مجله دنیای میکروب‌ها
سال ششم شماره چهارم (پیاپی ۱۷) زمستان ۱۳۹۲
صفحات ۳۱۱-۲۹۹

Original Article

تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه های بالینی بیمارستان امام رضا (ع) کرمانشاه

زینب احمدی*[۱]، الهه تاجبخش[۲]، حسن ممتاز[۳]

[۱] کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، گروه میکروب شناسی، [۲] استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، گروه میکروب شناسی، [۳] دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، گروه میکروب شناسی

چکیده

سابقه و هدف: *استافیلوکوکوس اورئوس* یکی از عوامل مهم در ایجاد عفونت های بیمارستانی و جامعه به شمار می رود. امروزه مقاومت به آنتی بیوتیک ها به دلیل مصرف بیش از حد در حال افزایش می باشد و این مساله موجب نگرانی در سرتاسر جهان شده است. مطالعه حاضر با هدف ردیابی ژن های کدکننده مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از عفونت های بالینی در انسان و تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی این باکتری انجام شده است.

مواد و روش ها: در این مطالعه مقطعی- توصیفی ۱۰۰ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت از بیماران مبتلا به عفونت های ادراری و زخم در بیمارستان امام رضا (ع) کرمانشاه در سال ۱۳۹۱ جمع آوری گردید. این سویه ها با استفاده از روش های استاندارد آزمایشگاهی و کشت در محیط اختصاصی انتخاب شدند. به منظور ارزیابی الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی سویه ها، از روش انتشار دیسک استفاده گردید. همچنین حضور پنج ژن کد کننده مقاومت آنتی بیوتیکی شامل *mecA*، *aacA-D*، *tet K*، *tetM* و *msrA* و *ermA* در سویه های مورد مطالعه با روش multiplex-PCR مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: ارزیابی فنوتیپی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های پنی سیلین (۹۰٪)، تتراسایکلین (۷۶٪)، متی سیلین (۶۴٪) و آمپی سیلین (۵۵٪) و کمترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های نیتروفورانتوئین (۸٪) و ونکومایسین (۱۴٪) وجود دارد. بررسی مولکولی نشان دهنده حضور ۸۹ درصدی ژن *tetM* در سویه ها بود. به دنبال آن بیشترین فراوانی مربوط به حضور ژن های *mecA* (۵۸٪)، *ermA* (۴۰٪)، *msrA* (۳۶٪)، *aacA-D* (۲۴٪) و *tetK* (۱۳٪) بودند.

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این تحقیق مقاومت بالای آنتی بیوتیکی را در سویه های بیمارستانی *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان می دهد. بنابراین به منظور جلوگیری از افزایش مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های رایج باید از تجویز بدون نسخه و استفاده غیر ضروری از آنتی بیوتیک های در دسترس اجتناب نمود.

واژگان کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس*، MRSA، مقاومت آنتی بیوتیکی.

دریافت مقاله: خرداد ماه ۹۲ پذیرش برای چاپ: شهریور ماه ۹۲

مقدمه

امروزه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*) به عنوان یک عامل مهم بیماری زا در بیمارستان شناخته می شود (۱). در ۵۰ سال گذشته این باکتری تغییرات ژنتیکی زیادی را متحمل شده است. از آنجایی که این باکتری دارای ژنوم انعطاف پذیری می باشد، سویه های بیماری زا و مقاوم به داروی آن گسترش یافته است. در سال های اخیر

*) آدرس برای مکاتبه: شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، گروه میکروب شناسی.
تلفن: ۰۹۳۷۶۹۸۲۲۹۸ پست الکترونیک: zeinab_ahmadi1362@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

نقش مهم *استافیلوکوکوس اورئوس* در ایجاد عفونت های بیمارستانی و نیز جامعه منجر به افزایش تحقیقات بر روی این باکتری شده است (۲). *استافیلوکوکوس اورئوس* موجب ایجاد طیف وسیعی از بیماری ها مانند اندوکاردیت، استئومیلیت، مسمومیت غذایی، سپتی سمی، عفونت های پوستی، کورک، کفگیرک، عفونت های بافت نرم و سندرم پوسته پوسته شدن پوست در انسان می گردد (۳). مقاومت آنتی بیوتیکی در این باکتری به واسطه کروموزوم و پلاسمید کنترل می شود (۴). مصرف بیش از حد و بدون نسخه آنتی بیوتیک ها با گذشت زمان افزایش مقاومت و کاهش میزان حساسیت باکتری به آنتی بیوتیک های مختلف را به دنبال دارد (۵).

قبل از سال ۱۹۴۰ پنی سیلین به عنوان داروی خط اول در درمان عفونت های *استافیلوکوکوس اورئوس* مطرح بود. اما به دلیل مصرف بی رویه آن، سویه های مقاوم به پنی سیلین به سرعت طی دو سال افزایش یافتند (۶). ژن مقاومت به آنتی بیوتیک پنی سیلین، ژن *blaZ* می باشد که آنزیمی خارج سلولی به نام بتالاکتاماز را به منظور هیدرولیز حلقه بتالاکتام کد می نماید (۷).

در سال ۱۹۵۹ متی سیلین به عنوان یک آنتی بیوتیک مطرح شد. ۲ سال بعد اولین مورد *استافیلوکوکوس* مقاوم به متی سیلین (MRSA) در بریتانیا گزارش گردید (۸). ژن *mecA* بر روی یک قطعه ژنتیکی سیار قرار دارد که به آن مجموعه کروموزومی mec *استافیلوکوکی* (SCCmec) می گویند (۹). مقاومت دارویی ایجاد شده در سویه های MRSA ناشی از این عناصر متحرک ژنتیکی می باشد. ژن *mecA* دارای کدهایی برای تغییر در پروتئین متصل شونده به پنی سیلین (PBP2a) بوده که باعث ایجاد میل ترکیبی کمتر در اتصال به حلقه بتالاکتام می شود (۴ و ۱۰).

