



فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و شناسایی ژن *mecA* با روش واکنش زنجیره ای پلی‌مرز در نمونه‌های بالینی بیمارستان آیت ... موسوی زنجان

رسول شکری^۱، مجتبی صلوتی^{۲*}، رحیم سروری زنجان^۳، زهرا حیدری^۴

^۱ کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات فارس، گروه میکروب شناسی، آدانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان، مرکز تحقیقات بیولوژی، گروه فیزیکی پزشکی، ^۲ دانشیار، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، گروه میکروب شناسی، ^۳ کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان، مرکز تحقیقات بیولوژی، گروه بیوشیمی

چکیده

سابقه و هدف: امروزه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین به دلیل مقاومت به عوامل و داروهای ضد میکروبی به یکی از نگرانی‌های عمده سلامت عمومی تبدیل شده است. این مطالعه با هدف بررسی فراوانی و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در نمونه‌های بالینی جمع‌آوری شده از بیمارستان آیت ... موسوی زنجان و شناسایی ژن *mecA* با روش واکنش زنجیره ای پلی‌مرز انجام شده است.

مواد و روش‌ها: این پژوهش به صورت مقطعی - توصیفی بر روی ۱۷۶ نمونه بالینی جمع‌آوری شده از بخش‌های مختلف بیمارستان آیت ... موسوی زنجان انجام شد. پس از شناسایی سویه‌ها، مقاومت جدایه‌ها نسبت به ۱۲ نوع آنتی‌بیوتیک با روش انتشار دیسک بررسی گردید. در نهایت پس از استخراج DNA، با استفاده از روش PCR، ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*) مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: از مجموع نمونه‌های مورد بررسی ۲۵/۵۶ درصد (۴۵ مورد) آلوده به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بودند. از این میان به کمک روش PCR مشخص گردید که ۲۶ مورد (۵۷/۷۷٪) حاوی ژن مقاومت به متی‌سیلین می‌باشند. بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که سویه‌ها بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰۰٪) و کلواگزاسیلین (۸۰/۷۶٪) و کمترین میزان را نسبت به ونکومايسين (۷/۶۹٪) دارند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد که میزان شیوع باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه‌های بیمارستانی قابل توجه بوده و مقاومت به متی‌سیلین در سویه‌های این باکتری افزایش یافته است. این امر می‌تواند به عنوان یک هشدار در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری مطرح باشد.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، ژن *mecA* واکنش زنجیره ای پلی‌مرز.

پذیرش برای چاپ: بهمن ماه ۹۲

دریافت مقاله: آذر ماه ۹۲

مقدمه
این باکتری به واسطه توانایی ذاتی و کسب مقاومت نسبت به عوامل و داروهای ضد میکروبی به یکی از نگرانی‌های عمده سلامت عمومی تبدیل شده است (۲). استافیلوکوکوس اورئوس باکتری گرم مثبت، کاتالاز مثبت، هوازی و بی‌هوازی اختیاری و بدون اسپور می‌باشد که در بخش‌های بینی و

استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) یکی از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی است (۱).

(* آدرس برای مکاتبه: زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، مرکز تحقیقات بیولوژی، گروه فیزیکی پزشکی تلفن: ۰۹۱۲۱۴۵۴۹۵۴ پست الکترونیک: saloutim@yahoo.com

در دیواره باکتری می‌باشد. سویه‌هایی که دارای این ژن هستند به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های دیگر نیز مقاومت نشان می‌دهند (مقاومت چند دارویی). این امر موجب بروز مشکلات فراوان در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری گردیده و باعث شیوع هرچه بیشتر آن در جامعه شده است. در باکتری‌های حساس فاقد این ژن، متی‌سیلین با میل ترکیبی بیشتری به پروتئین PBP دیواره سلولی متصل می‌شود که سبب تخریب دیواره باکتری و سرانجام مرگ آن می‌گردد (۸). به دلیل بیان غیر یکنواخت ژن *mec-A* تست‌های تشخیصی و سنجش حساسیت ضد میکروبی معمولی در تشخیص دقیق باکتری و مقاومت به متی‌سیلین ناتوانند. بنابراین لازم است برای تشخیص دقیق و کنترل بیماری از روش‌های دقیق، سریع و اختصاصی‌تر مانند واکنش زنجیره ای پلی‌مراز (PCR) استفاده گردد (۹). هدف از این پژوهش بررسی فراوانی و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در نمونه‌های بالینی جدا شده از بیمارستان آیت ... موسوی زنجان و شناسایی ژن *mec A* با روش PCR بود.

