



تایپینگ کاست کروموزومی SCCmec سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از سواب بینی کارکنان بیمارستان‌های لارستان

مهدی عبادی^{۱*}، طاهره خلیلی آزاد^۲

^۱ استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لارستان، گروه میکروب شناسی، ^۲ کارشناس ارشد، دانشکده پزشکی لارستان، گروه آزمایشگاه.

چکیده

سابقه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین یکی از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های فرصت طلب بیمارستانی و جامعه به شمار می‌رود. امروزه افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها موجب نگرانی جامعه پزشکی شده است. در این میان مقاومت به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین به دلیل محدود کردن درمان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مطالعه حاضر با هدف ردیابی ژن مقاومت به متی‌سیلین و بررسی ژنوتیپی کاست کروموزومی SCCmec در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بینی کارکنان و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی این باکتری انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی-توصیفی ۲۳۰ نمونه سواب بینی از کارکنان بیمارستان‌های لارستان در سال ۱۳۹۴ جمع‌آوری گردید. شناسایی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس با روش‌های استاندارد آزمایشگاهی انجام شد. در تمامی جدایه‌ها، سنجش الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش انتشار دیسک، حداقل غلظت بازدارندگی با روش E-test و حساسیت به متی‌سیلین با روش آگار اسکرین انجام شد. همچنین حضور ژن مقاومت آنتی‌بیوتیک *mecA* و تایپینگ SCCmec با روش multiplex PCR مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: از مجموع نمونه‌های مورد بررسی ۳۷ مورد (۱۴/۸٪) آلوده به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بودند. از بین جدایه‌ها، ۲۸ سویه (۷۵/۷٪) دارای ژن مقاومت به متی‌سیلین بودند. از این بین ۲۱ سویه (۷۵٪) اکتساب از جامعه و ۷ سویه (۲۵٪) اکتساب از بیمارستان داشتند. همچنین نتایج تایپینگ سویه‌های SCC نشان داد که تایپ I با فراوانی ۳۲/۱ درصد و به دنبال آن تایپ IV (۲۸/۶٪)، تایپ II (۱۷/۹٪)، تایپ V (۱۴/۳٪) و تایپ III (۷/۱٪) به ترتیب فراوان‌ترین جدایه‌ها بودند. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰۰٪) و اگزاسیلین (۶۰٪) و کمترین میزان مربوط به ونکومايسين (۰٪) بود. با تعیین حداقل غلظت بازدارندگی ونکومايسين، میزان مقاومت حد واسط به ونکومايسين ۲۸/۵٪ شناسایی گردید. همچنین با آزمون آگار اسکرین، مقاومت به اگزاسیلین ۹۲/۸ درصد تشخیص داده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که میزان شیوع باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین بیش از ۷۰ درصد است و بیشتر این جدایه‌ها کسب شده از جامعه بودند. این امر می‌تواند هشدار جدی در مورد ضرورت درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری و کنترل افراد ناقل در محیط بیمارستان را مطرح نماید.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، کاست کروموزومی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی.

پذیرش برای چاپ: شهریور ماه ۹۶

دریافت مقاله: مرداد ماه ۹۶

مقدمه

مثبت می‌باشد و اغلب بر روی پوست غشاهای مخاطی حضور دارد. حفرات بینی شایع‌ترین محل استقرار استافیلوکوکوس اورئوس در انسان است. به طوری که در حدود ۲۰ درصد افراد سالم ناقل دائمی و ۶۰ درصد ناقل متناوب هستند (۱). این

استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) از باکتری‌های کوکسی شکل غیر متحرک، بدون اسپور و گرم

* آدرس برای مکاتبه: لارستان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لارستان، گروه میکروب شناسی.

این کاست‌ها حاوی ژن *mec* می‌باشند. آن‌ها اغلب به کلاس آنتی‌بیوتیک‌های غیر بتالاکتام مقاوم هستند و به ندرت ژن پنتون والتین را حمل می‌کنند (۵).

سویه‌های CA-MRSA اغلب مرتبط با عفونت پوست، بافت نرم، جوش و در مواردی با سندروم‌های شدید بالینی مانند پنومونی نکروزان و سپسیس وخیم ارتباط دارند. بیشتر جدایه‌های CA-MRSA تا به امروز به داروهایمانند تری متوپریم سولفامتوکسازول، جتتامایسین، تتراساکلین و کلیندومایسین حساس باقی‌مانده‌اند. اگرچه بعضی از جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به اریترومایسین و حساس به کلیندومایسین، پس از درمان با اریترومایسین به کلیندومایسین مقاوم می‌شوند (۶).

سویه‌های CA-MRSA کاست کروموزومی کوچک‌تر از HA-MRSA را حمل می‌کنند که شامل SCCmecIV و SCCmecV می‌باشد. این سویه‌ها مقاومت کمتری به کلاس‌های غیر بتالاکتامی دارند و اغلب ژن پنتون والتین را حمل می‌کنند (۷). از نظر درمانی، آنتی‌بیوتیک ونکومایسین به عنوان آخرین داروی انتخابی است که به فراوانی در محیط بیمارستان استفاده می‌شود. امروزه بزرگ‌ترین چالش و نگرانی در بیمارستان‌ها ایجاد عفونت بیمارستانی توسط باکتری‌های فرصت‌طلب MRSA است که به هر دو آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین و ونکومایسین مقاوم شده‌اند (۸). در سال ۱۹۶۱ اولین سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در اروپا شناسایی شد. از آن زمان تا کنون و به ویژه در دو دهه‌ی گذشته شیوع این سویه در بسیاری از نقاط جهان افزایش یافته است. به عنوان نمونه در تحقیقی که در سال ۲۰۰۱ در کانادا صورت گرفت از ۳۰۹ نمونه بالینی ۲۱۳ مورد سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (۶۸/۹ درصد) تشخیص داده شدند. بررسی‌های انجام شده در ایران نیز نتایج مشابهی را نشان می‌دهد (۹).

