقاومت آنتي‌بيوتيكي آن ها

ليلا قاضي‌عسگر [۱] *، دكتر روحا كسراي كرمانشاهي [۲]

چكيده

سابقه و هدف: *به دليل تنوع فراوان جمعيت ميكروبي ساكن روي پوست انسان و با توجه به گسترش روزافزون مقاومت دارويي در باكتري‌ها، اين مطالعه با هدف تعيين مقاومت آنتي‌بيوتيكي در بين سويه‌هاي فلور ميكروبي بدن خصوصاً انواع ساكن پوست انجام شد.*

مواد و روش ها: *تعداد ۹۶ نمونه فلور ميكروبي از پوست دست و پاي افراد مورد نظر تهيه و پس از خالص‌سازي و مطالعه مورفولوژي و واكنش گرم ميكروارگانيسم‌ها، وجود آنزيم β-لاكتاماز در آن ها به روش اسيدومتري بررسي گرديد. سپس الگوي مقاومت آنتي‌بيوتيكي در باكتري‌هاي واجد آنزيم β-لاكتاماز به روش انتشار ديسك (Kirby-Bauer) تعيين و نهايتاً در سويه‌هاي با مقاومت چندگانه آنتي‌بيوتيكي، MIC و MBC پني‌سيلين G ارزيابي گرديد.*

يافته ها: *تعداد ۱۸۰ ميكروارگانيسم از ۹۶ نمونه فلور پوست جداسازي گرديد كه از بين آن ها ۲۶ سويه باكتريايي واجد آنزيم β-لاكتاماز بودند. تمامي سويه‌هاي β-لاكتاماز مثبت از نوع كوكسي خوشه‌اي يا باسيل گرم مثبت شناسايي شدند كه به اكثر آنتي‌بيوتيك‌هاي مورد آزمايش مقاوم بودند.*

نتيجه گيري: *نتايج حاصل بيان‌كننده شيوع توانايي توليد β-لاكتاماز در بين فلور ميكروبي پوست افراد سالم جامعه به دنبال ورود بي‌رويه پني‌سيلين ها و سفالوسپورين ها به بازارهاي دارويي مي‌باشد. بنابراين پوست افراد سالم نيز مي‌تواند يكي از مهم ترين مخازن ميكروارگانيسم‌ها خصوصاً به عنوان عوامل عفونت‌هاي بيمارستاني در نظر گرفته شود.*

واژگان كليدي: *فلور ميكروبي پوست ، آنزيم β-لاكتاماز ، مقاومت آنتي‌بيوتيكي ، حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) ، حداقل غلظت كشنده باكتري (MBC)*

مقدمه

مسأله مقاومت آنتي‌بيوتيكي در سال‌هاي اخير به يك نگراني اصلي در مجموعه‌هاي پزشكي تبديل شده و با سرعتي تصاعدي رو به افزايش مي‌باشد. گزارش‌هاي حاصل از سطح جوامع نيز نشان مي‌دهند كه احتمال بروز چنين افزايشي در مقاومت آنتي‌بيوتيكي فلور نرمال افراد عادي (خارج از مؤسسه‌هاي مراقبت سلامتي) بسيار زياد است (۱).

از آن جايي كه پوست انسان حاوي جمعيت‌هاي ميكروبي متنوعي است به طوري كه در هر سانتي‌متر مربع آن معمولاً $۱۰^{۴}$-$۱۰^{۳}$ ارگانيسم وجود دارد كه البته اين مقدار تا $۱۰^{۶}$ در هر سانتي‌متر مربع نيز قابل افزايش مي‌باشد و به دليل نقش مهم اين فلور ميكروبي در حفظ سلامت و هم چنين در ايجاد بيماري (۲)، بررسي وجود سويه‌هاي مقاوم به آنتي‌بيوتيك‌ها

* ۱ . نويسنده مسؤول: كارشناس ارشد، بخش ميكروبيولوژی ، گروه زيست شناسي ، دانشكده علوم ، دانشگاه اصفهان . نمابر: ۶۲۵۴۳۵۵ - ۰۳۱۱ . پست الكترونيك : leila_ghaziasgar @ yahoo.com
۲ . استاد ، بخش ميكروبيولوژی ، گروه زيست شناسي ، دانشكده علوم ، دانشگاه اصفهان

در بين فلور ميكروبي پوست ضروري به نظر مي رسد. با وجود اين اطلاعات بسيار كمي در مورد شيوع مقاومت آنتي‌بيوتيكي در جامعه و نقش بالقوه فلور دست و پا به عنوان مخزن‌هايي براي چنين مقاومتي وجود دارد. هدف از اين تحقيق، بررسي تعداد و انواع فلور هوازي دست و پا كه واجد آنزيم β-لاكتاماز و مطالعه الگوي مقاومت آنتي‌بيوتيكي در آن ها و تعيين MIC و MBC پني‌سيلين G در سويه‌هاي داراي مقاومت چندگانه آنتي‌بيوتيكي بوده است.