مواد و روش‌ها

الف) نمونه برداری: در این مطالعه مقطعی - توصیفی تعداد ۱۷۶ نمونه بالینی شامل نمونه خون، زخم، مایع مغزی نخاعی، ادرار، خلط، مدفوع، ریه و غیره از بخش‌های مختلف بیمارستان آیت ... موسوی زنجان شامل ICU، زنان، اورژانس، جراحی عمومی، اطفال، بلوک زایمان، نوزادان، سوختگی، اورولوژی، قلب و اورتوپدی مردان در فاصله زمانی دی ماه ۱۳۹۰ تا اسفند ماه ۱۳۹۱ جمع‌آوری گردید. نمونه‌های بیماران بر روی محیط‌های آگار خوندار و مانیتول سالت آگار کشت و در دمای ۳۷ درجه به مدت ۴۸ ساعت گرماگذاری شدند. به منظور تشخیص افتراقی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس از آزمون‌های بیوشیمیایی شامل کاتالاز، کوآگولاز، تخمیر قند مانیتول و DNase استفاده گردید (۱۰).

ب) آزمون حساسیت میکروبی: در این مطالعه حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس با روش انتشار

پوست (به ویژه پوست آسیب دیده)، واژن، زیر بغل، ناحیه پرینه، ناف نوزادان تازه متولد شده و اوروفارنکس مستقر می‌شود (۳ و ۴). در سال ۱۹۶۱ اولین سویه استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (*Meticillin resistant Staphylococcus aureus*) در اروپا شناسایی شد. از آن زمان تاکنون و به خصوص در دو دهه گذشته شیوع این سویه در بسیاری از نقاط جهان افزایش یافته است (۵). مطالعه‌ای در آمریکا نشان می‌دهد که شیوع عفونت‌های نازوفارنکس ایجاد شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین از ۱۴/۳ درصد در سال ۱۹۸۷ به ۳۹/۷ درصد در سال ۱۹۹۷ افزایش پیدا کرده است. از طرفی میزان عفونت این باکتری در بیمارستان‌ها از ۲۴ درصد در سال ۱۹۷۴ به ۵۰ درصد در سال ۱۹۹۷ رسیده است (۶). بررسی‌ها در سایر نقاط جهان نیز نشان از افزایش سال به سال این سویه دارند. برای مثال در تحقیقی که در سال ۲۰۰۱ در کانادا صورت گرفت از ۳۰۹ ایزوله بالینی، ۲۱۳ مورد سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (۶۸/۹ درصد) و بقیه سویه استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی‌سیلین تشخیص داده شدند. بررسی‌های انجام شده در ایران نیز نتایج مشابهی را نشان می‌دهد (۶).

این باکتری به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها، خصوصاً بتالاکتام‌ها (پنی‌سیلین، متی‌سیلین، نافی‌سیلین و آگزاسیلین)، پنی‌سیلین‌های نیمه سنتتیک، سفالوسپورین‌ها، کارباپنم‌ها و پنم‌ها مقاومت نشان می‌دهد. عفونت‌های ناشی از این باکتری حتی می‌توانند موجب مرگ بیماران مبتلا به آن نیز گردند. بنابراین افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی یک نگرانی محسوب شده و بایستی کنترل گردد. مقاومت به متی‌سیلین مستقل از تولید آنزیم بتا لاکتاماز بوده و شیوع آن در کشورها و زمان‌های مختلف متفاوت است (۷). سویه‌های استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین دارای ژن *mec A* می‌باشند. این ژن پروتئینی به نام PBP2a (پروتئین‌های باند شونده به پنی‌سیلین) را کد می‌نماید که میل ترکیبی آن در اتصال به متی‌سیلین کمتر از سایر پروتئین‌های متصل شونده به پنی‌سیلین