با توجه به اینکه در شهرستان لارستان گزارش دقیقی از فراوانی آلودگی با استافیلوکوکوس اورئوس در بیمارستان‌های منطقه وجود نداشت، این مطالعه با هدف ردیابی ژن مقاومت به متی‌سیلین و بررسی ژنوتیپ کاست کروموزومی و تعیین الگوی

باکتری یکی از عوامل عفونت‌های بیمارستانی و اکتسابی از جامعه است که از عفونت‌های نسبتاً خفیف پوست تا عفونت‌های سیستمیک تهدید کننده انسانی را ایجاد می‌کند.

شیوع بالای استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در نمونه‌های بالینی و مقاومت روزافزون در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مختلف به صورت یک نگرانی سلامت عمومی و یکی از چالش‌های موجود در برابر پزشکان باقی‌مانده است (۲).

سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین دارای ژن *mecA* می‌باشند. این ژن پروتئینی به نام PBP2 (پروتئین متصل شونده به پنی‌سیلین) را کد می‌کند که میل ترکیبی آن در اتصال به متی‌سیلین کمتر از سایر پروتئین‌های متصل شونده به متی‌سیلین در دیواری باکتری می‌باشد. این ژن بر روی کاست کروموزومی استافیلوکوکوسی SCC قرار گرفته است. در میان گونه‌های مختلف استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) از نظر اندازه و ترکیب ژنتیکی متفاوت می‌باشند (۱).

در حال حاضر ۵ تیپ اصلی SCCmec (تیپ I تا V) شناسایی شده است؛ که دارای اندازه‌های متفاوت بین ۹/۲۰ تا ۹/۶۶ کیلو باز می‌باشد. تیپ I و IV و V عمدتاً نسبت به متی‌سیلین و سایر بتالاکتام مقاوم می‌باشند. در حالی که تیپ‌های II و III غالباً باعث ایجاد مقاومت چندگانه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی و غیر بتالاکتامی می‌گردد. برخلاف پلاسמידهای کد کننده مقاومت به پنی‌سیلین که فقط حامل ژن مقاومت می‌باشند SCCmec طیف گسترده‌ای از مقاومت به بتالاکتام‌ها را دارند و اغلب نیز درمانی برای آن‌ها وجود ندارند (۳ و ۴).

اغلب سویه‌های MRSA، اکتسابی از بیمارستان (HA-MRSA) هستند. ولی بعضی از آن‌ها نیز سویه‌های اکتسابی از جامعه (CA-MRSA) می‌باشند. سویه‌های CA-MRSA به لحاظ فنوتیپی و ژنوتیپی از HA-MRSA متفاوت هستند. سویه‌های HA-MRSA نسبت به CA-MRSA طیف وسیع‌تری از بیماری‌ها را ایجاد کرده و مقاومت آنتی‌بیوتیکی وسیع‌تری دارد و همچنین سبب پنومونی، باکتری، عفونت‌های داخل عروقی و عفونت محل جراحی می‌شوند. همچنین کاست کروموزومی بزرگ SCCmecI، SCCmecII و SCCmecIII را حمل می‌کنند

ج) تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (*MIC*) به روش *E-test*: برای این منظور غلظت نیم مک فارلند تهیه و با استفاده از سواب پنبه‌ای کشت به روش استاندارد بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار (مرک، آلمان) انجام شد و در نهایت پس از قرار دادن نوار *E-test* و نکومایسین (Bio Disk Biomeriux) به مدت ۲۴ ساعت در 35°C گرمخانه گذاری شد. نتایج به دست آمده مطابق دستورالعمل CLSI گزارش گردید (۱۱).

د) تعیین حساسیت نسبت به متی‌سیلین به روش آگار اسکرین: برای اطمینان از حساسیت سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین تعیین حساسیت به روش آگار اسکرین انجام شد. در این روش از کشت تازه ۲۴ ساعته استفاده گردید. محیط مورد استفاده در این روش دارای ۴ درصد NaCl و همچنین $8\ \mu\text{g/ml}$ پودر آگراسیلین بود. مطابق معیار موسسه استانداردهای آزمایشگاه و بالین (CLSI)، مقادیر بیشتر از ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر به عنوان مقاومت به متی‌سیلین در نظر گرفته می‌شود. پس از تهیه پودر آگراسیلین (سیگما، استرالیا) این آنتی‌بیوتیک بر طبق فرمول زیر به میزان مشخص به محیط مولر هیتون آگار اضافه گردید (۱۲).

$$\text{وزن (mg)} = \frac{\text{حجم (ml)} \times \text{غلظت } (\mu\text{g/ml})}{\text{قدرت دارو } (\mu\text{g/mg})}$$

ه) سنجش ژنوتیپی سویه‌ها: در ابتدا DNA سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* توسط کیت استخراج DNA (سیناژن، ایران) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استخراج گردید. به منظور ردیابی ژن *mecA* و بررسی ژنوتیپی کاست کروموزومی *SCCmec* از پرایمرهای اختصاصی (سیناژن، ایران) و روش multiplex-PCR استفاده گردید (جدول ۱). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۳ میکرولیتر بافر 10X، ۱ میکرولیتر dNTPs، ۱ میکرولیتر کلرید منیزیم، ۵ میکرولیتر آنزیم Taq پلی‌مراز، ۵ میکرولیتر DNA الگو، ۸ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر انجام گرفت. در ادامه واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf, Germany) برای تشخیص ژن

حساسیت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از سواب بینی کارکنان انجام شده است.

مواد و روش‌ها

الف) نمونه‌برداری و شناسایی اولیه: در این مطالعه مقطعی توصیفی تعداد ۲۳۰ نمونه سواب بینی کارکنان از بخش‌های مختلف سه بیمارستان منطقه لارستان شامل امام رضا شهر لار، عبدالحمید امیدوار شهر اوز و بیرم در فاصله زمانی دی ماه ۱۳۹۳ تا آذرماه ۱۳۹۴ جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها بر روی محیط‌های برین هارت اینفیوژن براث BHIB و آگار خوندار و مانیتول سالت آگار (مرک، آلمان) کشت و در دمای 37°C به مدت ۲۴-۴۸ ساعت گرماگذاری شدند. به منظور تشخیص افتراقی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* از آزمون‌های تشخیصی رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، کوآگولاز، تخمیر قند مانیتول، DNase استفاده گردید. نمونه‌های مورد تأیید در محیط اسکیم میلک حاوی ۲۰ درصد گلیسرول کشت و در دمای 20°C تا انجام آزمایشات بعدی نگهداری شدند (۱۰).

