پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و دوم شماره ۹۴ آبان سال ۱۳۹۱ (۳۴-۲۸)

تعیین تیپ های مولکولی ایزوله های بالینی و ناقلین بینی استافیلوکوکوس اورئوس بر اساس الگوهای ژن *spa*

پرویز افروغ
محمدرضا پورمند
ندا زینعلی نیا
مسعود یوسفی
زهرا عبدالصمدی
سحر باقرزاده یزدچی

چکیده

سابقه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی و اکتسابی از جامعه است. از منابع مهم عفونت بیماران بستری، پرسنل بیمارستانی حامل استافیلوکوکوس اورئوس می باشد. در مطالعه حاضر الگوهای ژن *spa* استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از بینی پرسنل و نمونه‌های بالینی از بیماران بستری در بیمارستان‌های دانشگاه علوم پزشکی تهران مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های بالینی از بیماران بستری و سواب حفره بینی پرسنل بیمارستان‌های مورد مطالعه دانشگاه علوم پزشکی تهران جمع‌آوری شد. ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس با کمک کشت و روش‌های بیوشیمیایی مورد شناسایی قرار گرفتند. الگوهای ژن *spa* در ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بینی پرسنل و نمونه‌های بالینی بیماران، با روش PCR معمولی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در مجموع ۹ الگوی مختلف از ژن *spa* در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس به‌دست آمد. به‌ترتیب تعداد هفت و پنج الگوی مختلف از ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بینی پرسنل و نمونه های بالینی بیماران شناسایی شد.

استنتاج: وجود الگوهای مشابه ژن *spa* بیانگر منبع مشترک عفونت در بخش‌های بیمارستانی می باشد. تجزیه و تحلیل این الگوها می تواند به شکستن زنجیره انتقال عفونت در بیمارستان کمک کند.

واژه های کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، ژن *spa*

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس از مهم ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی و اکتسابی از جامعه می‌باشد و به دلیل قدرت بیماری‌زایی بالقوه و مقاومت روز افزون در برابر داروهای ضد میکروبی به یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی در جهان تبدیل شده است(۳-۱). کانون‌های عفونت ناشی از این باکتری به طور عمده زخم، ترشحات دستگاه تنفسی و پوست می‌باشند(۴). از طرفی بخش‌های نگهداری اطفال، جراحی، شیمی درمانی و بخش مراقبت‌های ویژه از نظر عفونت‌های استافیلوکوکوس اورئوس حائز اهمیت می‌باشند(۵).

مولف مسئول: محمدرضا پورمند– تهران: دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، گروه پاتوبیولوژی
گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
E-mail: mpourmand@tums.ac.ir

تاریخ دریافت : ۹۱/۵/۱۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۹۱/۶/۲۴ تاریخ تصویب : ۹۱/۸/۱

Archive of SID
www.SID.ir

با توجه به این‌که تعداد زیادی از بیماران بستری و پرسنل بیمارستان ناقل سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و بویژه مقاوم به متی سیلین استافیلوکوکوس اورئوس در بینی یا پوست خود می‌باشند، انتشار این باکتری به‌واسطه تماس با ناقلین آن در بیمارستان‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است(۸-۶).

بررسی ژنوتیپی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس به دلیل نقشی که در تمایز ایزوله‌ها دارد در ردیابی منشاء عفونت و کنترل آلودگی‌های ناشی از این باکتری می‌تواند کاربرد به‌سزایی داشته باشد. ژن *spa* یکی از این عوامل متمایز کننده است که دارای ناحیه پلی‌مورفیسم X با توالی کوتاه می‌باشد(۹). برای مثال در مطالعات مختلف الگوهای متنوعی از این ژن شناسایی شده است(۱۱،۱۰). این ژن کدکننده پروتئین A می‌باشد که از جمله پروتئین‌های سطحی استافیلوکوکوس اورئوس است که علاوه بر این‌که فاکتور ویرولانس باکتری محسوب می‌شود، جهت تعیین هویت اختصاصی استافیلوکوکوس اورئوس نیز استفاده می‌گردد(۱۴-۱۲). تایپینگ ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس روش مناسبی برای اهداف اپیدمیولوژیک می باشد(۱۵)، در تحقیق حاضر ایزوله‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس در مقایسه با ایزوله‌های جدا شده از پرسنل بر اساس الگوهای ژن *spa* مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