و در ادامه ۳۰ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۵۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه انجام شد. محصول نهایی PCR در ژل آگارز ۱ درصد مورد الکتروفورز قرار گرفت. پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید با استفاده از اشعه UV مورد بررسی قرار گرفت (۶). در این مطالعه از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین سویه ATCC 49476 به عنوان کنترل مثبت و از استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین سویه ATCC 25923 به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

د) آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نسخه هجدهم نرم افزار SPSS و آزمون آماری ANOVA انجام گرفت. مرز معنی داری روی $P < 0.05$ قرار داده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه از مجموع ۱۷۶ نمونه مورد بررسی، ۴۵ نمونه (۲۵/۵۶٪) آلوده به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بودند. بیشترین میزان باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه‌های ادرار و خون به ترتیب با فراوانی ۳۸/۴۶ و ۳۴/۶۱ درصد مشاهده گردید. همچنین بیشترین میزان جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین مربوط به بخش‌های اورژانس (۲۳/۰۷٪) و ICU (۱۹/۲۳٪) بود (جدول ۱). ارزیابی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که سویه‌های جداسازی شده به ترتیب بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰۰٪)، گلوکوزاسیلین (۸۰/۷۶٪)، تتراسایکلین (۶۵/۳۸٪)، اریترومايسين (۶۱/۵۳٪)، کوتریموکسازول (۵۷/۶۹٪)، سفالوتین (۵۰٪) و کمترین میزان مقاومت را نسبت به اگزاسیلین (۴۶/۸۸٪)، سفنازیدیم (۴۶/۱۵٪)، جنتامایسین (۴۲/۳۰٪)، ریفامپین (۳۶/۳۹٪) و سیپروفلوکساسین (۳۰/۴۲٪) و ونکومايسين (۷/۶۹٪) داشتند. در این مطالعه ارتباط معنا داری بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و

دیسک طبق توصیه مؤسسه استاندارد آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) نسبت به ۱۲ آنتی‌بیوتیک شامل سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، اگزاسیلین (۱ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، اریترومايسين (۱۵ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۱۲/۵ میکروگرم)، ریفامپین (۳۰ میکروگرم)، ونکومايسين (۳۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ واحد)، سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفالوتین (۳۰ میکروگرم) و کلوگزاسیلین (۵ میکروگرم) (پادتن طب، ایران) مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۱). نتایج پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش گردید. مقاومت سویه‌های مورد نظر نسبت به اگزاسیلین در واقع نشان دهنده مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مانند پنی‌سیلین‌ها، متی‌سیلین و سفالوسپورین می‌باشد. پس از تایید مقاومت، انواع سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین به عنوان باکتری مورد نظر برای مراحل بعدی نگهداری شدند (۷).

ج) واکنش زنجیره ای پلی‌مراز (PCR): ابتدا سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین به صورت انبوه در محیط تریپتیک سوی براث به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرم‌گذاری شدند. سپس برای استخراج DNA از روش جوشاندن (boiling) استفاده شد (۱۱). به منظور ردیابی ژن *mecA* از پرایمرهای اختصاصی شامل *mecA* Reverse: AGT TCT GCA GTA CCG GAT TTGC و *mecA* Forward: AAA ATC GAT GGT AAA GGT TGGC (سیناژن، ایران) استفاده شد. واکنش زنجیره ای پلی‌مراز با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر بافر $10 \times$ ، ۲/۴ میکرولیتر dNTP (۱۰ میلی‌مولار)، ۲ میکرولیتر کلرید منیزیم (۵۰ میلی‌مولار)، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر (۱۰ میلی‌مولار)، ۲ میکرولیتر آنزیم Taq پلیمرز، ۱ میکرولیتر الگو DNA و ۸/۶ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر انجام گرفت.