ب) آزمون حساسیت سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک: در این مطالعه حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* با روش انتشار دیسک (Kirby-Bauer) طبق توصیه مؤسسه استاندارد آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) نسبت به ۸ آنتی‌بیوتیک شامل تری متوپوریم-سولفامتوکسازول (۲۵ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، سفکسیم (۵ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، آگراسیلین (۱ میکروگرم)، کلیندامایسین (۱۵ میکروگرم)، و نکومایسین (۳۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، شرکت پادتن طب، ایران) مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۱). نتایج پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای 37°C به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش گردید. مقاومت سویه‌های مورد نظر نسبت به آگراسیلین نشان دهنده مقاومت به متی‌سیلین، پنی‌سیلین، سفالوسپورین می‌باشد. سپس سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین در محیط شیب دار BHI (مرک، آلمان) حاوی ۱۸٪ گلیسرین در دمای 20°C نگهداری شدند.

جدول ۱: ژن‌های مورد ارزیابی، توالی پرایمر، غلظت، اندازه محصولات PCR در این مطالعه (۱۲).

نام ژن	توالی پرایمر (5'-3')	غلظت (مولار)	اندازه قطعه (جفت باز)
SCCmec I	GCTTTAAAGAGTGTTCGTTACAGG GTTCTCTCATAGTATGACGTCC	۰/۰۴۸	۶۱۳
SCCmec II	CGTTGAAGATGATGAAGCG CGAAATCAATGGTTAATGGACC	۰/۰۳۲	۳۹۸
SCCmec III	CCATATTGTGTACGATGCG CCTTAGTTGTCTGTAACAGATCG	۰/۰۰۴	۲۸۰
SCCmec IVa	GCCTTATTCGAAGAAACCG CTACTCTTCTGAAAAGCGTGC	۰/۱۰۴	۷۷۶
SCCmec IVb	TCTGGAATTACTTCAGCTGC AAACAATATTGCTCTCCCTC	۰/۰۹۲	۴۹۳
SCCmec IVc	ACAATATTGTATTATCGGAGAGC TTGGTATGAGGTATTGCTGG	۰/۰۷۸	۲۰۰
SCCmec IVd	CTCAAATACGGACCCAAATACA TGCTCCAGTAATTGCTAAAG	۰/۰۲۸	۸۸۱
SCCmec V	GAACATTGTTACTTAAATGAGCG TGAAGTTGTACCCTTGACACC	۰/۰۰۶	۳۲۵
mecA	GTG AAG ATA TAC CAA GTG ATT ATG CGC TAT AGA TTG AAA GGA T	۰/۰۴۶	۱۴۷

یافته‌ها

(الف) جامعه آماری: در این مطالعه از مجموع ۲۳۰ نمونه مورد بررسی ۳۷ نمونه (۱۴/۸٪) آلوده به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بودند. از تعداد ۲۳۰ کارکنان مورد بررسی تعداد ۱۸۶ نفر زن (۸۰/۹٪) و تعداد ۴۴ نفر مرد (۱۹/۱٪) بودند. از بین ۱۸۶ زن تعداد ۱۹ نفر (۱۰/۱٪) و از ۴۴ مرد تعداد ۹ نفر (۲۰/۴۵٪) مبتلا به عفونت ناشی از MRSA بودند. در بین دو گروه مذکر و مونث اختلاف معناداری در میزان شیوع ناشی از MRSA وجود نداشت (p= ۰/۴۶۷). میانگین سنی افراد مورد مطالعه ۴۰ سال و از ۲۳ سال تا حداکثر ۵۸ سال متغیر بود. آنالیز داده‌ها نشان داد که بیشترین سویه MRSA در گروه سنی ۳۰-۲۳ سال قرار دارد. در این گروه ۱۳ نفر (۳۴/۲۱٪) دارای MRSA بودند و کمترین میزان شیوع MRSA در گروه سنی ۶۰-۵۱ دیده شد که ۲ نفر (۵/۲۶٪) بود. از نظر سابقه مصرفی آخرین آنتی‌بیوتیک در بین افراد مبتلا به عفونت MRSA بیشترین آنتی‌بیوتیک مصرف شده پنی‌سیلین با تعداد ۴ نفر (۳۳/۳۳٪) و کمترین مترونیدازول، ماکرولید و فلوروکینولون با تعداد صفر (۰٪) بود. از نظر داشتن سابقه عفونت بین افراد مبتلا به عفونت MRSA، تعداد ۱۱ نفر (۲۸/۹۵٪) دارای سابقه عفونت و تعداد ۱۷ نفر (۴۴/۷۴٪) فاقد عفونت بودند. همچنین بیشترین میزان جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین مربوط به بخش‌های اتاق عمل (۲۲/۶٪) و جراحی (۱۸/۷٪) بود.

mecA با شرایط دمایی ۵ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۴ °C و در ادامه ۳۰ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴ °C به مدت ۶۰ ثانیه، اتصال در دمای ۵۰ °C به مدت ۶۰ ثانیه، طولی شدن در دمای ۷۲ °C به مدت ۱/۵ دقیقه و در نهایت طولی شدن نهایی در دمای ۷۲ °C به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد (۱۳). همچنین برای تکثیر همزمان ژن کاست کروموزومی I، II، III، IVa، IVb، IVc، IVd و V با شرایط دمایی ۵ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۵ °C و در ادامه ۱۰ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۵ °C به مدت ۱ دقیقه، اتصال در دمای ۶۰-۵۸ °C به مدت ۱ دقیقه، طولی شدن در دمای ۷۲ °C به مدت ۱ دقیقه و در نهایت طولی شدن نهایی در دمای ۷۲ °C به مدت ۱ دقیقه استفاده شد (۱۳). محصول نهایی PCR در ژل آگارز ۱/۴ درصد مورد الکتروفورز قرار گرفت و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید با استفاده از اشعه UV طول قطعات و میزان تشکیل باندها در مقایسه با مارکر ۱۰۰ bp مورد بررسی قرار گرفت. همچنین از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین سویه ATCC33591 به عنوان کنترل مثبت مقاوم به متی‌سیلین حاوی ژن mecA و از استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین سویه ATCC35923 به عنوان کنترل منفی استفاده شد. (و) آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نسخه هجدهم نرم افزار SPSS و آزمون آماری مربع کای انجام گرفت. مرز معنی‌داری روی (P<۰۰۵) قرار داده شد.