اولین مورد مقاومت به متی سیلین در بیمارستان مشاهده شد و همچنان در جامعه در حال افزایش می باشد. بنابراین خطر جدی برای سلامت عمومی در سرتاسر جهان محسوب می گردد (۱۱). بیمارانی که با سویه های MRSA عفونی شده اند بالاترین خطر برای گسترش عفونت های *استافیلوکوکوس اورئوس* در جامعه را دارا می باشند. زیرا این سویه ها دارای ماهیتی چند مقاومتی بوده و باعث ایجاد مقاومت همزمان به آنتی بیوتیک های گروه بتالاکتام، آمینوگلیکوزیدها و ماکرولیدها می شوند (۱۲). استقرار میکروارگانیسم ها نقش مهمی در افزایش بیماری زایی آن ها دارد. بیماران کلونیزه شده با MRSA به عنوان یک مخزن برای انتقال بیماری در بیمارستان عمل می نمایند. محل اصلی استقرار این باکتری ناحیه قدامی بینی می باشد. این باکتری شایع ترین عامل عفونت های پس از عمل جراحی نیز محسوب می گردد (۱۳).

برای سال ها آنتی بیوتیک ونکومایسین داروی انتخاب شده برای درمان عفونت های ناشی از MRSA بود. اما در جولای ۲۰۰۲ مرکز کنترل بیماری ها (CDC) در ایالات متحده آمریکا اولین گزارش مقاومت نسبت به ونکومایسن را در سویه های MRSA منتشر نمود (۱۴). کاهش حساسیت به ونکومایسین به دلیل ضخیم شدن دیواره سلولی در اثر وجود ژن *vanA* است که برای تغییر مکان هدف و عدم اتصال به ونکومایسین کد می شود (۱۵). آنتی بیوتیک های آمینوگلیکوزیدی به عنوان یک عامل مهار کننده رشد باکتریایی، با داشتن طیف اثر وسیع برای درمان عفونت های *استافیلوکوکوس اورئوس* استفاده می شوند. سه مکانیسم برای ایجاد مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها مطرح شده است: ۱) آنزیم های تغییردهنده آمینوگلیکوزید، ۲) موتاسیون ریبوزومی، ۳) فعالیت افلوکس باکتری. با توجه به افزایش روز افزون مقاومت آنتی بیوتیکی در این باکتری سویه های مقاوم به آمینوگلیکوزید ارتباط نزدیکی با سویه های MRSA دارند (۱۶ و ۱۷).

فلوروکینولون ها در سال ۱۹۸۰ ابتدا برای درمان عفونت های ناشی از باکتری های گرم منفی و سپس برای درمان عفونت های پنوموکوکی و استافیلوکوکوسی مورد استفاده قرار گرفتند. اما مقاومت به آن ها در سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* به ویژه سویه های MRSA برای اولین بار ایجاد شد. این مقاومت به طور معمول در نتیجه موتاسیون خود به خودی کروموزومی در مکان های کلیدی DNA ژیراز و توپوایزومراز IV ایجاد می شود (۸).

Archive of SID
www.SID.ir

آنتی بیوگرام، از روش های معمول آزمایشگاهی و تشخیصی بوده که شامل سنجش میزان توانایی یک آنتی بیوتیک برای ممانعت از رشد باکتری ها در آزمایشگاه می باشد. این توانایی را می توان با استفاده از روش های رقیق سازی در لوله و یا کشت میکروارگانیسم در پلیت اندازه گیری نمود. تداخل هاله های عدم رشد باکتری در اطراف دیسک های آنتی بیوتیکی، یکی از مشکلات روش های انتشار در آگار می باشد (۳). امروزه از تعیین تایپ مولکولی multiplex-PCR، به منظور ردیابی هم زمان ژن های کد کننده مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری ها به ویژه *استافیلوکوکوس اورئوس* استفاده می شود. این روش می تواند کاهش دهنده و جلوگیری کننده از حالت اپیدمیک عفونت های بیمارستانی بوده و در ردیابی منبع عفونت و یا شیوع آن کمک مهمی نماید (۳ و ۱۰). با توجه به این که در شهرستان کرمانشاه گزارش دقیقی از فراوانی آلودگی با *استافیلوکوکوس اورئوس* در بیمارستان های منطقه وجود نداشت و میزان مقاومت آنتی بیوتیکی این باکتری نیز تعیین نشده است، لذا این مطالعه با هدف ردیابی ژن های کدکننده مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از عفونت های بالینی در انسان و تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی این باکتری انجام شده است.

مواد و روش ها

الف) جمع آوری نمونه و شناسایی اولیه: این مطالعه به صورت مقطعی- توصیفی بر روی ۱۰۰ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امام رضا (ع) شهرستان کرمانشاه در سال ۱۳۹۱ انجام شد. ۶۵٪ نمونه ها از عفونت های ادراری و ۳۵٪ از زخم های پوستی جداسازی گردیدند. در تمامی موارد اطلاعات مربوط به سن، جنس و محل عفونت افراد ثبت شد. شناسایی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* با استفاده از روش های استاندارد میکروب شناسی مانند رنگ آمیزی گرم و تست های بیوشیمیایی کاتالاز، کواگولاز، اکسیداز، تخمیر قند مانیتول، حساسیت به نوبیوسین و DNase انجام گردید (۱).

ب) سنجش فنوتیپی حساسیت آنتی بیوتیکی: به منظور تعیین مقاومت سویه ها نسبت به متی سیلین از روش MIC (Minimum Inhibitory Concentration) با روش میکرو دایلوشن براث استفاده شد. در این روش رقت های متوالی از آنتی بیوتیک متی سیلین با غلظت ثابتی از سوسپانسیون باکتری که کدورتی معادل نیم مک فارلند دارد، در میکروپلیت مخلوط گردید. پس از ۲۴ ساعت گرماگذاری، چگالی نوری (Optical Density = OD) چاهک ها با دستگاه الایزا ریدر بررسی و پایین ترین غلظتی که مانع از رشد باکتری شده باشد به عنوان MIC در نظرگرفته شد (۱۸).

در مورد آنتی بیوتیک ونکومایسین، MIC با استفاده از روش رقت در آگار (Agar dilution) تعیین گردید. به این ترتیب که با آماده سازی سوسپانسیون باکتری مطابق ۰/۵ مک فارلند، باکتری به محیط مولر هینتون حاوی ونکومایسین با غلظت ۴-۶۴ µg/ml تلقیح شد. نتایج پس از گذشت ۱۸ تا ۲۴ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند (۱۹). تعیین حساسیت جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به سایر آنتی بیوتیک ها با استفاده از روش انتشار دیسک (Kirby-Bauer) مطابق با دستورالعمل NCCLS (Committee for Clinical Laboratory Standards) انجام شد (۲۰). تمامی محیط های کشت استفاده شده از شرکت Merck آلمان تهیه شد.