در ادامه واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Model PC818, AsTec Company, Japan) با شرایط دمایی ۴ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد

جدول ۱: توزیع فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و نوع نمونه در بخش‌های مختلف بیمارستان

بخش	نمونه	خون	ریه	ادرار	CSF	خلط	مدفوع	زخم	اورئوس مقاوم به متی‌سیلین	اورئوس حساس به متی‌سیلین
ICU	۳	۰	۰	۲	۰	۰	۰	۰	۵ (۲۳/۱۹٪)	۳ (۱۵/۷۸٪)
زنان	۰	۰	۰	۳	۰	۰	۰	۰	۳ (۵۳/۱۱٪)	۲ (۱۰/۵۲٪)
اورژانس	۰	۰	۲	۲	۰	۰	۰	۲	۶ (۰۷/۲۳٪)	۴ (۲۱/۰۵٪)
جراحی عمومی	۳	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۳ (۵۳/۱۱٪)	۱ (۵/۲۶٪)
اطفال	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱ (۸۴/۳٪)	۱ (۵/۲۶٪)
نوزادان	۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲ (۶۹/۷٪)	۴ (۲۱/۰۵٪)
بلوک زایمان	۰	۰	۰	۱	۰	۰	۰	۰	۱ (۸۴/۳٪)	۲ (۱۰/۵۲٪)
سوختگی	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲	۲ (۶۹/۷٪)	-
اورولوژی	۰	۰	۰	۲	۰	۰	۰	۰	۲ (۶۹/۷٪)	۲ (۱۰/۵۲٪)
قلب	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	-	-
ارتوپدی مردان	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۱ (۸۴/۳٪)	-
جمع کل	۹	۰	۲	۱۰	-	-	-	۵	۳۶ (۱۰۰٪)	۱۹ (۱۰۰٪)
	(۳۴/۶۱٪)	(۷/۶۹٪)	(۲۷/۶۹٪)	(۳۸/۴۶٪)				(۱۹/۲۳٪)		

داشتند. از طرفی مقاومت به متی‌سیلین در مقایسه با سایر آنتی

بیوتیک‌ها درصد بالایی را نشان می‌داد (۶).

در مطالعه‌ای که مرادی (Moradi) و همکاران در سال ۲۰۱۲ بر روی ۱۰۴ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس انجام دادند مشخص گردید که سویه‌ها کمترین مقاومت (۳/۸٪) را نسبت به آنتی بیوتیک ونکومايسين داشتند. از طرفی ۴۰/۴ درصد از سویه های استافیلوکوکوس اورئوس به متی‌سیلین مقاوم بودند (۱۲).

این یافته‌ها با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر هم خوانی دارد. از آنجایی که در مطالعه حاضر سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین به آنتی بیوتیک ونکومايسين حساسیت دارند، مصرف بی‌رویه این آنتی بیوتیک در درمان مبتلایان به عفونت ناشی از این باکتری می‌تواند عواقب خطرناکی مانند افزایش سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین و ونکومايسين و عدم درمان مناسب بیماران را به همراه داشته باشد. رضازاده (Rezazadeh) و همکاران در سال ۲۰۱۳ در مطالعه‌ای در اراک نشان دادند که ۸۰ درصد از سویه‌های جداسازی شده از عفونت‌های بیمارستانی نسبت به متی‌سیلین مقاوم بوده‌اند. همچنین تمامی سویه‌ها نسبت به آنتی بیوتیک موپروسين حساسیت داشتند (۱۳). در پژوهش حاضر بیشترین میزان جداسازی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به

سویه‌های جداسازی شده مشاهده گردید ($P < 0.05$).

همچنین نتایج حاصل از PCR نشان داد که از ۴۵ سویه جداسازی شده، ۲۶ سویه (۵۷/۷۷ درصد) دارای ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mec A*) بودند.