(ب) آزمون حساسیت سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک: ارزیابی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که سویه‌های جداسازی شده به ترتیب بیشترین مقاومت را نسبت به پنی‌سیلین (۱۰۰٪)، اگزاسیلین (۶۰/۵۲٪)، کلرامفنیکل (۳۰/۴۰٪)، اریترومايسين (۱۵/۷۸٪)، کلیندامایسین (۱۰/۵۲٪)، سفکسیم (۲/۲۶٪) و کمترین مقاومت را نسبت به ونکومايسين (۰٪) تری متوپوریم (۱٪) داشتند (جدول ۲). یافته‌های آماری مقایسه میزان مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها با روش انتشار دیسک نشان داد که در مقاومت به پنی‌سیلین تفاوت آماری معنی‌داری وجود دارد (جدول ۲).

(ج) تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) به روش *E-test*: آنالیز داده‌ها نشان داد که ۲۰ سویه (۷۱/۴۲٪) حساس به ونکومايسين (MIC ≤ 2 mg/ml) بودند و ۸ سویه (۲۸/۵۷٪) مقاومت حد واسط نسبت به ونکومايسين (MIC ≤ 4-8 mg/ml) داشتند. اما در روش انتشار دیسک حساسیت ۱۰۰٪ نسبت به ونکومايسين مشاهده گردید.

(د) تعیین حساسیت نسبت به متی‌سیلین به روش آگار اسکرین: آنالیز داده‌ها نشان داد که ۲ سویه (۷/۲٪) حساس و ۲۶ سویه (۹۲/۸٪) مقاومت به متی‌سیلین بودند. بنابراین روش آگار اسکرین دارای حساسیتی در حدود ۹۲/۸ بود.

(ه) سنجش ژنوتیپی سویه‌ها: آنالیز داده‌های نتایج حاصل از PCR نشان داد که از ۳۷ سویه جداسازی شده، ۲۸ سویه (۷۵/۷٪) دارای ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*) بودند. همچنین نتایج تایپ بندی سویه‌های SCC نشان داد که ۹ سویه به تایپ I (۳۲/۱٪)، ۵ سویه به تایپ II (۱۷/۹٪)، ۲ سویه به تایپ III (۷/۱٪)، ۸ سویه به تایپ IV (۲۸/۶٪) و ۴ سویه به تایپ V (۱۴/۳٪) تعلق دارند (شکل ۱). از میان ۲۸ سویه، ۲۱ سویه (۷۵٪) مربوط به تایپ‌های I، IV و V (عمدتاً اکتساب شده از جامعه) بودند و به بتالاکتام‌هایی مانند پنی‌سیلین و اگزاسیلین مقاومت داشتند. همچنین ۷ سویه (۲۵٪) مربوط به تایپ‌های II و III غالباً اکتساب از بیمارستان بودند و دارای مقاومت چندگانه به بتالاکتام‌ها (اگزاسیلین، پنی‌سیلین) و سایر آنتی‌بیوتیک‌ها (اریترومايسين، کلرامفنیکل و کلیندامایسین) بودند. همچنین بررسی فراوانی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از کارکنان بر حسب بیمارستان‌های مختلف نشان داد که بیشترین عفونت با استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم

(ج) تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) به روش *E-test*: آنالیز داده‌ها نشان داد که ۲۰ سویه (۷۱/۴۲٪) حساس به ونکومايسين (MIC ≤ 2 mg/ml) بودند و ۸ سویه (۲۸/۵۷٪) مقاومت حد واسط نسبت به ونکومايسين (MIC ≤ 4-8 mg/ml) داشتند. اما در روش انتشار دیسک حساسیت ۱۰۰٪ نسبت به ونکومايسين مشاهده گردید.

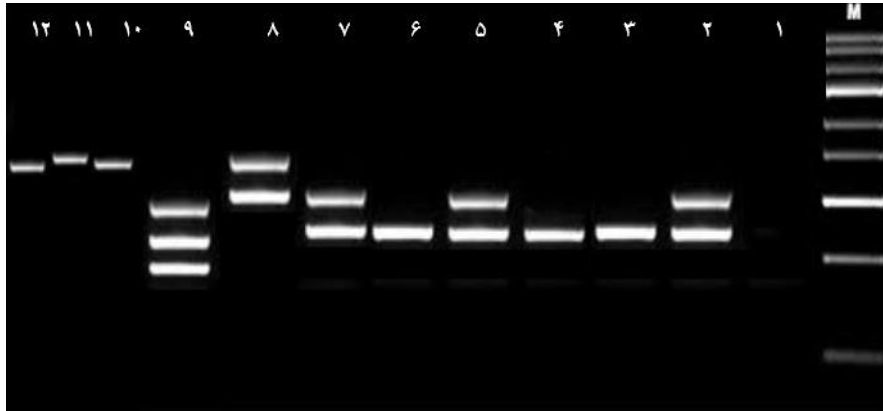
(د) تعیین حساسیت نسبت به متی‌سیلین به روش آگار اسکرین: آنالیز داده‌ها نشان داد که ۲ سویه (۷/۲٪) حساس و ۲۶ سویه (۹۲/۸٪) مقاومت به متی‌سیلین بودند. بنابراین روش آگار اسکرین دارای حساسیتی در حدود ۹۲/۸ بود.