مواد و روش ها

جهت نمونه‌برداري از پوست، سواپ استريل شده‌اي را كه در محيط تريپتيكاز سوي برآث (TSB) مرطوب شده، سه مرتبه در يك جهت و به طول مشخصي ($3\ cm^2$) روي موضع موردنظر (پشت يا كف دست و پا) كشيده و سپس اين سواپ در لوله آزمايش حاوي TSB استريل به مدت ۲۴ ساعت در c° ۳۷ اتوگذاري مي‌گردد. در ادامه به منظور خالص‌سازي باكتري‌ها، يك لوپ از لوله آزمايش مورد نظر به روش streak plate method روي محيط نوترينت آگار كشت و پس از ۲۴ ساعت انكوباسيون در c° ۳۷، باكتري‌ها بر اساس مشخصات ظاهري كلني جداسازي گرديدند (۳). سپس با استفاده از رنگ آميزي گرم، واكنش گرم و مورفولوژي باكتري هاي به دست آمده از هر نمونه مورد بررسي قرار گرفت. تعداد نمونه با ضريب اطمينان ۹۵%، شيوع ۵۰% و خطاى ۱۰% تعداد ۹۶ نمونه تعين شد. با توجه به اين كه در اين بررسي از هر فرد ۸ نمونه از قسمت هاي ذكر شده پوست گرفته شد. بنابراين از ۱۲ نفر نمونه‌برداري گرديد كه به منظور بررسي فلور ميكروبي در طيف وسيع‌تري از افراد، ٦ نفر مؤنث و ٦ نفر مذكر و در رده‌هاي سني ٦٠-١ سال و از هر دهه سني، يك نفر انتخاب گرديد.

براى بررسي وجود آنزيم β-لاكتاماز در ميكروارگانيسم‌هاي جداسازي شده از پوست به روش اسيدومتري، يك لوله مويينه به قطر $1\text{-}0/2\ mm$ را در معرف فنل رد ۰/۵% حل شده در پني‌سيلين G (۲۰ ميليون واحد) (كه با NaOH يك مولار pH آن به ۸/۵ رسيده است) فرو برده و صبر كرده تا محلول $2\text{-}1\ cm$ در لوله بالا رود. سپس سر لوله مويينه را روي كلني‌هاي ميكروارگانيسم مورد نظر در كشت ۲۴ ساعته روي محيط نوترينت آگار، كشيده تا آن جا كه ته لوله توسط آن بسته شود. درصورت توليد آنزيم β-لاكتاماز، رنگ محلول در عرض ۱۵-۵ دقيقه از بنفش به زرد يا قهوه‌اي تغيير مي‌يابد كه به دليل شكسته شدن پني‌سيلين G توسط آنزيم و توليد اسيد پني‌سيلوئيك و بنابراين اسيدي شدن محيط مي‌باشد (۴).

ميكروارگانيسم‌هاي توليد كننده آنزيم β-لاكتاماز با استفاده از تست‌هاي بيوشيميايي رايج در آزمايشگاه ميكروب‌شناسي جهت تشخيص خانواده، جنس و گونه، شناسايي گرديدند (۵).

به منظور تعيين الگوي مقاومت آنتي‌بيوتيكي باكتري ها با استفاده از تست آنتي‌بيوگرام به روش كربي بائر ابتدا با استفاده از محيط مولر هينتون آگار (Merck) و به روش انتشار ديسك (Kirby-Bauer) حساسيت باكتري هاي β-لاكتاماز مثبت جدا شده از فلور پوست نسبت به تعدادي از آنتي‌بيوتيك هاي مربوطه بررسي گرديد (۴). (ديسك هاي آنتي‌بيوتيك جهت تست آنتي‌بيوگرام از شركت پادتن طب تهيه گرديد).