دیسک های مورد استفاده در این مطالعه شامل آنتی بیوتیک های پنی سیلین (۱۰ µg)، تتراسایکلین (۳۰ µg)، سفتری آکسون (۱۰ µg)، نالیدیکسیک اسید (۲۵ µg)، کلیندامایسین (۲ µg)، نوفلوکسازین (۱۰ µg)، تری متوپریم- سولفامتاکسازول (۲۵ µg)، آمپی سیلین (۱۰ µg)، نیتروفورانتوئین (۲۰ µg)، سیپروفلوکسازین (۵ µg)، نئومایسین (۳۰ µg)، سفکسیم (۵ µg)، آزیترومایسین (۱۵ µg)، اریترومایسین (۱۵ µg)، متی سیلین (۵ µg)، ونکومایسین (۳۰ µg)، جنتامایسین (۱۰ µg) و ریفامپین (۳۰ µg) (شرکت پادتن طب، ایران) بودند. برای انجام آنتی بیوگرام سوسپانسیون باکتری با غلظت ۰/۵ مک فارلند تهیه و بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. نمونه ها در دمای ۳۷ درجه سانتی

Archive of SID
www.SID.ir

گراد به مدت ۲۴ ساعت گرما گذاری شدند. در نهایت بر اساس قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک ها، نتایج به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم بیان گردید (۳). در این مطالعه از سویه های استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 33591 و ATCC 25923 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (۲۱).

ج) سنجش ژنوتیپی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی: در ابتدا DNA سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* توسط کیت استخراج DNA (سیناژن، ایران) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استخراج گردید. به منظور تکثیر ژن های *mecA*، *aacA-D*، *tetK*، *tetM*، *msrA* و *ermA* از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) و روش multiplex-PCR استفاده گردید. از سویه های استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 33591 به عنوان کنترل مثبت و ATCC 25923 به عنوان کنترل منفی برای ژن *mecA* و در بقیه موارد از آب مقطر استفاده شد (۲۱).

در ابتدا به کمک روش PCR ژن *16S rDNA* در سویه های میکروبی جداسازی شده، ردیابی گردید. در این مرحله واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰x، ۱۵۰ میکرومول dNTP، ۱/۵ میلی مول $MgCl_2$، ۱ میکرومول از هر کدام از پرایمرها، ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase (فرمنتاز، آلمان) و ۵ میکرولیتر از DNA انجام شد. برنامه حرارتی استفاده شده در این مرحله عبارت بود از: یک سیکل ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴ دقیقه، ۳۰ سیکل تکراری ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۵۸ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵۰ ثانیه و یک سیکل نهایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه (۲۲).

واکنش multiplex-PCR برای تشخیص ژن های *mecA, tetK, tetM* در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase (فرمنتاز آلمان)، ۵/۲ میکرولیتر بافر ۱۰x، ۱ میکرومول از هر کدام از پرایمرها، ۱۵۰ میکرومول dNTP و ۵۰ نانو گرم DNA الگو و با برنامه حرارتی ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ سیکل تکراری ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه، ۵۵ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۹۰ ثانیه و سیکل نهایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۸ دقیقه انجام شد (۲۲).

واکنش multiplex-PCR برای تشخیص ژن های *msrA, ermA, accA-D* در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase (فرمنتاز، آلمان)، ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰x، ۱ میکرو مول از هر کدام از پرایمرها، ۱۵۰ میکرومول dNTP و ۵۰ نانو گرم DNA الگو و با برنامه حرارتی ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ سیکل تکراری ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه، ۵۷ درجه سانتی گراد یک دقیقه، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۹۰ ثانیه و سیکل نهایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد (۲۲).

واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf, Germany) انجام گرفت. محصولات PCR به ژل آگاروز ۱/۵ درصد واجد اتیدیوم برماید منتقل و الکتروفورز گردیدند. قطعات DNA به کمک دستگاه Uvidoc مشاهده و عکس برداری شدند.

د) آزمون آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نسخه هفدهم نرم افزار SPSS و آزمون آماری مربع کای انجام گرفت. مرز معنی داری روی ($p<۰/۰۵$) قرار داده شد.

جدول ۱: توالی پرایمر های مورد استفاده در این مطالعه (۲۲)

پرایمر	توالی نوکلئوتیدی (5´-3´)	اندازه محصول (bp)
mecA	F : AAAATCGATGGTAAAGGTTGG R : AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC	۵۳۲
aacA-D	F: TAATCCAAGAGCAATAAGGGC R: GCCACACTATCATAACCACTA	۲۲۷
tetK	F : GTAGCGACAATAGGTAATAGT R: GTAGTGACAATAAACCTCCTA	۳۶۰
tetM	F : AGTGGAGCGATTACAGAA R: CATATGTCCTGGCGTGTCTA	۱۵۸
msrA	F : GGCACAATAAGAGTGTTTAAAGG R: AAGTTATATCATGAATAGATTGTCCT	۹۴۰
ermA	F:AAGCGGTAAACCCCTCTG R:TTCGCAAATCCCTTCTCAAC	۱۹۰
16S rDNA	F: GTAGGTGGCAAGCGTTACC R: CGCACATCAGCGTCAG	۲۲۸