بحث

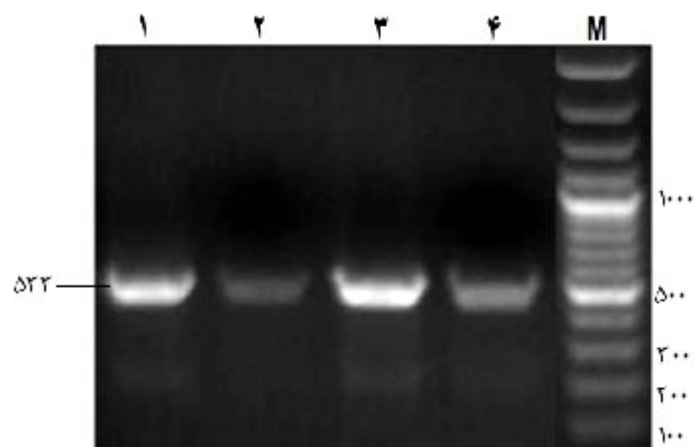
در مطالعه حاضر، الگوی حساسیت ضد میکروبی سویه‌های مختلف استافیلوکوکوس اورئوس و فراوانی ژن مقاومت به متی‌سیلین با روش PCR بررسی گردید. در پژوهش حاضر از مجموع ۴۵ سویه جداسازی شده، ۲۶ سویه (۵۷/۷۷ درصد) دارای ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mec A*) بودند. همچنین بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی نشان داد که بیشترین مقاومت دارویی نسبت به پنی‌سیلین (۱۰۰ درصد) و کلوزاسیلین (۸۰/۷۶ درصد) و کمترین میزان مقاومت، مربوط به ونکومايسين (۷/۶۹ درصد) بوده است.

زمانی (Zamani) و همکاران در سال ۲۰۰۶ در همدان، مطالعه‌ای بر روی ۷۰ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس انجام دادند. یافته‌های آنها نشان داد که ۵۰ درصد از سویه‌های جداسازی شده دارای ژن مقاومت به متی‌سیلین بودند. همچنین ۵۰ درصد از سویه‌ها نسبت به آنتی بیوتیک سفوکسیتین مقاوم

از نتیجه حاصل از تحقیق حاضر می‌باشد (۱۷). در تحقیقی که سکوسکا (Cecovsca) و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام دادند، روش‌های مختلف بررسی مقاومت دارویی شامل روش انتشار در آگار، رقت در برات و رقت در آگار با روش PCR مورد مقایسه قرار گرفتند. این تحقیق بر روی ۱۲۰ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس به دست آمده از بیماران بستری شده در بیمارستان انجام گرفت و نتایج نشان داد که ترکیبی از روش‌های مورد اشاره می‌تواند با دقت بالایی باعث شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین گردد (۱۸). در سال ۲۰۰۹ زاهان (Zahan) و همکاران، برای بررسی مقاومت به متی‌سیلین در ۴۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی، روش‌های PCR و انتشار در آگار را انجام دادند. نتایج روش انتشار در آگار نشان داد که ۳۷ درصد از سویه‌های مورد بررسی مقاوم به متی‌سیلین می‌باشد در صورتی که در روش PCR ۲۵ درصد سویه‌ها دارای ژن مقاومت به متی‌سیلین می‌باشند (۱۹) در مجموع نتایج به دست آمده در مطالعات یاد شده نشان می‌دهد که شیوع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و سایر آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله بتالاکتام‌ها، آمینوگلیکوزیدها، ماکرولیدها و کوئینولون‌ها در حال افزایش بوده و این امر می‌تواند خطری جدی در افزایش عفونت‌های ناشی از این باکتری محسوب شود. همچنین با توجه به موارد زیاد مقاومت به آنتی‌بیوتیک

متی‌سیلین مربوط به نمونه‌های ادرار و خون به ترتیب با فراوانی ۳۸/۴۶ و ۳۴/۶۱ درصد بود. واعظ (Vaez) و همکاران در سال ۲۰۱۰ در گرگان بیشترین استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین را از نمونه ادرار (۳۶/۵۳٪) جداسازی نمودند. همچنین نتایج آنها نشان داد که سویه‌ها بیشترین مقاومت را به ترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰۰ درصد)، کوآموکسی‌کولوا (۹۶/۷ درصد)، سفوتاکسیم (۷۱/۴ درصد) و اریترمایسین (۶۴/۳ درصد) داشتند (۱۴). این یافته‌ها با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. در مطالعه کورن (Korn) و همکاران در سال ۲۰۰۱ در برزیل، تعداد حاملین سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین ۴۶ درصد گزارش گردید (۱۵). این میزان از فراوانی به دست آمده در مطالعه حاضر بیشتر است.