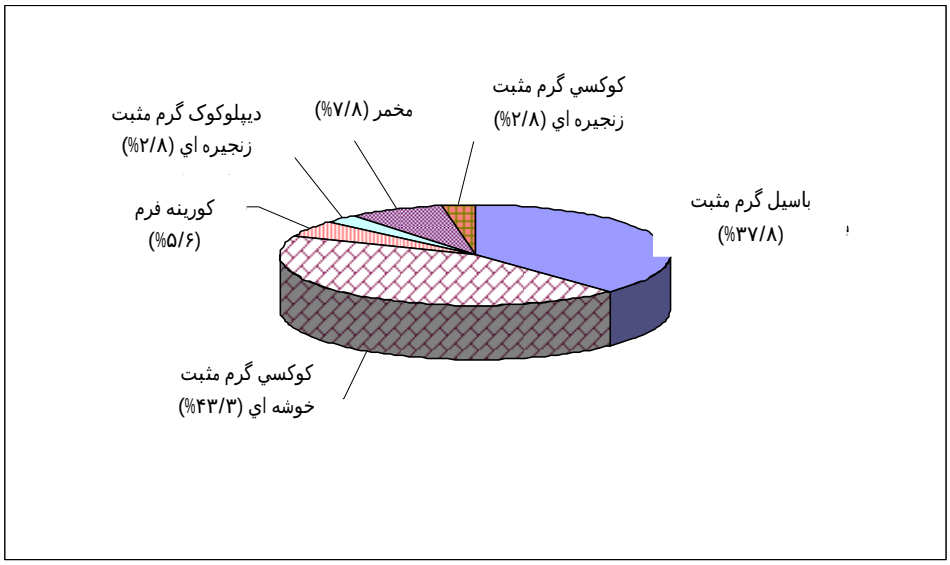
به منظور تعيين MIC پني‌سيلين G در باكتري هاي نشان‌دهنده مقاومت آنتي‌بيوتيكي چندگانه، ابتدا رقت هاي لازم از آن را تهيه كرده و حدود ۱۰۰ ميكروليتر به چاهك هاي ميكروپليت ۹۶ چاهكي-كه قبلاً ۱۰۰ ميكروليتر از محيط‌كشت TSB در آن ها ريخته شده- اضافه گرديد. بدين ترتيب كه در يك رديف ۱۲ تايي، در چاهك شماره ۲ ميزان ۱۰۰ ميكروليتر از كم ترين غلظت ماده آنتي‌باكتريال ريخته شد، سپس در چاهك شماره ۳، ۱۰۰ ميكروليتر از محلول آنتي‌باكتريال كه غلظت آن دو برابر چاهك شماره ۲

مي‌باشد، ريخته مي‌شود و اين روند تا چاهك شماره ۱۱ ادامه مي‌يابد. در مرحله بعد ۱۰۰ ميكروليتر از باكتري مورد نظر با رقت 5×10^5 CFU/ml به همه چاهك ها (به جز ستون شماره ۱۲) افزوده شد (ستون شماره ۱ كنترل مثبت و ستون شماره ۱۲ كنترل منفي مي‌باشند). پس از ۲۴ ساعت انكوباسيون در دماي c° ۳۷؛ جذب نوري چاهك ها در طول‌موج ۶۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه خواننده الايزا (مدل Statfax-2100 ساخت Awarness Technology INC امريكا) خوانده و رشد يا عدم رشد در آن ها بررسي گرديد. هر آزمايش دو بار تكرار شد (۶).

متعاقب تعيين MIC پني‌سيلين در ميكروپليت، جهت تعيين حداقل غلظت كشنده (MBC) آن بر روي باكتري ها، از چاهك هايي كه رشدي در آن ها مشاهده نشده بود و چاهك هاي كنترل مثبت و منفي روي محيط‌كشت MHA كشت داده شد، پس از ۷۲-۴۸ ساعت اتوگذاري در C° ۳۷، كم ترين رقت آنتي‌بيوتيك كه سبب از بين رفتن ۹۹/۹% باكتري ها شده است به عنوان MBC گزارش گرديد (۶).