۱۵۷ نمونه بالینی از بیماران بستری در بیمارستان‌های دانشگاه علوم پزشکی تهران شامل ۷۹ نمونه (۵۰/۳ درصد) از بیمارستان شماره ۱، ۳۴ نمونه (۲۱/۷ درصد) از بیمارستان شماره ۲ و ۴۴ نمونه (۲۸ درصد) از بیمارستان شماره ۳ و همچنین تعداد ۱۵۷ نمونه سواب از حفره بینی پرسنل این بیمارستان‌ها با همان تعداد جمع‌آوری گردید. گونه استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از روش‌های میکرب شناسی استاندارد شامل تست کاتالاز، کواگولاز و تخمیر مانیتول روی محیط مانیتول سالت آگار و آزمایش DNase تائید گردید و حساسیت ضد میکروبی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی بیوتیک‌های اگزاسیلین (۱ میکروگرم) و موپیروسین (۵ میکروگرم) با روش دیسک دیفیوژن آگار (MAST, UK) براساس معیارهای CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) تعیین شد(۱۶). ژنوم سویه های استافیلوکوکوس اورئوس از کشت‌های ۲۴ ساعته باکتری و طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت (Bioneer, korea) استخراج گردید. برای انجام پروسه PCR معمولی و به منظور تکثیر ژن *spa* از پرایمرهای زیر که دراین مطالعه طراحی گردیدند، استفاده شد.

Spa1: (5'–GCATCTGTAACTTTAGGTACATTAC-3')

Spa2: (5'–ATAGTTCGCCACGACGTC-3')

واکنش PCR در حجم نهایی ۵۰ میکرو لیتر شامل: Mgcl2 3µl (50Mm)، 5 µl بافر 10 X، 1.5 µl پرایمر (20PM) از هر کدام، dNTP 2 µl، Taq DNA polymerase 1µl، DNA 5µl الگو و 31µl آب مقطر و تکثیر DNA الگو در ترموسایکلر به صورت زیر انجام گردید. دمای اولیه $94^{\circ}C$ به مدت ۳ دقیقه، ۳۰ سیکل دمای $94^{\circ}C$ به مدت ۴۵ ثانیه، دمای $55^{\circ}C$ به مدت ۳۰ ثانیه و دمای $72^{\circ}C$ به مدت ۹۰ ثانیه و در پایان دمای $72^{\circ}C$ به مدت ۵ دقیقه اعمال شد. در نهایت محصول PCR روی ژل آگارز یک درصد الکتروفورز شد. نتایج حاصل از این مطالعه توسط نرم‌افزار SPSS ویرایش چهاردهم تجزیه و تحلیل گردید. در این مطالعه از سویه استافیلوکوکوس اورئوس استاندارد $ATCC_{8325/4}$ به عنوان شاهد استفاده گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه ۹ الگو از ژن *spa* در ایزوله‌های جدا شده از بیماران و پرسنل، بیمارستان‌های دانشگاه علوم پزشکی تهران به‌دست آمد که در ایزوله‌های پرسنل

Archive of SID
www.SID.ir

تعداد ۷ الگوی مختلف و در ایزوله‌های باکتریایی بیماران ۵ الگوی مختلف وجود داشت.

الف: نتایج حاصل از بررسی بیماران

از مجموع ۱۵۷ بیمار مورد مطالعه، ۵۲ نفر زن (۳۳/۱ درصد) و ۱۰۵ نفر مرد (۶۶/۹ درصد) بودند. از این تعداد، ۷۹ بیمار (۵۰/۳ درصد) مربوط به بیمارستان شماره ۱، ۳۴ بیمار از بیمارستان شماره ۲ (۲۱/۷ درصد) و ۴۴ نفر از بیمارستان شماره ۳ (۲۸ درصد) بودند. بیشترین نمونه‌های به دست آمد به ترتیب از زخم و خون و پس از آن از ادرار، تراشه، مایعات بدن، آبسه و دستگاه تنفسی بود.