Archive of SID
www.SID.ir

یافته ها

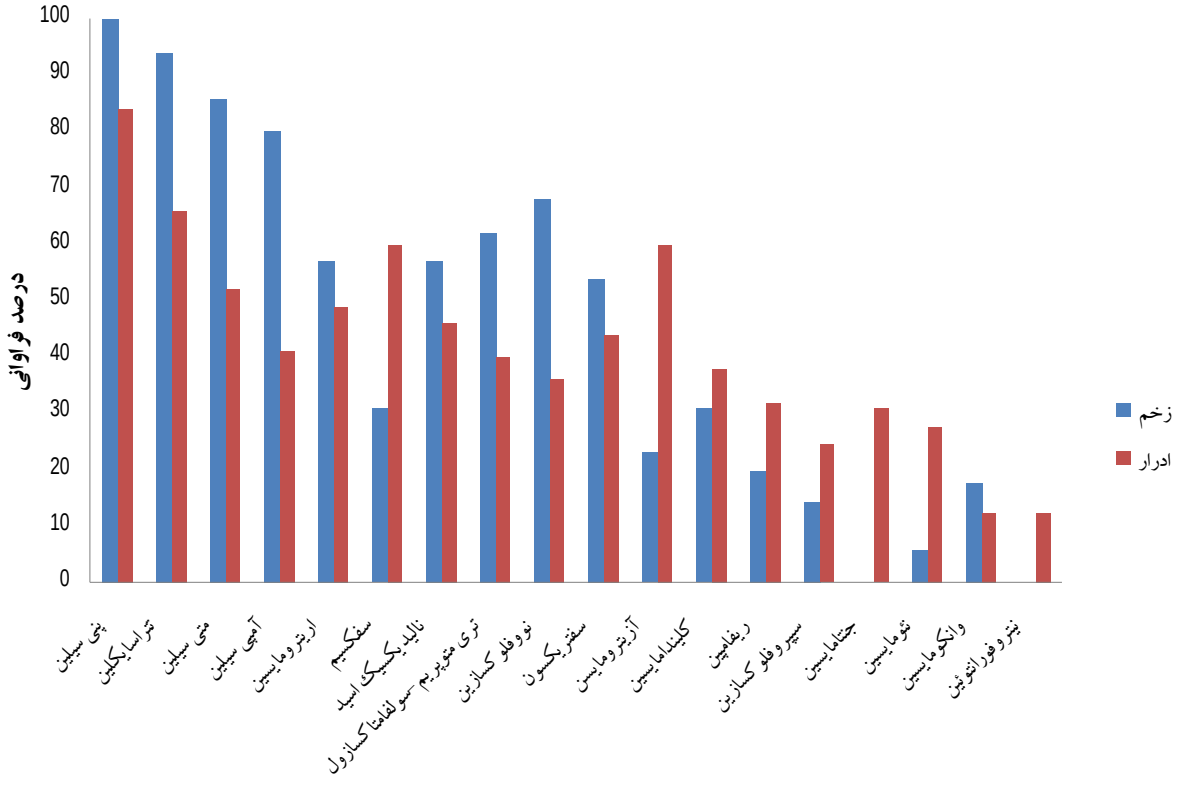
الف) نتایج فنوتیپی مقاومت به آنتی بیوتیک ها: در این مطالعه ارزیابی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های پنی سیلین (۹۰٪)، تتراسایکلین (۷۶٪)، متی سیلین (۶۴٪) و آمپی سیلین (۵۵٪) و کمترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های نیتروفورانتوئین (۸٪) و ونکومایسین (۱۴٪) بوده است.

در مجموع میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های جداسازی شده از نمونه های زخم و ادرار به ترتیب ۴۴/۶٪ و ۴۲/۷٪ بودند ($p> ۰/۰۵$). نتایج نشان داد که سویه های جدا شده از زخم هیچ گونه مقاومتی نسبت به آنتی بیوتیک های جنتامایسین و نیتروفورانتین ندارند (نمودار ۱).

با استفاده از آزمون مربع کای مشخص گردید که بین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های پنی سیلین ($p<۰/۰۴۵$)، سفتری اکسون ($p<۰/۰۰۳$)، نالیدیکسیک اسید ($p<۰/۰۰۱$)، تری متوپریم- سولفامتاکسول ($p<۰/۰۴۹$)، آمپی سیلین ($p<۰/۰۱$)، نیتروفورانتین ($p<۰/۰۰۱$)، سیپروفلوکسازین ($p<۰/۰۰۱$)، نئومایسین ($p<۰/۰۳$)، کلیندامایسین ($p<۰/۰۰۱$)، جنتامایسین ($p<۰/۰۰۱$)، سفکسیم ($p<۰/۰۱۲$)، ریفامپین ($p<۰/۰۴۸$)، اریترومایسین ($p<۰/۰۲۳$)، تتراسایکلین ($p<۰/۰۳۸$)، آزیترومایسین ($p<۰/۰۰۱$) و منبع عفونت (زخم یا ادرار) ارتباط آماری معنی داری وجود دارد. اما این ارتباط در مورد سایر آنتی بیوتیک های مورد بررسی مشاهده نگردید.

بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد، افرادی که دارای سن بالای ۶۰ تا ۸۰ سال بودند بیشترین مقاومت را نسبت به اکثر آنتی بیوتیک ها داشته اند.

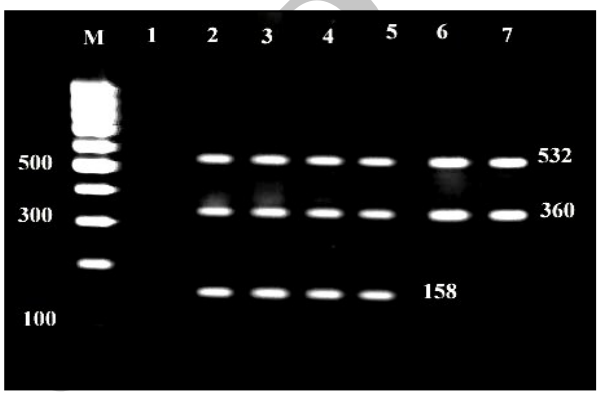
ب) نتایج ژنوتیپی مقاومت به آنتی بیوتیک ها: ارزیابی نتایج الکتروفورز حاصل از تکثیر ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی قطعاتی با طول ۵۳۲، ۳۶۰، ۱۵۸ جفت باز که به ترتیب نشان دهنده حضور ژن های *mecA*، *tetK* و *tetM* در باکتری



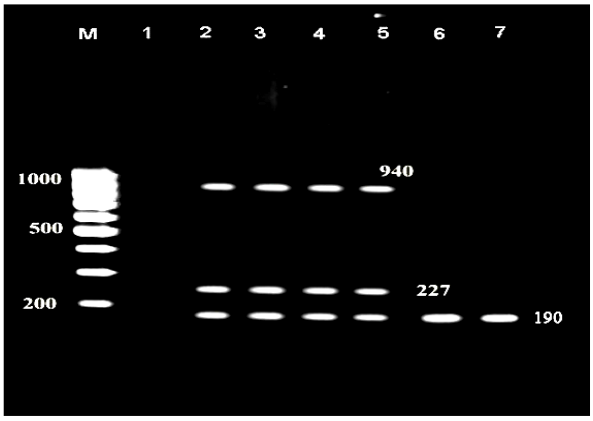
نمودار ۱: مقایسه توزیع فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از زخم و ادرار

www.SID.ir

استافیلوکوکوس اورئوس می باشد را نشان داد (شکل ۱). همچنین نتایج حاصل از تکثیر ژن های *msrA* (۹۴۰ bp)، *aacA-D* (۲۲۷ bp) و *ermA* (۱۹۰ bp) در شکل ۲ نشان داده شده است. ارزیابی توزیع ژن های کد کننده مقاومت آنتی بیوتیکی نشان داد که ژن های *tetM* و *mecA* به ترتیب با فراوانی ۸۹ و ۵۸٪ بیشترین حضور را در سویه های جدا شده از نمونه های زخم و ادرار داشته اند. از طرفی ژن *tetK* با



شکل ۱: نتایج الکتروفورز حاصل از تکثیر ژن های *tetK*، *mecA* و *tetM* با روش multiplex-PCR. M) مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۱) کنترل منفی، ستون های ۲ تا ۷) نشان دهنده حضور ژن های *mecA* (۵۳۲ bp)، *tetK* (۳۶۰bp) و *tetM* (۱۵۸ bp) در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* می باشد.