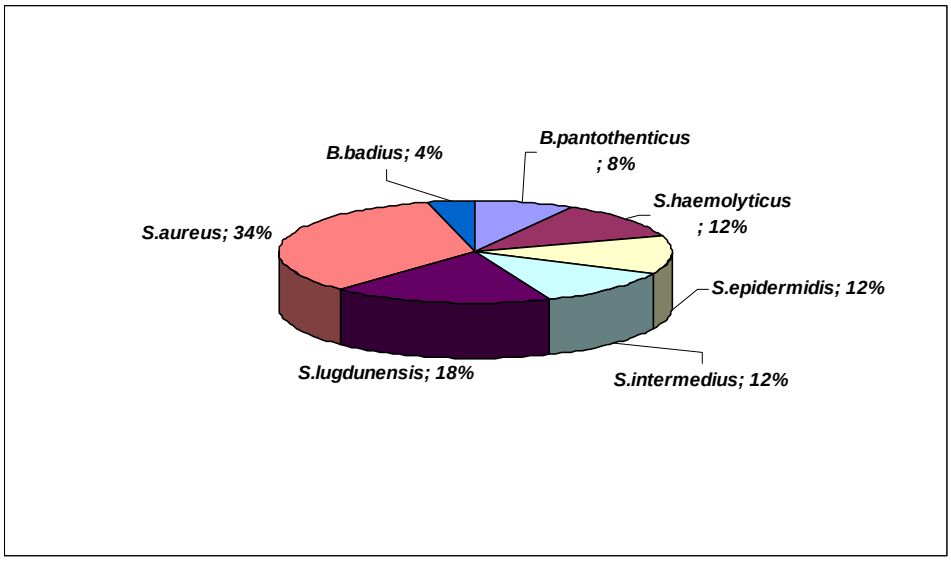
يافته ها

در اين مطالعه تعداد ۱۸۰ ميكروارگانيسم از ۹۶ نمونه شامل فلور پشت و كف دست و پا جداسازي گرديد كه ۷/۸% آن ها مخمر و ۹۲/۲% باكتري‌هاي گرم مثبت با مورفولوژي ديپلوكوك، استافيلوكوك، استرپتوكوك، كورينه‌فرم و باسيل تشخيص داده شدند. توزيع فراواني ميكروارگانيسم‌هاي جداسازي شده از فلور پوست در نمودار ۱ نشان داده شده است.



نمودار ۱- توزيع فراواني انواع باكتري هاي جدا شده از فلور پوست

بررسي توليد آنزيم β-لاكتاماز با استفاده از روش اسيدومتري در اين نمونه‌ها نشان داد كه ۲۶ نمونه (۱۴/۴%) β-لاكتاماز مثبت و ۱۵۴ نمونه (۸۵/۶%) β-لاكتاماز منفي بودند. در مرحله بعد ۲۶ نمونه واجد آنزيم β-لاكتاماز كه همگي آن ها از نوع كوكسي خوشه‌اي و باسيل گرم مثبت بودند توسط تست‌هاي بيوشيميايي لازم در حد گونه، شناسايي شدند. توزيع فراواني باكتري‌هاي شناسايي شده و تست‌هاي بيوشيميايي مورد نياز جهت شناسايي آن ها به ترتيب در نمودار ۲ و نيز در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است.



نمودار ۲- توزيع فراواني نسبي سويه‌هاي بتالاكتاماز مثبت رشد كرده در محيط كشت

جدول۱- تست هاي بيوشيميايي جهت شناسايي انواع گونه‌هاي استافيلوكوكوس

تست	گونه باكتري	*S. aureus*	*S. epidermidis*	*S. lugdunensis*	*S. intermedius*	*S. haemolyticus*
پيگمان		**+W**	-	**d**	-	**d**
رشد هوازي		+	+	+	(+)	+
رشدبي‌هوازي (تيوگليكولات)		+	+	+	+	(+)
اكسيداز		-	-	-	-	-
VP		+	+	+	-	**d**
L- آرابينوز		-	-	-	-	-
مالتوز		+	+	+	**(W)**	+
D- مانيتول		+	-	-	**(d)**	**d**
D-تره‌هالوز		+	-	+	+	+
α-لاكتوز		+	**d**	+	**d**	**d**
β-D-فروكتوز		+	+	+	+	**d**
احياء نيترات		+	**+W**	+	+	**d**
اوره‌آز		**+W**	+	**d**	+	-
كوآگولازپيوسته		+	-	+	**d**	-
كوآگولاز آزاد		+	-	-	+	-
همولیز		+	**-W**	**W**	**d**	(+)

جدول ۲- تست هاي بيوشيميايي جهت شناسايي گونه‌هاي *V. pantotheniticus* و *B. badius*

تست	گونه باكتري	*B. badius*	*V. pantotheniticus*
كاتالاز		+	+
حركت		+	+
رشد در ۱۰ % كلرورسديم		-	+
رشد در ۵۰^{cc}		+	+
سيترات		-	+
احياء نيترات		-	-
گلوكز		-	+
سوكروز		-	+
آدونيتول		+	-
آرابينوز		-	-

-: ۹۰% با بيشتر سويه‌ها منفي ؛ + : ۹۰% با بيشتر سويه‌ها مثبت ؛ ( ): واكنش تأخيري؛ W : واكنش ضعيف؛ W+: مثبت تا واكنش ضعيف؛ W-: منفي تا واكنش ضعيف؛ d: ۸۹%-۱۱ سويه‌ها مثبت.