(د) تعیین حساسیت نسبت به متی‌سیلین به روش آگار اسکرین: آنالیز داده‌ها نشان داد که ۲ سویه (۷/۲٪) حساس و ۲۶ سویه (۹۲/۸٪) مقاومت به متی‌سیلین بودند. بنابراین روش آگار اسکرین دارای حساسیتی در حدود ۹۲/۸ بود.

آنالیز داده‌ها نشان داد که ۲ سویه (۷/۲٪) حساس و ۲۶ سویه (۹۲/۸٪) مقاومت به متی‌سیلین بودند. بنابراین روش آگار اسکرین دارای حساسیتی در حدود ۹۲/۸ بود.

جدول ۲: توزیع فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در بخش‌های مختلف بیمارستان.

آنتی‌بیوتیک	فراوانی مقاومت	اورژانس	زایشگاه	CCU	اطفال	جراحی	اتاق عمل	رادیولوژی	دیالیز	ICU	p-value
ونکومايسين	۰ (۰٪)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۰/۱
پنی‌سیلین	۳۲ (۱۰۰٪)	۴ (۱۱/۷۶)	۴ (۱۱/۷۶)	۱ (۲/۹۴)	۳ (۸/۸۲)	۴ (۱۱/۷۶)	۱۰ (۲۹/۴۱)	۲ (۵/۸۸)	۱ (۲/۹۴)	۳ (۸/۸۲)	۰
سفکسیم	۳ (۲/۲۶)	۱ (۲/۹۴)	۱ (۲/۹۴)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۱ (۲/۹۴)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۰/۹۶۳
اریترومايسين	۱۹ (۱۵/۷۶)	۲ (۵/۸۸)	۲ (۵/۸۸)	۱ (۲/۹۴)	۲ (۵/۸۸)	۱ (۲/۹۴)	۵ (۱۴/۷۱)	۲ (۵/۸۸)	۱ (۲/۹۴)	۳ (۸/۸۲)	۰/۵۳۱
کلرامفنیکل	۱۳ (۳۰/۴۰)	۳ (۸/۸۲)	۱ (۲/۹۴)	۱ (۲/۹۴)	۱ (۲/۹۴)	۱ (۲/۹۴)	۴ (۱۱/۷۶)	۱ (۲/۹۴)	۱ (۲/۹۴)	۰ (۰/۰۰)	۰/۳۰۴
کلیندامایسین	۱۲ (۱۰/۵۲)	۲ (۵/۸۸)	۲ (۵/۸۸)	۱ (۲/۹۴)	۲ (۵/۸۸)	۰ (۰/۰۰)	۴ (۱۱/۷۶)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۱ (۲/۹۴)	۰/۸۶۵
اگزاسیلین	۲۰ (۶۰/۵۲)	۳ (۸/۸۲)	۱ (۲/۹۴)	۱ (۲/۹۴)	۲ (۵/۸۸)	۳ (۸/۸۲)	۶ (۱۷/۶۵)	۱ (۲/۹۴)	۱ (۲/۹۴)	۲ (۵/۸۸)	۰/۹۶۵
تری متوپوریم + سولفامتوکسازول	۱ (۱٪)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۰ (۰/۰۰)	۱ (۲/۹۴)	۰/۸۰۰



شکل ۱: الکتروفورز حاصل از تایپینگ SCCmec با استفاده از multiplex PCR در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین. (M) مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۱) کنترل منفی، ستون ۲) تایپ SCC III، ستون ۳) تایپ SCC IVc، ستون ۴) تایپ SCC IVc، ستون ۵) تایپ SCC III، ستون ۶) تایپ SCC IIIc، ستون ۷) تایپ SCC III، ستون ۸) تایپ SCC V، ستون ۹) تایپ SCC III، ستون ۱۰) تایپ SCC I، ستون ۱۱) تایپ SCC I، ستون ۱۲) تایپ SCC I.

بیمارستان‌های لقمان و امام حسین و لبافی نژاد تهران، از بین ۲۰۰۰ نفر بیمار سرپایی ۴۴۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس و تعداد ۲۵ سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین تشخیص دادند که میزان شیوع کمتری را نسبت به مطالعه ما نشان می‌دهد (۱۴). این میزان با توجه به مطالعاتی که در اکثر نقاط کشور و سایر نقاط دنیا صورت گرفته است نشانگر کاهش شیوع این سویه مقاوم است. این امر می‌تواند ناشی از بینش اصلاح مصرف آنتی‌بیوتیک در بین جامعه پزشکی و کاهش تهدید متی‌سیلین باشد. نکته شایان توجه این است که با توجه به کاهش شیوع، اما باکتری تایپ‌های دیگری از SCCmec را برای جلوگیری از اثر آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده می‌کند. این امر نشان دهنده این است که هم زمان با مصرف آنتی‌بیوتیک‌های جدید، مقاومت چند دارویی نیز در خود ایجاد کرده است. در این پژوهش، اکثر سویه‌های مورد بررسی دارای مقاومت چندگانه بودند.

به متی‌سیلین مربوطه به بیمارستان امام رضا لارستان (۵۵/۲۶٪) و کمترین آن مربوط به بیمارستان امیدوار اوز (۵/۲۶٪) بود. آزمون آماری نشان داد که بین بیمارستان و عفونت استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین ارتباط معناداری (P= ۰/۹۵) وجود دارد (جدول ۳).

بحث

در مطالعه حاضر میزان شیوع استافیلوکوکوس اورئوس ۱۶/۵۲٪ و استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در تمامی پرسنل بیمارستان‌های مورد بررسی سه شهر منطقه لارستان، ۱۲/۱۷٪ بود. امینی (Amini)، رحیمی (Rahimi) و همکاران در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۳ در شهر اصفهان از بین ۲۹۳ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس، تعداد ۱۰۱ سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین را شناسایی نمودند (۱۴). مطالعه زمانیان (Zamanian) و همکاران در سال ۲۰۱۵ در

جدول ۳: فراوانی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جداشده از کارکنان بر حسب بیمارستان.