شکل ۲: نتایج الکتروفورز حاصل از تکثیر ژن های *aacA-D*، *ermA* و *msrA* با روش multiplex-PCR. M) مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۱) کنترل منفی، ستون های ۲ تا ۷) نشان دهنده حضور ژن های *msrA* (۹۴۰ bp)، *aacA-D* (۲۲۷ bp) و *ermA* (۱۹۰ bp) در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* می باشد.

جدول ۲: الگوی توزیع ژن های کد کننده مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از زخم و ادرار

ژن	زخم ۳۵	ادرار ۶۵	جمع ۱۰۰	درصد فراوانی	P-value
mecA	۲۹	۲۹	۵۸	٪۵۸	۰/۱۴۱
aacA-D	۰	۲۴	۲۴	٪۲۴	<۰/۰۰۰
tetK	۹	۴	۱۳	٪۱۳	۰/۰۰۴
tetM	۳۵	۵۴	۸۹	٪۸۹	۰/۰۰۱
msrA	۱۶	۲۰	۳۶	٪۳۶	۰/۰۳۸
ermA	۱۵	۲۵	۴۰	٪۴۰	۰/۰۰۱

فراوانی ۱۳٪ کمترین میزان حضور را به خود اختصاص داده بود (جدول ۲). ژن مقاومت به آمینوگلیکوزیدها (*aacA-D*) در ۲۴٪ از جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* شناخته شد. هیچ کدام از سویه های جداسازی شده از نمونه زخم دارای ژن مقاومتی *aacA-D* نبودند. در روش انتشار دیسک نیز این سویه ها مقاومتی نسبت به آنتی بیوتیک آمینوگلیکوزیدی جنتامایسین نشان ندادند (p<۰/۰۰۱). با استفاده از آزمون مربع کای مشخص گردید که بین حضور ژن های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها، تتراسایکلین ها، کینولون ها و منبع عفونت (زخم و ادرار) ارتباط معنی داری آماری وجود دارد (p<۰/۰۰۱). در حالی که این ارتباط در مورد حضور ژن مقاومت به متی سیلین (mecA) مشاهده نگردید (p<۰/۱۴۱).

جدول۳: مقایسه مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* با دو روش انتشار دیسک و multiplex-PCR

آنتی بیوتیک	مقاومت آنتی بیوتیکی	
	روش انتشار دیسک	روش multiplex-PCR
تتراسایکلین	٪۷۶	*tetK* = ٪۱۳ *tetM* = ۸۹٪
آمینوگلیکوزیدها	جنتامایسین=٪۲۰ نئومایسین=٪۲۰	*aacA*-D= ۲۴٪
ماکرولید	اریترومایسین=٪۵۲ آزیترومایسین=٪۴۷	*ermA*= ٪۴۰ *msrA*= ۳۶٪
متی سیلین	٪۶۴	*mecA*= ٪۵۸

Archive
www.SID.ir

در مطالعه حاضر نتایج حاصل از مقایسه میزان مقاومت آنتی بیوتیکی با دو روش انتشار دیسک و روش مولکولی multiplex- PCR نشان دهنده حساسیت و دقت بالای روش مولکولی نسبت به روش فنوتیپی است (جدول ۳).

بحث

در مطالعه حاضر الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه های زخم و ادرار با دو روش انتشار دیسک و روش مولکولی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق مقاومت بالای آنتی بیوتیکی در ایزوله های بیمارستانی شهرستان کرمانشاه را نشان می دهد. یافته ها مقاومت بالای (۲۸٪) سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* را نسبت به ریفامپین نشان داد. این در حالی است که در مطالعه احمدی شعار (Ahmadishoar) و همکاران در سال ۱۳۸۵ در تبریز هیچ گونه مقاومتی نسبت به آنتی بیوتیک ریفامپین مشاهده نگردید (۲۳). زمانی (Zamani) و همکاران در همین سال در همدان میزان مقاومت به این آنتی بیوتیک را ۸/۲٪ و مرادی (Moradi) و همکاران در سال ۱۳۹۰ مقاومتی بالاتر از ۱۹درصد را گزارش نمودند (۲۴).

میزان مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در *استافیلوکوکوس اورئوس* از کشوری به کشور دیگر و سالی به سال دیگر در حال تغییر است. کشورهای ایتالیا، فرانسه، پرتغال، یونان و اسپانیا سطح بالایی از مقاومت سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به آمینوگلیکوزیدها را گزارش داده اند (۲۵). در مطالعه حاضر مقاومت نسبت به جنتامایسین با روش انتشار دیسک ۲۰٪ اما با روش multiplex-PCR، ۲۴٪ بود. این یافته با نتایج به دست آمده در مطالعه شومیتز (Schmitz) و همکاران در سال های ۱۹۹۸ و ۱۹۹۹ و نیز پژوهش هاوسچیلد (Hauschild) در سال ۲۰۰۸ که میزان مقاومت به جنتامایسین را با روش انتشار دیسک به ترتیب ۲۳٪ و ۲۴٪ گزارش نمودند، مشابهت دارد (۲۶ و ۲۷).

جنتامایسین نقش مهمی در درمان عفونت های شدید استافیلوکوکی دارد و در ترکیب با یک بتالاکتام و یا یک گلیکوپپتید به ویژه در درمان اندوکاردیت استافیلوکوکی مورد استفاده قرار می گیرد. اختلاف در میزان مقاومت به جنتامایسین در روش انتشار دیسک و multiplex-PCR می تواند به دلیل حضور ژن های تغییر دهنده آمینوگلیکوزیدی یا مکانیسم های دیگر مانند کاهش نفوذ پذیری و یا تغییر اهداف ریبوزومی باشد (۲۸).