الگوي مقاومت آنتي‌بيوتيكي سويه‌هاي β-لاكتامـاز مثبـت جدا شده از فلور نرمال پوست در مقابـل آنتـي‌بيوتيـك‌هـاي مربوطه نيز به روش انتشار ديسك انجام و نتايج در جدول ۳، آمده است (لازم به ذكر است سويه‌هاي يك گونـه باكتريـايي بر اساس حساسيت و مقاومت نسبت به آنتي‌بيوتيك ها از هم متمايز شده كه با شماره ۱،۲ ،۳ و ... مشخص شده‌اند).

جدول ۳- نتيجه تست آنتي‌بيوگرام به روش كربي-بائر بر روي باكتري هاي فلور پوست

سويه‌هاي‌جداشده		آنتي‌بيوتيك	Penicillin G	Ampicillin	Amoxycillin	Cloxacillin	Cephalothin	Cephalexin	Cefotaxime	Ceftazidime	Ceftriaxon	Ceftizoxim	Clindamycin	Tetracycline	Tobramycin	Amikacin	Gentamicin	Sulphamethoxazol	Vancomycin
		۱	R	R	-	R	S	I	I	R	I	S	R	R	S	S	R	S	R
		۲	R	R	R	R	S	S	I	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S
		۳	R	R	R	R	S	S	S	-	S	S	S	R	S	S	S	S	S
		٤	R	R	-	R	S	S	I	R	I	S	S	R	S	S	S	S	S
S.aureus		٥	R	R	-	R	S	S	S	R	S	S	S	-	S	S	S	S	S
		٦	R	R	R	R	S	S	I	-	I	S	S	S	S	S	S	S	S
		۷	R	R	-	R	S	S	I	-	I	S	S	S	S	S	S	S	S
		۸	R	R	R	R	S	I	S	-	S	I	S	S	S	S	S	S	S
		۹	R	R	R	R	S	S	S	-	I	S	S	R	S	S	S	-	S
		۱	R	R	R	R	S	S	S	-	S	S	S	S	-	S	S	S	S
		۲	-	R	-	-	-	S	-	R	S	S	-	-	-	S	S	S	S
S.lugdunensis		۳	-	R	-	-	S	S	I	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
		٤	R	R	-	S	S	S	I	R	I	S	S	S	S	S	R	S	S
		٥	R	R	-	R	-	-	S	R	S	S	S	R	-	S	S	S	S
		۱	R	R	R	-	S	I	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
S.intermedius		۲	R	R	-	R	S	I	R	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S
		۳	R	R	R	R	S	I	S	-	S	S	S	S	-	S	S	S	S
		۱	R	R	R	R	I	S	R	I	R	I	I	-	-	S	-	S	S
S.epidermidis		۲	R	R	-	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	-	S	S
		۳	R	R	-	R	S	S	I	R	I	S	S	R	-	S	S	S	S
		۱	R	R	-	R	I	I	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S
S.haemolyticus		۲	-	R	-	R	I	I	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S
		۳	-	R	-	R	S	I	R	R	R	R	I	S	S	S	S	S	S
		۱	-	R	-	-	-	-	-	R	-	-	S	S	S	S	I	S	S
V.pantotheniticus		۲	-	R	-	-	-	-	-	R	S	-	S	S	S	S	S	S	S
B.badius			R	R	I	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	I	R	R

از ميـان ۲۶ سـويه مـورد بررسـي، ۷ سـويه بـا مقاومـت آنتي‌بيوتيكي چندگانه قابـل‌توجـه انتخاب گرديده و MIC و MBC پنـي‌سيـلين G بـر روي آن هـا تعيـين گرديـد (جدول۴).