(P-Value)	(P-Value)	تعداد (درصد کل)	MSSA		MRSA		بیمارستان
			درصد	تعداد	درصد	تعداد	
	۰/۰۰	۲۲ (۵۷/۸۹)	۲/۶۳	۱	۵۵/۲۶	۲۱	لار
۰/۰۰۰	۰/۵۲۱	۱۱ (۲۸/۹۵)	۲۳/۶۸	۹	۵/۲۶	۲	اوز
	۰/۰۰	۵ (۱۳/۱۶)	۰/۰۰	۰	۱۳/۱۶	۵	بیرم

در شیراز نشان داد که تایپ II (۷۴/۳٪)، IV (۱۳٪)، V (۲/۶٪) و I (۰/۶٪) به ترتیب بیشترین فراوانی را دارند. اما در مطالعه حاضر تایپ I شیوع بیشتری را نشان داد (۱۹٪). از آنجایی که تایپ I منشأ جامعه و تایپ II منشأ بیمارستانی دارد، ضرورت توجه به معیارهای کنترل عفونت‌های بیمارستانی به منظور جلوگیری از آلودگی متقاطع احساس می‌گردد. درمان افراد حامل با سویه‌های MRSA در بین پرسنل پزشکی می‌تواند از عفونت‌های بیمارستانی جلوگیری کند. در پژوهش حاضر بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و روش انتشار دیسک نشان داد که بیشترین مقاومت دارویی نسبت به پنی‌سیلین (۱۰۰٪) و آگراسیلین (۶۰/۵۲٪) و کمترین میزان مقاومت مربوط به ونکومایسین (۰٪) و تری متوپوریم (۰٪) وجود دارد. اما نتایج MIC به روش E-test نشان داد که ۲۰ نمونه (۷۱/۴۲٪) از استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین دارای حساسیت به ونکومایسین و ۸ نمونه (۲۸/۵۷٪) نیز مقاومت حد واسط (VISA) دارند. از طرفی این آنتی‌بیوتیک آخرین داروی انتخابی است که به فراوانی در محیط بیمارستان استفاده می‌شود. پس با وجود استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به ونکومایسین و گسترش آن مشکل درمان MRSA مطرح می‌باشد که زنگ خطری برای جامعه پزشکی و درمانی در ایران و به خصوص منطقه لارستان است.

در مطالعه‌ای که حقگو (Haghgou) در سال ۲۰۱۲ در تبریز انجام داد، مشخص شد که ۴٪ سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس دارای مقاومت حد واسط بودند. از بین آن‌ها یک مورد استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به ونکومایسین (VRSA) گزارش شده بود که میزان شیوع کمتری را نسبت به مطالعه ما نشان می‌دهد (۲۰٪). در مطالعه دیگری که در هرمزگان توسط مرادی (Moradi) و همکاران صورت گرفت، از بین استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بینی پرسنل بیمارستان، ۳۳/۱٪ سویه‌ها مقاومت حد واسط داشتند که میزان شیوع کمتری را نسبت به مطالعه ما نشان می‌دهد.

مطالعات انجام شده در ۱۲ کشور آسیایی در مورد مقاومت ونکومایسین نشان می‌دهد که از ۱۳۵۷ سویه بالینی جمع‌آوری

مطالعه دیگری توسط رابینسون (Robinson) و اسمیت (Smyth) در کشورهای مختلف دنیا نشان داد که فراوانی MRSA در نروژ و سوئد حدود ۱٪، در آمریکا ۵ تا ۵۰٪، در ایران ۵۰٪ و در هند بیشتر از ۸۰٪ می‌باشد (۱۵). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد بیش از ۷۰ درصد از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس دارای ژن *mecA* بودند. از مجموع ۲۸ سویه MRSA جدا شده ۲۱ سویه (۷۵ درصد) CA-MRSA و ۷ سویه (۲۵ درصد) HA-MRS بودند. بنابراین بیشترین سویه‌های MRSA جدا شده منشأ آن جامعه بوده است.

Scmec تایپ I و Scmec تایپ II در نمونه‌های مورد بررسی ما قابل توجه بودند. در سال ۲۰۱۵، امر عباس (Ameer Abbas) و همکاران مطالعه‌ای بر روی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در جامعه و بیمارستان هندوستان انجام دادند. نتایج آنها نشان داد که از ۲۰۱ سویه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده تعداد ۱۴۲ سویه HA-MRSA (۲۸/۶٪) و ۵۸ سویه (۱۱/۶٪) CA-MRSA بودند که میزان شیوع بیشتری را نسبت به مطالعه ما نشان می‌دهد (۱۶).

در شهر تهران در مطالعه‌ای که در بیمارستان امیر اعلم انجام شد از مجموع ۴۱ سویه MRSA جدا شده ۲۴ سویه (۵۸/۵٪) HA-MRSA و ۱۷ سویه (۴۱/۵٪) CA-MRSA بودند. اما در مطالعه ما در صد بالایی از استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین CA-MRSA بودند (۱۷). در طول دهه گذشته CA-MRSA به طور جهانی ظهور یافته است و نه تنها فقط در جوامع انسانی بلکه در مراکز درمانی رو به ازدیاد است.

CA-MRSA مسئول افزایش شیوع MRSA در کشورهایی مانند دانمارک، نروژ و هلند بوده که به طور ذاتی فاقد عفونت HA-MRSA می‌باشند (۱۸). این سویه نسبت به HA-MRSA به دلیل ایجاد توکسین لوکوسیدین پنتون والتین بیمارزاتر بوده و قابلیت بیشتری در ایجاد بیمارهای جدی و شدید دارند. بنابراین یک هشدار در منطقه لارستان محسوب می‌شود.