از سال ۱۹۵۰ ونکومایسین به عنوان یک آنتی بیوتیک برای درمان عفونت های ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* معرفی گردید. افزایش استفاده از این آنتی بیوتیک در درمان بیماری های ناشی از سویه های MRSA موجب ایجاد سویه های مقاوم در *استافیلوکوکوس* های کوآگولاز مثبت و منفی، *کلاستریدیوم دیفیسیل* (*Clostridium difficile*) و *انتروکوک* ها (*Enterococcus*) شده است. در سال ۱۹۹۸ در ژاپن اولین سویه مقاوم به ونکومایسین شناسایی شد (۱۷). با وجود مقاومت روز افزون *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به ونکومایسین این دارو هنوز به عنوان آنتی بیوتیک انتخابی برای درمان عفونت های این باکتری استفاده می شود.

در مطالعه ما میزان مقاومت به ونکومایسین ۱۴٪ بود. در تحقیقی مشابه از کیانی نیا (Kianinia) و همکاران در سال ۲۰۱۳ در شمال غرب ایران میزان مقاومت *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به ونکومایسین ۱۲٪ گزارش شد (۲۹). در حالی که در مطالعه صفدری (Safdari) و همکاران در سال ۲۰۱۲ این مقاومت ۲۰٪ بوده است (۳۰). در بررسی انجام شده توسط الغایتی (Alghaity) در عربستان سعودی از مجموع *استافیلوکوکوس* های جدا شده از افراد بیمارستان و خارج از بیمارستان مقاومتی نسبت به ونکومایسین مشاهده نگردید (۳۱). در مطالعه آکانبی (Akanbi) میزان مقاومت نسبت به ونکومایسین با روش انتشار دیسک ۱۵٪ گزارش شد (۳۲). در مطالعه حاضر میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک پنی سیلین ۹۰٪ بود. این یافته با نتایج به دست آمده در سایر مطالعات انجام شده در ایران هم خوانی دارد (۳۵-۳۳).

در این مطالعه میزان حضور ژن *mecA* در *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین ۵۸٪ بود. این یافته با فراوانی های

Archive of SID
www.SID.ir

گزارش شده در کشورهای ایران (۳۶)، هند (۳۷) و ترکیه (۳۸) هماهنگی دارد. مطالعات نشان می دهد که سویه های MRSA در بیمارستان ها از ۲٪ در سال ۱۹۷۴ به ۵۰٪ در سال ۱۹۹۷ افزایش یافته است (۳۷). با این وجود در تحقیق ال-رویلی (Al-Ruaily) و همکاران در سال ۲۰۰۲ تنها ۱۳٪ از سویه ها دارای ژن *mecA* بودند (۳۹).

شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین گاهی اوقات به دلیل بیان ناهمگن مقاومت پیچیده است و تاثیر پذیر از متغییر هایی مانند pH ، دما و غلظت نمک می باشد (۴). در میان سویه هایی که با روش فنوتیپی مقاوم به متی سیلین هستند، درصد کمی ژن *mecA* را حمل می کنند. این تفاوت ها ناشی از توزیع متفاوت این ژن در مکان های گوناگون، روش بیان آن ها و متفاوت بودن مکان های نمونه گیری است (۴۰).

حضور بالای ژن *mecA* در سویه های جدا شده از زخم نگران کننده است. در این تحقیق ۸۹٪ از سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از زخم ژن *mecA* را دارا بودند. در مطالعه آکپاکا (Akpaka) بیشترین موارد شناسایی سویه های MRSA از نمونه های زخم و مربوط به بخش جراحی بود (۴۱). در مطالعه کیانی نیا (Kianinia) بیشترین میزان حضور ژن *mecA* در نمونه های لوله تراشه و بینی گزارش گردید و نمونه زخم کمترین فراوانی را از نظر حضور ژن *mecA* داشت (۲۹).

در پژوهش حاضر مقاومت نسبت به اریترومایسن و آزیترومایسین در روش فنوتیپی به ترتیب ۵۲٪ و ۴۸٪ گزارش شد. که با نتایج آدالتی (Adaleti) و همکاران در سال ۲۰۱۰ در ترکیه مشابه بود (۴۲). همچنین حضور ژن های *ermA* و *msrA* برای مقاومت به اریترومایسین به ترتیب ۴۰٪ و ۳۶٪ بود. این یافته با نتایج دوران (Duran) و همکاران در سال ۲۰۱۲ در بیمارستان های ترکیه که تنها ۱۳٪ از سویه ها واجد ژن *msrA* را حمل می کردند، مغایرت دارد (۴۳).

آنتی بیوتیک تتراسایکلین بیش از ۵۰ سال است که در پزشکی مورد استفاده قرار می گیرد. مقاومت به این آنتی بیوتیک برای اولین بار در اواسط سال ۱۹۵۰ مشخص شد (۴۴). در مطالعه ما میزان مقاومت به تتراسایکلین با روش انتشار دیسک ۷۶٪ بود. اما در روش multiplex-PCR، ۸۹٪ از سویه ها ژن *tetM* و ۱۳٪ ژن *tetK* را برای مقاومت به تتراسایکلین دارا بودند. این یافته نشان دهنده دقت و حساسیت بالای روش multiplex-PCR نسبت به روش آنتی بیوگرام می باشد.

در مطالعه صدری (Sadri) و همکاران میزان مقاومت به تتراسایکلین با روش انتشار دیسک ۴۲٪ گزارش شد (۳۴). با توجه به نتایج منفی کاذب در این تحقیق، روش انتشار دیسک کارایی کمتری نسبت به روش های ژنوتایپی دارد. اما به دلیل هزینه بالا، امکانات ویژه و نبود پرسنل مجرب امکان انجام PCR به طور روزمره در آزمایشگاه های معمولی وجود ندارد.

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان دهنده مقاومت بالای سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به آنتی بیوتیک های ریفامپین، ونکومایسین، متی سیلین و تتراسایکلین است. بنابراین به منظور جلوگیری از افزایش مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های یاد شده و نیز سایر آنتی بیوتیک های رایج باید از تجویز بدون نسخه و استفاده غیر ضروری از آنتی بیوتیک های در دسترس خودداری نمود.