جدول ۴- نتايج MIC و MBC پني‌سيلينG بر روي باكتريهاي مورد آزمايش (دو تكرار)

نام باكتري / پني‌سيلين G (µr/ml)	*S.aureus (1)*	*S.lugdunensis (1)*	*S.intermedius (1)*	*S.epidermidis (1)*	*S.haemolyticus (1)*	*V.pantothenticus (1)*	*B.badius*	*S.aureus (ATCC 6538P)*	P value
MIC	۲۵۶	۸	۶۴	۱۲۸	۲۵۶	۲۰۴۸	۱۲۸	۰/۰۳	<۰/۰۴۶
MBC	۵۱۲	۱۶	۵۱۲	۵۱۲	۵۱۲	۲۰۴۸	۱۲۸	۰/۲۵	<۰/۰۸۳

بحث

بـرخلاف پيـشرفت‌هـاي علمـي قابـل‌توجـه در كنتـرل عفونـت‌هـاي بيمارسـتاني، هنـوز عفونـت‌هـاي ناشـي از باكتري‌هاي فرصت‌طلـب مـشكلات كلينيكـي فراوانـي را در مواردي از قبيل بخش هاي ICU، بيماران بستري بـه مـدت طـولاني، زخـم هـا و سـوختگي‌هـا ايجـاد مـي‌كننـد. ايـن ميكروارگانيسم‌هاي عفوني‌كننده ممكن اسـت از فلـور نرمـال بيمار (endogenous) كه از فراواني و تنوع بالايي برخوردار اسـت و يـا از طريـق ارتبـاط بـا بيمـاران ديگـر و پرسـنل بيمارستان (exogenous) كسب شـوند و توسـط جابجـايي وسـايل آلـوده از قبيـل ملحفـه‌هـا و لبـاس پرسـتاران منتشر گردند (۷). به همين دليل در تحقيق حاضر سعي شد تا شيوع اين باكتري‌هاي فرصت‌طلب و در عين‌حال مقاوم بـه آنتـي‌بيوتيـك‌هـا در سـطح جامعـه و در خـارج از مؤسـسات كلينيكي در بين افراد عادي مورد بررسي قرار گيرد.

بر اساس نتايج اين مطالعه بيش ترين ميكروب رشد كرده در محيط‌كشت كوكسي‌هاي گرم مثبت با آرايش خوشه‌اي با ۷۸ مورد (۴۳/۳%) و كم ترين آن ها ديپلوكوك گرم مثبت و كوكسي گرم مثبت زنجيـره‌اي، هركـدام بـا ۵ مـورد (۲/۸%) بوده‌اند. توزيع فراواني باكتري‌هاي رشد كرده در محيط‌كشت در نمودار۱ نشان داده شده است.

در مقايسه با اين نتايج، Paavilainen نيز در سال ۲۰۰۰ با نمونه‌گيـري از دسـت ۹۱ نمونـه شـامل پرسـتار، بيمـار و تكنسين آزمايشگاه، ۹۱۰ باكتري جداسازي كـرد كـه از ايـن تعـداد ۹۰۵ بـاكتري كوكـسي‌هـاي گـرم مثبـت بـا آرايـش خوشـه‌اي و ۵ بـاكتري بـه عنـوان باسـيل‌هـاي گـرم مثبـت شناسايي شدند (۸). عدم جداسازي باكتري هاي گرم منفـي در هر دو تحقيق قابل‌توجه مي‌باشد كه ايـن مـسأله احتمـالاً با توجه به محل نمونه‌گيري (دسـت و پـا)، بـه عـدم توانـايي باكتري هاي گرم منفي در رشد و تكثير روي نـواحي خـشك پوست مربوط مي‌باشد.

اما از سوي ديگر بر اسـاس آزمايـشات Larson در ۲۰۰۳ كه از دست ۲۲۴ نفر از افراد عادي جامعه نمونه برداري كرد، ۱۳۲۵ بـاكتري جداسـازي شـد كـه از ايـن تعـداد ۳۹/۲% استافيلوكوك هـا بـا اكثريـت انـواع كواگـولاز منفـي، ۴۶/۹% باكتري هاي گرم منفي و ۱۳/۸% مخمر بودند (۱). هم چنين نتايج بررسي Larson در سال ۱۹۸۶ از فلور ميكروبي پـا در ۳۰ نفر از افـراد عـادي كـه از بـين كارمنـدان و دانـشجويان انتخاب شدند به اين صورت گزارش شد: از بـين ۴۲۸ ايزولـه باكتريايي؛ ۳۸/۴% استافيلوكوك هاي كواگولاز منفي، ۱۳/۳%

استافيلوكوكوس اورئوس، ۲۳/۶% كورينه‌فورم ها، ۷۲/۲% ديفتروئيدها، ۰/۰۰۱% باسيل هاي گرم منفي و ۰/۰۰۱% مخمر شناسايي گرديد (۹)، كه علت تفاوت در تعداد و نوع باكتري هاي جدا شده در اين بررسي‌ها با تحقيق حاضر را مي‌توان به تفاوت در مكان آزمايش، افراد مورد نمونه‌برداري، محل نمونه‌برداري، نحوه نمونه‌گيري و از همه مهم تر عادات و آداب زندگي مربوط دانست.