در سال ۲۰۱۰ بر اساس مطالعاتی که در شهرستان فسا انجام شد بیشترین تایپ‌ها به ترتیب II (۴۴٪)، III (۳۷٪)، I (۷/۵٪)، IV (۴٪) و V (۷/۵٪) گزارش شد. مطالعه دیگر در سال ۲۰۰۸

اگراسیلین بودند (۲۲). والت (Wallet) و همکاران و همچنین ساکولاس (Sakoulas) و همکاران در دو مطالعه مجزا نتایج آگار اسکرین و PCR را مقایسه کردند و به ترتیب حساسیتی برابر (۹۹٪) و (۹۶٪) گزارش کردند (۲۲). بر اساس دستورالعمل CLSI روش آگراسکرین به عنوان بهترین روش فنوتیپی برای تشخیص استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین شناخته شده است. با این وجود، PCR روشی حساس و دقیق برای شناسایی مقاومت می‌باشد و روشی ایده‌آل برای شناسایی سویه‌های MRSA می‌باشد (۲۳).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که شیوع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و سایر آنتی‌بیوتیک‌ها به ویژه بتالاکتام‌ها، آمینوگلیکوزیدها، ماکرولیدها در حال افزایش است. از طرفی با توجه به وجود ناقلین این باکتری در محیط بیمارستان و احتمال گسترش آن، ضرورت انجام آزمون‌های میکروپشناسی و حساسیت دارویی قبل از درمان به منظور جلوگیری از هزینه‌های غیرضروری و ناموفق درمانی وجود دارد بدین منظور پیشنهاد می‌گردد پرسنل کادر درمانی حداقل در دوره‌های یک‌ساله مورد ارزیابی مجدد قرار گیرند و با توجه به اطلاعات به دست آمده ضمن درمان به موقع و مؤثر از بروز سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و انتشار آن در بیمارستان و جامعه جلوگیری به عمل آید.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از مسئولین دانشکده علوم پزشکی لارستان به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای طرح پژوهشی و تأمین بودجه به شماره ۱۳۹۳/۱۳۸ کمال تشکر و امتنان را دارند.

شده MRSA، حدود ۳۴۷ سویه (۶/۲۵٪) مقاومت حدواسط به ونکومایسین داشته اند (۲۱). در مطالعه حاضر با روش انتشار دیسک، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین حساسیت صد در صد به ونکومایسین نشان دادند. این مطلب بیانگر این مساله است که روش‌های فنوتیپی مانند انتشار دیسک ممکن است دقت لازم را نداشته باشند. بنابراین به‌کارگیری روش‌های دقیق تری مانند آزمون MIC و روش مولکولی مانند PCR برای ردیابی ژن مقاومت و به منظور تأیید سویه‌های مقاوم به ونکومایسین لازم و ضروری است.

سکوسکا (Cekovska) و همکاران در مطالعه‌ای بر روی ۲۱۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس، حساسیت به متی‌سیلین را با روش‌های فنوتیپی و PCR تعیین و ۳ سویه فاقد ژن *mecA* را با روش فنوتیپی مقاوم به متی‌سیلین گزارش نمودند (۲۲). در تحقیقی که توسط نادری نسب (Naderi Nasab) و همکاران انجام شد، ۸۶ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس از نظر مقاومت به متی‌سیلین به دو روش PCR و انتشار دیسک مورد مقایسه قرار گرفتند. از این میان تعداد ۴۶ جدایه با هر دو روش PCR و انتشار دیسک مقاومت به متی‌سیلین را نشان دادند. با توجه به موارد یاد شده در مورد مقاومت‌های کاذب نسبت به متی‌سیلین و نتایج به دست آمده از آن، در مطالعه حاضر برای جلوگیری از به دست آمدن نتایج مثبت کاذب از روش آگار اسکرین برای مشخص کردن قطعی سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین استفاده شد. در مطالعه کنونی ۲۶ سویه از ۲۸ سویه (۹۲/۸٪) دارای ژن *mecA* در روش آگار اسکرین نسبت به اگراسیلین مقاوم و تمامی سویه‌ها فاقد ژن *mecA* در این روش حساس به اگراسیلین بودند.

در مطالعه هوایی (Havaei) در روش آگار اسکرین از بین ۳۵ نمونه دارای ژن *mecA*، ۳۱ نمونه مقاوم و تنها ۴ نمونه حساس به اگراسیلین بودند و تمامی نمونه‌ها فاقد ژن *mecA* حساس به

References

1. Davoodabadi F, Mobasherizadeh S, Mostafavizadeh K, Shojaei H, Havaei SA, Koushki AM, Moghadasizadeh Z, Meidani M, Shirani K. Nasal colonization in children with community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Adv Biomed Res. 2016; 5: 86.

2. Changchien CH, Chen SW, Chen YY, Chu C. Antibiotic susceptibility and genomic variations in *Staphylococcus aureus* associated with Skin and Soft Tissue Infection (SSTI) disease groups. *BMC Infect Dis*. 2016; 16(1): 276.
3. Mustapha M, Bukar-Kolo YM, Geidam YA, Gulani IA. Phenotypic and genotypic detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hunting dogs in Maiduguri metropolitan, Borno State, Nigeria. *Vet World*. 2016; 9(5): 501-506.
4. Iliyasu G, Daiyab FM, Tiamiyu AB, Abubakar S, Habib ZG, Sarki AM, Habib AG. Nosocomial infections and resistance pattern of common bacterial isolates in an intensive care unit of a tertiary hospital in Nigeria: A 4-year review. *J Crit Care*. 2016; 34: 116-120.
5. Gunawardena ND, Thevanesam V, Kanakarathne N, Abeyssekera D, Ekanayake A, Perera N. Molecular identification of methicillin resistance and virulence marker in *Staphylococcus aureus*. *Sri Lankan J infect Dis*. 2012; 2(2): 18-29.
6. Shittu AO, Okon K, Adesida S, Oyedara O, Witte W, Strommenger B, Layer F, Nubel V. Antibiotic resistance and molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* in Nigeria. *BMC Microbiol*. 2011; 5(11): 92.
7. Baba-Moussa L, Sina H, Scheftel JM, Moreau B, Sainte-Marie D. Staphylococcal panton-valentine leucocidin as a major virulence factor associated to furuncles. *Plos One*. 2011; 6(10): 25716.
8. Tsubakishita S, Kuwahara-Arai K, Sasaki T, Hiramatsu K. Origin and molecular evolution of the determinant of methicillin resistance in staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010; 54(10): 4352-4359.
9. Zamani A, Sadeghian S, Najafi Mosleh M, Goodarzi M T, Yousefi Mashouf R, Ghaderkhani J. Detection of methicillin-resistance gene (*mec-A*) in *Staphylococcus aureus* strains by PCR and determination of antibiotic sensitivity. *Avicenna J Clin Med*. 2007; 14(3): 54-58. [In Persian]
10. Brown DFJ, Edwards DI, Hawkey PM, Morrison D, Ridgway GL, Towner KJ, Wren MW. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Antimicrob Chemther*. 2005; 56: 1000-1018.
11. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 21st Informational Supplement, M100-S21, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2016.
12. Havaei SA, Karbalaieizadeh Babaki M, Pishva E. Comparison of the results of polymerase chain reaction and oxacillin agar dilution methods in determining resistance to methicillin in isolated *Staphylococcus aureus* at Alzahra Hospital, Isfahan, Iran. *J Isfahan Med Sch*. 2011; 29 (151): 1175-1182. [In Persian]
13. Zhang K, McClure JA, Elsayed S, Louie T, Conly JM. Novel multiplex PCR for characterization and concomitant subtyping of Staphylococcal cassette chromosome *mec* typing I to V in Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother*. 2005; 43(10): 5026-5033.
14. Shokoohi Sh, Aminzadeh Z, Sharafi K, Askari E, Soleimani F. Prevalence of methicillin