از نمونه‌های فوق، ۴۹ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس (۳۱/۲ درصد) جدا گردید که از این تعداد ۲۷ نمونه (۱۸/۳ درصد) مربوط به بیمارستان شماره ۱، ۷ نمونه (۴ درصد) مربوط به بیمارستان شماره ۲ و ۱۵ نمونه (۹/۸ درصد) مربوط به بیمارستان شماره ۳ بودند. پس از بررسی حساسیت ضد میکروبی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس با روش کربی بایر، شیوع سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin Resistant Staphylococcus aureus:MRSA) ۴۲/۸ درصد (۲۱ سویه) بود. بیشترین حساسیت پس از ونکومایسین (۱۰۰ درصد) حساسیت به موپیروسین (۹۶/۱ درصد) بود (جدول شماره ۱).

در بررسی ژن *spa* در بیماران مورد مطالعه، ۵ الگوی مختلف از این ژن به دست آمد (تصویر شماره ۱) که مربوط به بیشترین فراوانی از این بین، الگوی S_1 (۱۴۰۰bp) با ۶۱/۲۲ بود و پس از آن الگوی‌های S_5 (۱۵۰۰pb)، S_3 (۱۲۰۰pb)، S_4 (۱۱۰۰bp) و S_6 (۹۰۰bp) و به ترتیب با فراوانی ۲۲/۴۴، ۸/۱۶، ۴/۰۹ و ۴/۰۹ درصد قرار داشتند (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از پرسنل و بیماران بر حسب مقاومت آنتی‌بیوتیکی در روش دیسک دیفیوژن آگار

نمونه های مورد مطالعه / آنتی بیوتیک	بیماران		پرسنل	
	مقاوم تعداد(درصد)	حساس تعداد(درصد)	مقاوم تعداد(درصد)	حساس تعداد(درصد)
موپیروسین	(۱۶/۳)۸	(۸۳/۷)۴۱	(۱۲/۵)۵	(۸۷/۵)۳۵
اگزاسیلین	(۴۲/۸)۲۱	(۵۷/۲)۲۸	(۵۲ /۵)۲۱	(۴۷/۵)۱۹

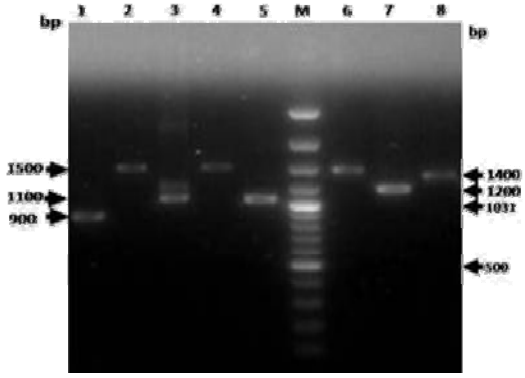
جدول شماره ۲: توزیع فراوانی ژن *spa* در استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از نمونه های بیماران و پرسنل سه بیمارستان دانشگاه علوم پزشکی تهران