اما از ميان ۱۸۰ نمونه جداسازي شده از فلور پوست، ۲۶ نمونه β-لاكتاماز مثبت گزارش شدند. و در بين آن ها گونه *S.aureus* با ۹ نمونه و *B.badius* با يك مورد به‌ترتيب بيش ترين و كم ترين ميزان رشد را داشتند (نمودار ۲). لازم به ذكر است كه وضعيت توليد بتالاكتاماز توسط باكتري‌هاي رشد كرده، برحسب محل نمونه‌گيري نيز بررسي گرديد كه تفاوت آماري معني‌داري بين اين دو به دست نيامد (P=۰/۱۴).

در مقايسه با اين نتايج، Fass در ۱۹۸۶ درصد سويه‌هاي بتالاكتاماز مثبت را در بين نمونه‌هاي كلينيكي آزمايشگاه هاي ميكروبشناسي بيمارستان هاي شهر اوهايو چنين گزارش كرد: ۴۶% از سويه‌هاي *S.aureus*، ۹۳% از سويه‌هاي *S.epidermidis* و ۷۱% از سويه‌هاي *S.haemolyticus* با روش اسيدومتري، توليدكننده بتالاكتاماز تشخيص داده شدند (۱۰). هم چنين Marquet و Vandenesch نيز طي بررسي‌هاي جداگانه‌اي حدود ۲۵% از سويه‌هاي *S.lugdunensis* جدا شده از فلور پوست را بتالاكتاماز مثبت معرفي كردند (۱۱و۱۲). اين نتايج بيان‌كننده شيوع توانايي توليد بتالاكتاماز در بين استافيلوكوك هاي كواگولاز مثبت و منفي به دست آمده از فلور نرمال يا نمونه‌هاي كلينيكي به دنبال ورود بي‌رويه پني‌سيلين‌ها و سفالوسپورين‌ها به بازار دارو خصوصا در دهه ۱۹۸۰ مي‌باشد.

بررسي الگوي مقاومت آنتي‌بيوتيكي باكتري‌هاي واجد β-لاكتاماز وجود مقاومت چندگانه آنتي‌بيوتيكي را در اكثر اين سويه‌ها تأييد مي‌نمايدكه با نتايج ارايه شده توسط Shopova (۱۳)، Fass (۱۰)، Marquet (۱۱) و Dubouix (۱۴) هم خواني دارد.

MIC و MBC پني‌سيلين G بر روي سويه‌هاي شاخص داراي مقاومت آنتي‌بيوتيكي چندگانه نيز ارقام قبل‌توجهي را نشان مي‌دهند. به‌طوري كه رشد *S.aureus (1)* با حداقل غلظت ۲۵۶ µg/ml از پني‌سيلين G مهار مي‌گردد و حتي در *V.pantothenticus (1)* اين رقم به ۲۰۴۸ µg/ml مي‌رسد؛ كه در مقايسه با MIC پني‌سيلينG بر روي سويه استاندارد *S.aureus (ATCC 6538p)* (كه از كلكسيون ميكروبي مركز پژوهش‌هاي ايران تهيه گرديد) كاملاً معني‌دار مي‌باشد (P<۰/۰۰۱). هم چنين حداقل غلظت مهاركنندگي پني‌سيلين G بر اساس سويه مورد آزمون نيز متفاوت مي‌باشد (P<۰/۰۴۶).

در مقايسه با يافته‌هاي اين مطالعه، Goldstein (۲۰۰۰)، MIC پني‌سيلينG را روي استافيلوكوك هاي كواگولاز منفي جدا شده از عفونت هاي زخم ناشي از گازگرفتگي در محدوده µgr/ml ۲-۰/۰۱۵> و براي سويه‌هاي *S.aureus* در طيف µgr/ml ۸-۰/۰۱۵≤ گزارش مي‌كند (۱۵). اما Doern در ۱۹۹۹ با جداسازي باكتري هاي عامل عفونت هاي پوست و بافت نرم، محدوده MIC پني‌سيلين G را براي *S.aureus* به ميزان µgr/ml ۳۲<۰/۰۱۵ ≤ گزارش مي‌كند (۱۶) كه با نتايج بررسي حاضر مشابه مي‌باشد. نتايج حاصل از اين تحقيق در مورد MIC و MBC پني‌سيلين G كه به عنوان اولين انتخاب آنتي‌بيوتيكي در درمان عفونت‌هاي ناشي از باكتري‌هاي ذكر شده تجويز مي گردد، بيان گر افزايش قابل‌توجه مقاومت باكتري هاي فلور پوست نسبت به اين آنتي‌بيوتيك مي‌باشد كه احتمالاً به علت تجويز و مصرف نادرست و بي‌رويه آن ايجاد شده است.