به منظور جلوگیری از مقاومت دارویی پیشنهاد می گردد که قبل از استفاده از آن ها از تست آنتی بیوگرام استفاده شود. همچنین بر اساس یافته های ما در این مطالعه می توان روش multiplex-PCR را به عنوان روشی سریع و دقیق جهت تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در *استافیلوکوکوس اورئوس* معرفی نمود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از جناب آقای مهندس منوچهر مؤمنی کارشناس محترم آزمایشگاه صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

Archive of SID
www.SID.ir

References

1. Hamdan– Partida A, Sainz-Espunes T, Bustos-Martinez J. Characterization and persistence of *Staphylococcus aureus* strains isolated from the anterior nares and throats of healthy carriers in a Mexican community. J Clin Microbiol. 2010; 48(5): 1701-1705.

2. Holden MT, Feil EJ, Lindsay JA, Peacock SJ, Day NP, Enright MC, Foster TJ, Moore CE, Hurst L. Complete genomes of two clinical *staphylococcus aureus* strain. Proc Natl Acad Sci USA. 2004; 101(26): 9786-9791.

3. Shittu AO, Okon K, Adesida S, Oyedara O, Witte W, Strommenger B, Layer F, Nubel U. Antibiotic resistance and molecular epidemiology of *staphylococcus aureus* in Nigera. BMC Microbiol. 2011; 11: 92.

4. de Carvalho MJ, Pimenta FC, Hayashida M, Gir E, da Silva AM, Barbosa CP, Canini SR, Santiago S. Prevalence of methicillin-resistant and methicillin susceptible *S. aureus* in the saliva of health professionals. Clinics (Sao Paulo). 2009; 64(4): 295-302.

5. Espinal MA, Laszlo A, Simonsen L, Boulahbal F, Kim SJ, Reniero A, Hoffner S, Rieder HL, Binkin N, Dye C, Williams R, Raviglione MC. Global trends in resistance to anti tuberculosis drugs. New Engl J Med. 2001; 344: 1294-1303.

6. Livermore DM. Antibiotic resistance in *staphylococci*. Int J Antimicrob Agents. 2000; Suppl 1: S3-10.

7. Mc Dougal LK, Thornsberry C. The role of beta-lactamase in staphylococcal resistance to penicillinase-resistant penicillins and cephalosporins. J ClinMicrobiol.1986. 23:832-839.

8. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. J Clin Invest. 2003; 111(9): 1265-1273.

9. Robinson DA, Enright MC. Evolutionary models of the emergence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2003; 47: 3926-3934.

10. Oliveira DC, Lencastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the *mec* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2002; 46: 2155-2161.

11. Goetghebeur M, Landry PA, Han D, Vicente C. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a public health issue with economic consequences. Can J Infect Dis Med Microbial. 2007; 18(1): 27-34.

12. Robinson DA, Enright MC. Multilocus sequence typing and the evolution of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Infect. 2004; 10(2): 92-97.

13. Coello R, Jimenez J, Garcia M, Arroyo P, Minguez D, Fernandez C, Cruzet F, Gaspar C. Prospective study of infection colonization and carriage of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in an outbreak affecting 990 patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1994; 13: 74-81.

Archive of SID

www.SID.ir

14. Assadullah S, Kakru DK, Thoker MA, Bhat FA, Hussai N, Shah A. Emergence of low level vancomycin resistance in MRSA. Indian J Med Microbiol. 2003; 21: 196-198.

15. Cui L, Ma X, Sato K, Okuma K, Tenover FC, Mamizuka EM, Gemmell CG, Kim MN, Poly MC, El-Solh N, Ferraz V, Hiramatsu K. Cell wall thickening is a common feature of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2003; 41(1): 5-14

16. Chandrakanth RK, Raju S, Patil SA. Aminoglycoside- resistance mechanisms in multidrug resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. Curr Microbiol. 2008; 56(6): 558-562.

17. Perez-Vazquez M, Vindel A, Marcos C, Oteo J, Cuevas O, Trincado P, Bautista V, Grundmann H, Campos J. Spread of invasive Spanish *Staphylococcus aureus* spa-type t067 associated with a high prevalence of the aminoglycoside-modifying enzyme gene ant (4')-Ia and the efflux pump genes *msrA/msrB*. J Antimicrob Chemother. 2009; 63(1): 21-31.

18. Rahimi-Alang S, Asmar M, Cheraghali F, Yazarlou S, Amini A, Shakeri F, Ghaemi EA. Frequency of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in health care workers in Gorgan. Zahedan J Res Med Sci. 2010; 13(1): 17-22. [In Persian]

19. Moradi N, Javadpour S, Karmostaji A. Reduced sensitivity of Staphylococcus aureus to vancomycin. Hormozgan Uni Med Sci. 2011: 15(3): 169-177. [In Persian]

20. Wayne PA. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. 17th ef. USA. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 2007. CLSI/NCCLS document M100S17.

21. Thong KL, Junnie J, Liew FY, Yusof MY, Hanifah YA. Antibiograms and molecular subtypesof methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in local teaching hospital, Malaysia. J Microbiol Biotechnol 2009; 19(10): 1265-1270.

22. Heidari M, Momtaz H, MadaniM. Detection of the antibiotic resistance genes in *Staphylococcus aureus* isolated from human infections and bovine mastitis. Afr J Microbiol Res. 2011; 5(28): 5132-5136.

23. Ahmadishoar SH, Nahaei MR, Amirmozafari N. Sensitivity of strains isolated from clinical specimens against vancomycin using E-test in Tabriz. J Tabriz Uni Med Sci. 2008; 30(2): 17-23. [In Persian]

24. Zamani A, Sadeghian S, Qaderkhani J. Evaluation of *mecA* in *S. aureus* by PCR and resistance rate. JHUMS. 2008; 14(3): 54-58. [In Persian]

25. Liakopoulos A, Foka A, Vourli S, Zerva L, Tsiapara F, Protonotariou E, Dailiana Z, Economou M, Papoutsidou E, Koutsia Carouzou C, Anastassiou ED, Diza E, Zintzaras E, Spiliopoulou I, Petinaki E. Aminoglycoside-resistant staphylococci in Greece: prevalence and resistance mechanisms. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2011; 30(5): 701-705.

26. Schmitz FJ, Fluit AC, Gondolf M, Beyrau R, Lindenlauf E, Verhoef J, Heinz HP, Jones ME. The prevalence of aminoglycoside resistance genes. J Antimicrob Chemother. 1999; 43: 253-259.