بیماران		پرسنل		
تنوع ژن *spa* در بخش های مختلف [تعداد]	تعداد ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس (درصد)	تنوع ژن *spa* در بخش های مختلف [تعداد]	تعداد ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس (درصد)	بیمارستان (تعداد نمونه)
S1: N[1]-Inter.M[2] -S.F[1]-ICU[2]-CCU[5]-KTP[2]-S.M[1] **S5:** Inter.F[1]- D[2]- ICU[2]-OPD[1]- S.M[1]- O[1] **S3:** S.F[1]- ICU[1] **S4:** O[1]- ICU[1] **S6:** D[1]	۲۷(۳۴/۱)	**S3:** N[2]-D[1]-ICU[1]-Inter M[1]-Inter.F[1]-N.S.F[1]-S.F[2]-S.M[2]-OPD[1] **S4:** N[2]- N.S.M[1] **S6:** S.F[1]	۱۶(۲۰/۳)	بیمارستان شماره ۱ (۷۹)
S1: N[2]- D[2]- N.S.M[1] S.F[1]- Inter.F[1]	۷(۲۰/۶)	**S3:** CCU[1] **S4:** CCU[1]- KTP[1] Infect[1] **S6:** S.F[1]-KTP[2] **S7:** ICU[1]- S.M[1] **S8:** ICU[1] **S10:** KTP[1]- Infect[1]	۱۲(۳۵/۳)	بیمارستان شماره ۲ (۳۴)
S1: D[2]- ICU[1]- N.S M[2]- N.S.F[1]- U[2] Infect[1] **S5:** S.M[1]- U[1]- Infect[1] **S3:** S.M[1]- N.S.M[1] **S6:** ICU[1]	۱۵(۳۴)	**S3:** N.S.M[1] **S4:** ICU[1]- N.S[2] **S7:** ICU[1] **S9:** D[1]- ICU[1]-U[1] **S10:** D[1]- N.S[2]- U[1]	۱۲(۲۷/۲)	بیمارستان شماره ۳ (۴۴)

N (نورولوژی Inter)، N.S (جراحی اعصاب)، U (اورولوژی)، O (ارتوپدی)، ICU (بخش مراقبتهای ویژه)،
D (دیالیز)، (داخلی)، S (جراحی)، KTP (پیوند)، M (مرد)، F (زن)، Infect (عفونی)

Archive of SID

www.SID.ir



تصویر شماره ۱: الگوی های مختلف ژن *spa* در استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده از نمونه های بیماران بستری در سه بیمارستان دانشگاه علوم پزشکی تهران

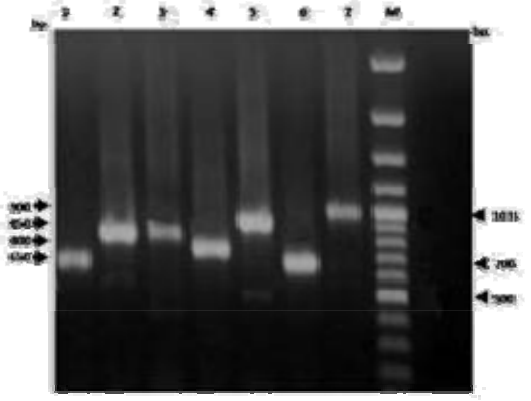
M: DNA مارکر (100 plus ، شرکت فرمنتاز)
ستون۱: الگوی spa_6(۹۰۰bp)،
ستون۲،۴و۶: الگوی spa_5 (۱۵۰۰bp)،
ستون ۳و۵: الگوی spa_4 (۱۱۰۰bp)،
ستون۷: الگوی spa_3 (۱۲۰۰bp)،
ستون ۸: الگوی spa_1 (۱۴۰۰bp).

ب: نتایج حاصل از بررسی پرسنل

در مطالعه حاضر ۱۵۷ سواب بینی از پرسنل بیمارستان شماره ۱ (۵۰/۳ درصد)، بیمارستان شماره ۲ (۲۱/۷ درصد) و بیمارستان شماره ۳ (۲۸ درصد) مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین نمونه مربوط به پرستاران (۸۲ نمونه) و سپس (۳۹)، بهیار (۲۶) و پزشک (۱۰) بود.

پس از بررسی نمونه‌های مورد مطالعه، ۴۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس (۲۵/۴ درصد) جدا شد که از این میان ۱۶ نمونه مربوط به بیمارستان شماره ۱ و ۱۲ نمونه مربوط به بیمارستان شماره ۲ و ۱۲ نمونه مربوط به بیمارستان شماره ۳ بود. در نمونه های مورد بررسی، شیوع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین ۵۲/۵ بود. حساسیت استافیلوکوکوس اورئوس به ونکوماسین ۱۰۰ درصد، و موپیروسین ۸۷/۵ درصد مشاهده شد (جدول شماره ۱).