بنابراين به نظر مي‌رسد كه وجود اين باكتري‌هاي β-لاكتاماز مثبت علي‌رغم اثرات حفاظتي فلور پوست، نه تنها با انتقال افقي ژن هاي مقاوم به باكتري‌هاي پاتوژن

سبب مقاومت آن ها به آنتي‌بيوتيك‌هاي گروه β-لاكتام مي‌گردند؛ مي‌توانند خطر ابتلا به انواع عفونت‌ها خصوصاً عفونت‌هاي پوستي بيمارستاني را به ويژه در افرادي كه به دلايل مختلف دچار ضعف سيستم ايمني هستند، افزايش دهند؛ علاوه بر اين كه با افزايش عوارض بيمارستاني در ميان بيماران بستري شده، واردكردن هزينه‌هاي اضافي بر بيمار و بهداشت عمومي، از عوامل عمده مرگ و مير محسوب مي‌شوند.

REFERENCES

1. Larson EL, Gomez-Duarte C, Lee LV, Della-Latta P, Kain DJ, Keswick BH. Microbial flora of hands of homemakers. Am J Infect Control 2003; 31: 72-9.
2. Madigan MT, Martinko JM. Brock biology of microorganisms. 11th ed. New Jersey: Pearson - Prentice Hall. 2006; P: 703.
3. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH. Manual of clinical microbiology. 7th ed. Washington D.C: ASM Press. 1999; P: 475-8.
4. Lorian V. Antibiotic in laboratory medicine. Philadelphia: Williams & Wilkins. 2005; P: 486.
5. Holt JG, Kerieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins. 1994; P: 527-51.
6. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey and Scotts Diagnostic Microbiology. 11th ed. Missouri: Mosby Inc. 2002; P: 230-40.
7. Takai K, Ohtsuka T, Senda Y, Nakao M, Yamamoto K, Matsuoka J, et al. Antibacterial properties of antimicrobial-finished textile products. Microbiol Immunol 2002; 46: 75-81.
8. Paavilainen T, Osterblad M, Leistevuo T, Huovinen P, Kotilainen P. Screening for antimicrobial resistance in normal bacterial flora. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000; 19: 956-9.
9. Larson EL, McGinley KJ, Foglia AR, Talbot GH, Leyden JJ. Composition and antimicrobic resistance of skin flora in hospitalized and healthy adults. J Clin Microbiol 1986; 23: 604-8.
10. Fass RJ, Helsel VL, Banishan J, Ayers LW. In vitro susceptibilities of four species of coagulase negative Staphylococci; Antimicrob Agent Chemother 1986; 30: 545-52.
11. Marquet NM, Achard A, Mereghetti L, Danton A, Minier M, Quentin R. *Staphylococcus lugdunensis* infections: high frequency of inguinal area carriage. J Clin Microbiol 2003; 41: 1404-9.
12. Vandenesch FSJ, Eykyn JE, Lemozy J. Skin and post-surgical wound infections due to *Staphylococcus lugdunensis*. Clin Microbiol Infect 1995; 1: 73-4.
13. Shopova E, Zhekova N. The sensitivity to the preparation Cefotaxime of bacteria isolated from newborn infants. Akusherstvoi Ginekologiia 1995; 34: 33-5.
14. Dubouix A, Bonnet E, Alvarez M, Bensafi H, Archambaud M, Chaminade B, et al. *Bacillus cereus* infections in Traumatology-Orthopaedics Department: retrospective investigation and improvement of healthcare practices. J Infect 2005; 50: 22-30.
15. Goldstein EJC, Citron DM, Merriam CV, Warren Y, Tyrrell K. Comparative in vitro activities of GAR-936 against aerobic and an aerobic animal and human bite wound pathogens. Antimicrob Agent Chemother 2000; 44: 2747-51.

16. Doern CV, Jones RN, Pfaller MA, Kugler KC, Beach ML. and The SENTRY Study Group (North America). Bacterial pathogen isolated from patients with skin and soft tissue infections: Frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns from the SENTRY antimicrobial surveillance program (United State and Canada, 1997). Diagn Microbiol Infect Dis 1999; 34: 65-72.