هوواری (Hwwari) و همکاران در سال ۱۹۹۸ در آمریکا از مجموع ۸۷۵ بیمار بستری در بخش ICU، میزان حاملین سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین را ۴/۱۹ درصد اعلام نمودند (۱۶). ساجیت خان (Sajith Khan) و همکاران در سال ۲۰۱۲ در هند، حضور ژن مقاومت به متی‌سیلین در ۵۸۶ سویه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی را بررسی نمودند که از این تعداد، ۲۳۶ سویه (۴۰/۲ درصد) دارای ژن مقاومت به متی‌سیلین بودند. این نتایج کمتر



شکل ۱: الکتروفورز حاصل از تکثیر ژن *mec-A* با روش PCR. M: مارکر (۱۰۰ جفت بازی)، ستون‌های ۱ تا ۳ نمونه‌های مثبت حاوی ژن *mec-A* (۵۳۳ جفت بازی)، ستون ۴ کنترل مثبت (سویه استاندارد).

استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین همراه با مقاومت های چند دارویی به سطح قابل توجهی رسیده است. این افزایش مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک های مختلف باید در بخش های مختلف بیمارستان به عنوان یک موضوع جدی مورد توجه قرار گیرد تا ضمن درمان به موقع و موثر، از بروز سویه های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و انتشار آن در بیمارستان و جامعه جلوگیری به عمل آید.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از آقای محمدیان کارشناس محترم آزمایشگاه بیمارستان آیت ... موسوی زنجان به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

ها، به منظور درمان عفونت های استافیلوکوکوس اورئوس و جلوگیری از هزینه های غیر ضروری و ناموفق در درمان این باکتری، انجام تست های میکروب شناسی و حساسیت دارویی قبل از درمان ضروری می باشد. تاکنون تحقیقی در زمینه بررسی فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و شناسایی ژن *mecA* در نمونه های بالینی بیمارستان های شهر زنجان انجام نگرفته است و نتایج حاصل از این تحقیق می تواند گامی موثر در کاهش عفونت های ناشی از این باکتری در شهر زنجان بر دارد.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که شیوع سویه های

References

1. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med. 1998; 339(8): 520-532.
2. Rahimi F, Bouzari M, Vandyousefi J, Maleki Z, Saberi Kashani S, Davoudi S. Analysis of antibiotic resistance and detection of *mecA* gene in *Staphylococcus aureus* isolated from hospitals and medical laboratories in Tehran. Iran Biological J. 2008; 21: 64-74.
3. Ghaznavi-Rad E, Shamsudin MN, Sekawi Z, Khoon LY, Aziz MN, Hamat RA. Predominance and emergence of clones of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Malaysia. J Clin Microbiol. 2010; 48(3): 867-872.
4. Morell EA, Balkin DM. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a pervasive pathogen highlights the need for new antimicrobial development. Yale J Biol Med. 2010; 83(4): 223-233.
5. Shehab el-din SA, El-shfey EI, El-hadiy MR, El-dlin AB, El-hadiy MM, Zaghloul HA. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, a problem in the burns unit. Egypt J Plast Reconstr Surg. 2003; 27(1): 1-10.
6. Zamani A, Sadeghian S, Ghaderkhani J, Alikhani MY, Najafimosleh M, Taghi Goodarzi M. Detection of methicillin-resistance (*mec-A*) gene in *Staphylococcus aureus* strains by PCR and determination of antibiotic susceptibility. Ann Microbiol. 2007; 57(2): 273-276.
7. Merlino J, Watson J, Rose B, Beard-Pegler M, Gottlieb T, Bradbury R. Detection and expression of Methicillin/oxacillin resistance in Multidrug-resistant and non-Multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in Central Sydney, Australia. J Antimicrob Chemother. 2002; 49(5): 793-801.
8. Pereira V, Lopes C, Castro A, Silva J, Gibbs P. Teixeira, P. Characterization for enterotoxin