بررسی ژن *spa* در استافیلوکوکوس اورئوس‌های جداشده از پرسنل، ۷ الگوی مختلف از این ژن را نشان داد که بیشترین فراوانی مربوط به S_3 (۱۲۰۰bp) با ۳۵ درصد بود (تصویر شماره ۲). فراوانی الگوهای S_4 (۱۱۰۰bp)، S_{10} (۸۵۰pb)، S_6 (۹۰۰bp)، S_7 (۸۰۰bp)، S_9 (۶۵۰bp) و S_8 (۷۰۰bp) به ترتیب ۲۲/۵، ۱۵، ۱۰، ۷/۵، ۷/۵ و ۲/۵ درصد گزارش بود (جدول شماره ۲).



تصویر شماره ۲: الگوی های مختلف ژن *spa* در استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده از نمونه های پرسنل سه بیمارستان دانشگاه علوم پزشکی تهران

M: DNA مارکر (100 plus ، شرکت فرمنتاز)
ستون ۱: الگوی spa_9(۶۵۰bp)،
ستون ۲و۳: الگوی spa_{10} (۸۵۰bp)،
ستون ۴ : الگوی spa_7 (۸۰۰bp)،
ستون ۵: الگوی spa_6 (۹۰۰bp)،
ستون ۶: الگوی spa_8 (۷۰۰pb)،
ستون ۷: الگوی spa_4 (۱۱۰۰bp).

آزمون آماری فیشر، رابطه معنی‌داری میان الگوهای به دست آمده از ژن *spa* با جایگاه عفونت و بخش‌های بیمارستانی نشان نداد. همچنین براساس آزمون آماری کای اسکور توزیع فراوانی الگوهای به‌دست آمده در بیمارستان فوق‌الذکر یکسان نبود ($p<0/0001$, $chi^2=212.480$,df=5)

جهت مقایسه الگوهای حاصل از PCR ژن *spa* در بیماران و پرسنل به منظور ردیابی منشاء عفونت در بخش‌های مختلف بیمارستان‌های مورد مطالعه از آزمون‌های آماری فیشر و کای اسکور استفاده شد رابطه معنی‌داری را نشان نداد.

Archive of SID
www.SID.ir

بحث

شیوع روز افزون عفونت‌های ناشی از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، پیشگیری از بروز این عفونت‌ها و ردیابی کانون انتشار باکتری در بیمارستان‌ها را ضروری کرده است(۱۷). میزان شیوع سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین و ناقلین آن‌ها در مطالعات، متفاوت گزارش شده که می تواند ناشی از تفاوت در عدم استفاده از روش‌های یکسان، چگونگی آزمایش و نوع دیسک آنتی بیوتیک مورد استفاده باشد. مطالعه علی‌قلی و همکاران (۱۳۸۵)، شیوع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین را ۷۴ درصد گزارش کرده است(۱۸). در حالی که مطالعه دیگر، این میزان را ۴۲ درصد گزارش کرده است(۱۹). در مطالعه حاضر شیوع سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در بیماران و پرسنل به ترتیب ۴۲/۸ و ۵۲/۵ درصد بود ژن *spa* با تنوع پذیری ناحیه X، جهت تایپینگ سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مورد توجه محققین می‌باشد. در مطالعه‌ای که توسط Moodley و همکاران انجام شد ژن *spa* در ۳۲۰ ایزوله بالینی استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی قرار گرفت و ۵ الگوی *spa* گزارش گردید(۲۰). در مطالعه دیگری ۱۹۱ سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین بررسی شد و ۱۰ الگوی مختلف از *spa* شناسایی گردید(۲۱). در ایران نیز مطالعات زیادی در زمینه تایپینگ سویه های استافیلوکوکوس اورئوس به انجام شده است. از آن جمله در مطالعه ایمان عینی و همکاران (۱۳۹۰). ۲۱ الگوی مختلف از *spa* شامل دو الگوی جدید t7685 و t7692 گزارش گردید(۲۲).