- resistant in HA-MRSA in Tehran. Iran J Microbiol. 2009; 2(1): 87.
15. Moise PA, Smyth DS, Robinson DA, El-Fawal N, McCalla C, Sakoulas G. Genotypic and phenotypic relationships among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from three multicenter bacteremia studies. J Antimicrob Chemother. 2009; 63: 873-876.
 16. Hota B, Lyles R, Rim J, Popovich KJ, Rice T, Aroutcheva A, Wenstein R. Predictors of clinical virulence in community-onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: the importance of USA300 and pneumonia. Clin Infect Dis. 2011; 53(8): 757-765.
 17. Adaleti R, Nakipoglu Y, Karahan ZC, Tasdemir C, Kaya F. Comparison of polymerase chain reaction and conventional methods in detecting methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Infect Dev Ctries. 2008; 2(1): 46-50.
 18. Otter JA, French GL. Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. Lancet Infect Dis. 2010; 10(4): 227-239.
 19. Ghaznavi-Rad E, Nor Shamsudin M, Sekawi Z, van Belkum A, Neela V. A simplified multiplex PCR assay for fast and easy discrimination of globally distributed staphylococcal cassette chromosome mec types in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Med Microbiol. 2010; 59: 1135-1139.
 20. Zohorinia M, Soleymani E, Nobari H, Ahmadi k, Jafarian S, Bahmani N, Asadi A. Frequency of nasal and hand carriage of staphylococcus aureus among the medical and non medical staffs in Iranian air force Be'saat Medical center. Ann Military Health Sci Res. 2006; 4(3): 901-907.
 21. Novick RP, Christie GE, Penades JR. The phage-related chromosomal islands of Gram-positive bacteria. Nat Rev Microbiol. 2010; 8(8): 541-551.
 22. Turlej A, Hryniewicz W, Empel J. Staphylococcal cassette chromosome mec (Sccmec) classification and typing methods: an overview. Pol J Microbiol. 2011; 60(2): 95-103.
 23. Perez LR, Dias C, Azevedo PA. Agar dilution and agar screen with oxacillin: what is known and what is unknown in detection of MRSA. J Med Microbiol. 2008; 57(8): 954-956.



Staphylococcal cassette chromosome (SCCmec) typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from healthy workers nasal swabs in Larestan hospitals

Mehdi Ebadi¹, Tahereh Khaliliazad²

¹Assistant Professor, Department of Microbiology, Larestan branch, Islamic Azad University, Larestan, Iran.

²M.Sc., Department of Laboratory Larestan University of Medical Science, Larestan, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the most important causes of opportunistic infections in the community as well as hospitals. Nowadays, an increase in the antibiotic resistance has caused concern to the medical community. Meanwhile, resistance to methicillin is important because of limiting treatment. This study was conducted to track methicillin resistance gene and to type staphylococcal cassette chromosome (SCCmec) in *S. aureus* strains isolated from nasal swabs of healthy hospital workers and to determine the antibiotic sensitivity pattern of the strains.

Materials & Methods: In this descriptive cross-sectional study, 230 specimens were collected from healthy workers nasal swabs of Larestan hospital during 2015. *S. aureus* strains were identified using laboratory standard methods. The antibiotic susceptibility pattern was characterized using disk diffusion test, minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by E-test and sensitivity to methicillin was assessed by agar screening test. Furthermore, the presence of antibiotic-resistant *mecA* gene and SCCmec genotyping were investigated using the multiplex-PCR method.

Results: Among all nasal swab samples, 37 (14.8%) *S. aureus* isolates were recovered. 28 (75.7%) out of 37 *S. aureus* isolates were confirmed as MRSA. 21 (75%) of 28 MRSA isolates were community-associated MRSA (CA-MRSA), and the remaining 7 (25%) were hospital-acquired MRSA (HA-MRSA). SCCmec genotyping showed the most frequent isolates as follows: 9 (32.1%) isolates as SCCmec type I, 8 (28.6%) isolates as SCCmec type IV, 5 (17.9%) isolates as SCCmec type II, 4 (14.3%) isolates as SCCmec type V and 2 (7.1%) isolates as SCCmec type III. Evaluation of antibiotic resistance pattern showed the highest resistance to penicillin (100%) and oxacillin (60%) respectively, and the lowest resistance to vancomycin (0%). E-test results confirmed 28.5% of the isolates as intermediate vancomycin-resistant. Using agar screening test, oxacillin resistance was shown as 92.8%.

Conclusion: Our result showed that 70% methicillin resistance in the *S. aureus* which is mostly CA-MRSA strains. This could be a serious warning about the need to treat infections caused by this bacterium and control the carriers in the hospital environment

Keywords: Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, Cassette chromosome, Antibiotic resistance.

Correspondence to: Mehdi Ebadi

Tel: +98 9177014882

E-mail: mehdiebadi48@yahoo.com

Journal of Microbial World 2018, 11(1): 40-50.