- production. Virulence factors, and antibiotic susceptibility of *staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal. Food Microbiol. 2009; 26: 278-282.
9. Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). PNAS. 2002; 99(11): 7687-7692.
 10. Sharifi M. Application, interpretation and principles of biochemical tests in medical microbiology. Tabriz; Ahrar company. 2000: 257-503 [In Persian].
 11. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*; Twentieth Informational Supplement. M100S222012. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012.
 12. Moradi N, Javadpour S, Karmostaji A. Reduced sensitivity of *Staphylococcus aureus* to vancomycin. Hormozgan Uni of Med Sci. 2011;15(3):169-177 [In Persian].
 13. Rezazadeh M, Yousefi Mashouf R, Sarmadyan H, Ghaznavi-Rad E. Antibiotic profile of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with multiple-drug resistances isolated from nosocomial infections in Vali-Asr Hospital of Arak. Arak Med Uni J. 2013; 16(71): 29-37 [In Persian].
 14. Vaez H, Ghazi K, Abdolvahab S, Tabarai M, Khodabakhshi B, Bazori M. Antibiotic resistance patterns of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains in hospitals in Gorgan. Afr J Microbiol Res. 2008; 5(4): 432-436.
 15. Korn GP, Martino MD, Mimica IM, Mimica LJ, Chiavone PA, Musolino LR. High frequency of Colonization and absence of identifiable risk factors for MRSA in ICU in Brazil. Brazil J Infect Dis. 2001; 5: 47: 9-15.
 16. Hwwari A, Hendrix E, Hebden J, Edelman R, Martin M, Campbell W. Phenotypic and genotypic characterization of nosocomial *Staphylococcus aureus* isolates from trauma patients. J Clin Microbiol. 1998; 36: 414-420.
 17. Sajith Khan AK, Preetha JS, Lakshmi SY, Anandi C, Ramesh R. Detection of *mecA* genes of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction. Int J of Health Rehabilitation Sci. 2012; 1: 64-68.
 18. Cecovsca Z, Panovski N, Petrovsca M. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Comparison of susceptibility test methods with *mecA* gene analysis for determining oxacillin (Methicilin) resistance in our clinical isolates. Bratisal Lek Listy. 2005; 106: 163-167.
 19. Zahan NA, Hossain MA, Musa AK, Shamsuzzaman AK, Mahamud MC, Mamun AA, Paul SK, Ahmed S, Sumona AA, Begum Z, Alam M, Yusuf MA, Uddin MS. PCR for *mecA* gene of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Mymensing Med J. 2009; 18: 21-26.



Frequency of meticillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical samples in Mousavi Hospital, Zanjan, and recognition *mecA* gene using PCR

Rasoul Shokri¹, Mojtaba Salouti², Rahim Sorouri Zanjani³, Zahra Heidari⁴

¹ MS.c., Department of Microbiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Fars, Iran.

² Associate Professor, Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University Zanjan, Iran.

³ Associate Professor, Zanjan University of Medical Science, Zanjan, Iran.

⁴ MS.c., Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University Zanjan, Iran.

Abstract

Background and Objectives: Nowadays Meticillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the public-health threats due to resistance to agents and anti microbial drugs. The aim of present study was to find the incidence of Meticillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical samples in Ayatollah Mousavi Hospital of Zanjan and their antibiotic resistance pattern as well as recognizing of the *mecA* gene using PCR.

Materials & Methods: In this descriptive cross-sectional study, 176 specimens were collected from different sections of Ayatollah Mousavi Hospital and assayed. The strains were identified and the resistances of the isolates to 12 kinds of antibiotics were determined using disk diffusion method. Finally, following DNA extraction, *mecA* gene was analyzed by PCR.

Results: 45 *Staphylococcus aureus* isolates were recovered (25.56%). 26 out of 45 *Staphylococcus aureus* isolates (57.77%) were confirmed as MRSA. Evaluation of antibiotic resistance showed the greatest resistance to penicillin (100%) and cloxacillin (80.76%), respectively, and the lowest resistance was observed to vancomycin (7.69%).

Conclusion: The findings showed that the prevalence of MRSA was remarkable in the hospital samples and the resistance to methicillin has increased that is a serious warning to the treatment of infections caused by this bacterium.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Antibiotic resistance, *mecA* gene, PCR.

Correspondence to: Mojtaba Salouti

Tel: +989121454954

E-mail: saloutim@yahoo.com

Journal of Microbial World 2014, 7(1): 58-65.