در مطالعه حاضر ایزوله های به‌دست آمده، ۹ الگوی مختلف از ژن *spa* را نشان دادند. ۷ الگو مختلف برای ایزوله‌های پرسنل و ۵ الگو مختلف برای جدایه‌های بیماران بستری در این بیمارستان‌ها گزارش گردید که الگوهای S_1 و S_3 به ترتیب در ایزوله‌های بیماران و پرسنل بیشترین فراوانی را داشت. مقایسه الگوهای ژن *spa* در بیماران و پرسنل به منظور ردیابی منشاء عفونت در بخش‌های مختلف بیمارستان‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. جهت دست یابی به نتایج دقیق تر مطالعه دقیق تری با حجم نمونه بیشتر در سطح وسیع تر پیشنهاد می گردد.

مقایسه الگوهای به‌دست آمده از ژن *spa* در نمونه‌های بیماران و پرسنل بیمارستان‌های مورد مطالعه، نشان از تفاوت الگوهای ژنتیکی داشته است. در بعضی موارد نیز تشابهاتی در بخش‌های مختلف مشاهده گردید که احتمالاً نشان از نوعی انتقال باکتری بین پرسنل و بیماران بوده است. از جمله در بخش ICU بیمارستان شماره ۱ و در بخش جراحی اعصاب بیمارستان شماره ۳، الگوی S_3 ژن *spa* بین پرسنل و بیماران بستری در این بیمارستان ها مشترک بود که ممکن است ناشی از زنجیره انتقال استافیلوکوکوس اورئوس بین پرسنل ناقل و بیماران بستری در این بخش ها باشد. بررسی‌ها نشان داد که در بیماران بستری بیمارستان شماره ۲ تنها الگوی S_1 از ژن *spa* وجود داشت، در حالی که در پرسنل این الگو مشاهده نشد که می‌تواند نشان دهنده موفقیت برنامه کنترل عفونت در این بیمارستان باشد.

با توجه به شیوع روز افزون عفونت‌های ناشی از گونه‌های استافیلوکوکسی و اهمیت بررسی ویژگی‌های ژنوتیپی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در ردیابی منشاء عفونت و نیز کنترل آلودگی های ناشی از آن(۲۴،۲۳)، پیشنهاد می‌شود مطالعات وسیع تری بر اساس روش‌های مولکولی در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بیماران بستری و پرسنل بیمارستان صورت گیرد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از کلیه کارکنان بخش میکرب‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران که در

Archive of SID

www.SID.ir

ایـن مطالعـه مـا را صـمیمانه یـاری نمودنـد نهایـت سپاسگزاری را داریم. این مقاله بخشی از طرح تحقیقاتی (۹۸۰۵) مصوبه معاونت پژوهشی دانشگاه علـوم پزشـکی تهران می‌باشد.

References

1. Sahm DF, Critchley IA, Kelly LJ, Karlowsky JA, Mayfield DC, Thornsberry C, et al. Evaluation of current activities of fluoroquinolones against gram-negative bacilli using centralized in vitro testing and electronic surveillance. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45(1): 267-274.
2. Neuhauser MM, Weinstein RA, Rydman R, Danziger LH, Karam G, Quinn JP. Antibiotic resistance among gram-negative bacilli in US intensive care units: implications for fluoroquinolone use. JAMA 2003; 289(7): 885-888.
3. Pourmand MR, Memariani M, Hoseini M, Yazdchi SB. High prevalence of sea gene among clinical isolates of *Staphylococcus aureus* in Tehran. Acta Med Iran 2009; 47(5): 357-361.
4. Woo P, Lau S, Wong S, Yuen K. *Staphylococcus aureus* subcutaneous abscess complicating acupuncture need for implementation of proper infection control guidelines. New Microbiol 2003; 26(2): 169-174.
5. Yano K, Minoda Y, Sakawa A, Kuwano Y, Kondo K, Fukushima W, et al. Positive nasal culture of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a risk factor for surgical site infection in orthopedics. Acta Orthop 2009; 80(4): 486-490.
6. Anwar M, Jaffery G, Rehman BKU, Tayyib M, Bokhari S. *Staphylococcus aureus* and MRSA nasal carriage in general population. J Coll Physicians Surg Pak 2004; 14(11): 661-664.
7. Edoh V, Gadou D, Tia H, Gnonsahe D. Epidemiology and prevention of *Staphylococcus aureus* nasal carriage in patients and staff at the Cococy Hemodialysis Center in Abidjan, Ivory Coast. Med Trop 2003; 63(6): 590-592.
8. Ramdani-Bouguessa N, Bes M, Meugnier H, Forey F, Reverdy ME, Lina G, et al. Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* strains resistant to multiple antibiotics and carrying the Panton-Valentine leukocidin genes in an Algiers hospital. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50(3): 1083-1085.
9. Shakeri F, Shojai A, Golalipour M, Rahimi Alang S, Vaez H, Ghaemi EA. *Spa* Diversity among MRSA and MSSA Strains of *Staphylococcus aureus* in North of Iran. Int J Microbiol 2010; ( ): .
10. Mitani N, Koizumi A, Sano R, Masutani T, Murakawa K, Mikasa K, et al. Molecular typing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by PCR-RFLP and its usefulness in an epidemiological study of an outbreak. Jpn J Infect Dis 2005; 58(4): 250-252.
11. Montesinos I, Salido E, Delgado T, Cuervo M, Sierra A. Epidemiologic genotyping of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis at a university hospital and comparison with antibiotyping and protein A and coagulase gene polymorphisms. J Clin Microbiol 2002; 40(6): 2119-2125.
12. Mehndiratta P, Bhalla P, Ahmed A, Sharma Y. Molecular typing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* strains by PCR-RFLP