27. Hauschild T, Sacha P, Wieczorek P, Zalewska M, Kaczyñska K, Tryniszewska E. Aminoglycosides resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from a University

Archive of SID

www.SID.ir

Hospital in Bialystok, Poland. Folia Histochem Cytobiologica. 2008; 46(2): 225-228.

28. Vanhoof R, Godard C, Content J, Nyssen HJ, Hannecart-Pokorni E. Detection by polymerase chain reaction of genes encoding aminoglycoside- modifying enzymes in methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* isolates of epidemic phage types. J Med Microbiol. 1994; 41(4): 282-290.

29. KianiNia M, Hasani A, Hasani A, Sharifi Y, Mirza Ahmadi S, Deghani L. Investigation and identification of the *nuc*, *fem* B *mec*A and *aac(6')/aph(2'')-Ia* genes in the *Staphylococcus aureus* isolated from Northwest Iran by multiplex PCR method .Med J Tabriz Uni Med Sci. 2013; 35(1): 68-73. [In Persian]

30. Safdari H, Sadeghian A, Tahaghogi S. The antibiotic resistance pattern of *Staphylococcus aureus* isolated from patients in Quaem University Hospital during 2009-2011. J Paramedical Rehabilitation Sci Mashhad. 2012; 1(1): 43-46. [In Persian]

31. Alghaity AA, Nasal carriage andantibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates from hospital and non-hospital personnel in Abha, Saudi Arabia. Trans Soc Trop Med Hyg. 2000. 94: 504-507.

32. Akanbi BO, Mbe J. Occurrence of methicillin and vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* in University of Abuja teaching Hospital, Abuja, Nigeria. Afr J Clin Exper Microbiol. 2013; 14(1): 10-13.

33. Darabi N, Habibollahi H, Shahbabian K. Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* isolated from patients and personnel in Army hospital. JAUMS. 2010; 8(3): 193-199. [In Persian]

34. Saderi H, Owlia P, Shahrbanooie R. Vancomycin resistance among clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. Arch Iranian Med. 2005; 8(2): 100-103. [In Persian]

35. Saffari M1, Jokar M1, Shajary GR1, Piroozmand A1, Mousavi G. Minimum inhibitory concentration of vancomycin in *Staphylococcus aureus* isolates collected from clinical samples of Shahid Beheshti hospital, Kashan during 2009. Feyz J Kashan Uni Med Sci. 2010; 14(3): 234-241. [In Persian]

36. Zeinali E, Moniri R, Safari M, Mousavi GA. Molecular characterization and SCCmec typing in meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples. Feyz J Kashan Uni Med Sci 2011; 14(4): 439-446. [In Persian]

37. AK SK, Shetty PJ, Y LS, Chidambaram A, Ranganathan R. Detection of *mecA* genes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by PCR. Int J Health Rehabil Sci. 2012; 1(2): 64-68.

38. Tuncer I, Kalem F, Çosar M and Arslan U. Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bloodstream infections. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2009; 39 (1-2): 22-26.

39. Al-Ruaily, Khalil OM. Detection of *mecA* gene in methicillin resistant *Staphylococcu aureus* (MRSA) at Prince A / Rhman, Sidery Hospital, Al-Jouf, Saudi Arabia. J Med Genet Genomic. 2011; 3(3): 41-45.

40. Hiramatsu K, Suzuki E,Takayama H, Katayama Y, Yokota T. Role of penicillinase plasmids in

Archive of SID

www.SID.ir

the stability of the mecA gene in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother.1990: 34(4): 600-604.

41. Akpaka P E, Kissoon S, Swanston WH, Monteil M. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Trinnidad and Tobage. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2006: 3(5): 16.

42. Adaleti R, Nakipoglu Y, Ceran N, Tasdemir C, Kaya F, Tadsemir S. Prevalence of phenotypic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates to macrolide, lincosamide, streptogramin B, ketolid and linezolid antibiotics in Turkey. Braz J Infect Dis. 2010; 14(1): 11-14.

43. Duran N, Ozer B, Duran GG, Onlen Y, Demir C. Antibiotic resistance genes and susceptibility patterns in staphylococci. Indian J Med Res. 2010; 135: 389-396.

44. Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. Microbiol Mol Biol Rev. 2001; 65(2): 232-260.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Microbial World
Volume 6, No. 4, January 2014

Original Article

Detection of the antibiotic resistance pattern in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples obtained from patients hospitalised in Imam Reza hospital, Kermanshah

Zeinab Ahmadi[1], Elaheh Tajbakhsh[2], Hassan Momtaz[3]

[1]MS.c., Department of Microbiology, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.
[2]Assistant Professor, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.
[3]Associate Professor, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.

Archive of SID

Abstract

Background and Objectives: *Staphylococcus aureus* is one of important etiology of contagious infections in community and hospital (nosocomial infections). Nowadays, an intensive increases in the antibiotic resistance is recorded due to increase in the rate of antibiotic usages worldwide. This study was conducted to track the antibiotic resistant genes in the *S. aureus* strains isolated from clinical specimens obtained from humans and to determine the antibiotic sensitivity pattern or the strains.

Materials and Methods: In this cross-sectional study, 100 coagulase-positive *S. aureus* collected from urinary tract infections and skin wounds of the patients hospitalised in the Imam Reza hospital, Kermanshah, through 2012. These strains were selected using laboratory standard methods and culture-specific. The antibiotic susceptibility testing was performed using disk diffusion on plate. Furthermore, the presence of 5 genes responsible for antibiotic resistance, including *mecA, aacA-D, tet K, tet M, msrA, ermA*, were investigated using multiplex-PCR method.

Results: Based on the phenotypic investigation on antibiotic resistance of *S. aureus* strains, the highest rates were seen in treatment with penicillin (90%), tetracycline (76%), methicillin (64%), ampicillin (55%) while the lowest sensitivity was observed in treatment with nitrofurantoin (8%) and vancomycin (14%). The most prevalent gene was *tetM* (89%), followed by *mecA* (58%), *ermA* (40%), *msrA* (36%), *aacA-D* (24%) and *tetK* (13%).

Conclusion: Our result showed high rates of antibiotic resistance in the *S. aureus* isolated from this hospital. Therefore, it is recommended to limit the antibiotic uses without prescription or in unnecessary cases in order to decrease rate of microbial resistance to antibiotics.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, MRSA, Antibiotic resistance.

Correspondence to: Zeinab Ahmadi

Tel: +989376982298

E-mail: zeinab_ahmadi1362@yahoo.com

Journal of Microbial World 2014, 6(4): 299-311.

www.SID.ir