Archive of SID
www.SID.ir

of SPA gene: a reference laboratory perspective. Indian J Med Microbiol 2009; 27(2): 116-122.

13. Mathema B, Mediavilla J, Kreiswirth BN. Sequence analysis of the variable number tandem repeat in *Staphylococcus aureus* protein A gene: *spa* typing. Methods Mol Biol 2008; 431: 285-305.
14. Agius P, Kreiswirth BN, Naidich S, Bennett KP. Typing *Staphylococcus aureus* using the *spa* gene and novel distance measures. IEEE/ACM Trans Comput Biol Bioinform 2007; 4(4): 693-704.
15. Janwithayanuchit I, Ngam-ululert S, Paungmoung P, Rangsipanuratn W. Epidemiologic Study of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by coagulase gene polymorphism. Science Asia 2005; 32: 127-132.
16. CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 21th informational supplement. CLSI, Wayne, PA. M100-S21 2011; 31(1).
17. Boucher H, Miller LG, Razonable R. Serious Infections Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis 2010; 51(S2): 183-197.
18. Aligholi M, Emaneini M, Hashemi FB, Shasavan Sh, Jebelameli F, kazemi B. Determination of antimicrobial resistance pattern of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens. Tehran Univ Med Sci 2006; 64(9): 26-32 (Persian).
19. Maleki Z, Anjerani Z. Comparison of the results of antimicrobial susceptibility with the disk diffusion and E test method For oxacillin and vancomycin antibiotics. J Med Sci Islamic Azad Univesity 2006; 16(4): 211-215 (Persian).
20. Moodley A, Oosthuysen W, Dusé A, Marais E. Molecular characterization of clinical Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* isolates in South Africa. J Clin Microbiol 2010; 48(12): 4608-4611.
21. Harmsen D, Claus H, Witte W, Rothgänger J, Turnwald D, Vogel U. Typing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital setting by using novel software for spa repeat determination and database management. J Clin Microbiol 2003; 41(12): 5442-5448.
22. Emaneini M, Khoramrooz SS, Taherikalani M, Jabalameli F, Aligholi M. Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from children with adenoid hypertrophy: Emergence of new *spa* types t7685 and t7692. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology 2011; 75(11): 1446-1449.
23. Pourmand MR, Abdossamadi Z, Salari MH, Hosseini M. Slime layer formation and the prevalence of mecA and aap genes in *Staphylococcus epidermidis* isolates. J Infect Dev Ctries 2011; 5(1): 34-40.
24. Havaei SA, Ohadian Moghadam S, Pourmand MR, Faghri J. Prevalence of genes encoding bi-component leukocidins among clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Iranian J Publ Health 2010; 39(1): 8-14.

Archive of SID

www.SID.ir