

Genotypic Investigation of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Urinary Tract Infection

Samira Saedi¹,
Safoura Derakhshan^{2,3},
Ebrahim Ghaderi⁴,
Saeed Salavati¹

¹ MSc in Microbiology, Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

² Assistant Professor, Zoonoses Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

³ Liver and Digestive Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

⁴ Associate Professor, Zoonoses Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

(Received September 14, 2019 ; Accepted December 22, 2019)

Abstract

Background and purpose: Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) have recently emerged as major causes of urinary tract infection (UTI). The aims of this study were to determine antibiotic susceptibility of *S. aureus* isolated from UTI and to detect the presence of *mecA* (causing resistance to methicillin) and *SCCmec* types.

Materials and methods: In this cross sectional study, 44 *S. aureus* isolates were collected in autumn 2017 from patients with UTI in two hospitals in Sanandaj, west of Iran. Susceptibility rates to nine antibiotics and vancomycin were determined by disk diffusion method and E test, respectively. The *mecA* and *SCCmec* types were detected by polymerase chain reaction (PCR). Descriptive statistics were used to evaluate the data.

Results: Vancomycin, linezolid, and trimethoprim-sulfamethoxazole showed the highest susceptibility rates (more than 90%), followed by gentamicin (86.4%), cefoxitin (79.5%), tetracycline (77.3%), clindamycin (75%), ciprofloxacin (70.4%), erythromycin (52.3%), and penicillin (6.8%). The isolates from inpatients were more susceptible to antibiotics compared to those from outpatients. Of the 44 isolates, 9 (20.5%) were MRSA, of which 6 were isolated from outpatients. Five of 9 MRSA isolates carried the *mecA* gene, and of these, two isolates harbored *SCCmec* V while three were nontypeable.

Conclusion: Our study suggests that trimethoprim-sulfamethoxazole, vancomycin or linezolid would be suitable agents in treatment of UTI caused by MRSA. Identification of an MRSA isolate in urine is a serious concern and highlights the need for monitoring drug resistance in *S. aureus*.

Keywords: drug resistance, *Staphylococcus aureus*, urinary tract, MecA protein

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 29 (181): 26-38 (Persian).

* Corresponding Author: Safoura Derakhshan - Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran (E-mail: s.derakhshan@muk.ac.ir)

بررسی ژنوتیپی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین جدا شده از عفونت ادراری

سمیرا ساعدی¹

صفورا درخشان^{۲،۳}

ابراهیم قادری⁴

سعید صلواتی¹

چکیده

سابقه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA)، اخیراً به عنوان علل مهم عفونت دستگاه ادراری (UTI) ظهور کرده‌اند. اهداف این مطالعه، تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از UTI و شناسایی وجود *mecA* (عامل مقاومت به متی سیلین) و تیپ‌های SCCmec بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی، 44 ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس در پاییز سال 2017 از بیماران مبتلا به UTI در دو بیمارستان سنج در غرب ایران جمع‌آوری شد. حساسیت به 9 آنتی‌بیوتیک و ونکومايسين به ترتیب توسط روش انتشار از دیسک و E تست تعیین شد. *mecA* و تیپ‌های SCCmec توسط PCR شناسایی شدند. آمار توصیفی برای ارزیابی داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها: ونکومايسين، لینزولید و تری‌متوپریم - سولفامتوکسازول بالاترین حساسیت (بالای 90 درصد) را نشان دادند و به دنبال آن (جتامیسین 86/4، سفوکسی‌تین 79/5، تتراسایکلین 77/3، کلیندامایسین 75، سیپروفلوکسازین 70/4، اریترومايسين 52/3 و پنی‌سیلین 6/8) درصد قرار گرفتند. ایزوله‌های بیماران بستری، در مقایسه با ایزوله‌های بیماران سرپایی، به آنتی‌بیوتیک‌ها حساس‌تر بودند. از 44 ایزوله، 9 مورد (20/5 درصد) MRSA که از آن‌ها 6 مورد از بیماران سرپایی جدا شدند. 5 از 9 ایزوله MRSA، حامل ژن *mecA* بودند و از این‌ها، 2 ایزوله حامل SCCmecV بودند در حالی که 3 ایزوله غیرقابل تیپ‌بندی بودند. **استنتاج:** مطالعه ما پیشنهاد می‌کند که تری‌متوپریم - سولفامتوکسازول، ونکومايسين یا لینزولید برای درمان UTI ایجاد شده توسط MRSA، می‌توانند عوامل مناسبی باشند. شناسایی MRSA در ادرار، نگرانی جدی است و نیازمند نظارت بر مقاومت دارویی استافیلوکوکوس اورئوس است.

واژه های کلیدی: مقاومت دارویی، استافیلوکوکوس اورئوس، دستگاه ادراری، پروتئین MecA

مقدمه

عفونت ریه، سپسیس، سندروم شوک سمی و عفونت مجاری ادراری (Urinary tract infection, UTI) را ایجاد می‌کند (1،2).

استافیلوکوکوس اورئوس، یک باکتری بیماری‌زای گرم مثبت است که عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان و جامعه از جمله عفونت پوستی، مسمومیت غذایی،

E-mail: s.derakhshan@muk.ac.ir

مؤلف مسئول: صفورا درخشان - سنج: دانشگاه علوم پزشکی کردستان، دانشکده پزشکی

1. کارشناسی ارشد میکروب شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنج، ایران

2. استادیار، مرکز تحقیقات زئونوز، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنج، ایران

3. استادیار، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنج، ایران

4. دانشیار، گروه اپیدمیولوژی، مرکز تحقیقات زئونوز، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنج، ایران

تاریخ دریافت: 1398/6/23 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1398/6/24 تاریخ تصویب: 1398/10/1

mecA می‌باشد. این ژن نوعی از پروتئین‌های متصل شونده به پنی‌سیلین به نام PBP2a را کد می‌کند که دارای تمایل کم‌تری برای آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام می‌باشد. در سویه‌های MRSA، ژن *mecA* معمولاً بر روی یک عنصر متحرک کروموزومی به نام کاست کروموزومی استافیلوکوکی *mec* (Staphylococcal cassette chromosome *mec*, SCC*mec*) قرار دارد. کاست SCC*mec* از دو جزء اصلی تشکیل شده است: کمپلکس ژنی *ccr*، که موجب تحرک SCC*mec* می‌شود و کمپلکس ژنی *mec* که حاوی ژن *mecA* می‌باشد. در حال حاضر 11 تیپ SCC*mec* شناسایی شده است (I-XI)، اما تیپ‌های غالب آن SCC*mec* I-V است (8). SCC*mec* تیپ‌های I، II و III بزرگ بوده (34/3 کیلوباز، 53 کیلو باز و 66/9 کیلوباز، به ترتیب) و بیش‌تر با عفونت‌های بیمارستانی (HA-MRSA) مرتبط هستند. SCC*mec* تیپ‌های IV (20 تا 24 کیلوباز) و V (28 کیلوباز) غالباً با عفونت‌های اکتسابی از جامعه (CA-MRSA) همراه هستند. SCC*mec* تیپ‌های I، IV و V باعث مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام می‌شوند، اما انواع II و III باعث مقاومت به چندین داروی ضد باکتریایی می‌شوند (1). سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین استافیلوکوکوس اورئوس از لحاظ بالینی مهم هستند و توجه محققان را در سراسر جهان به این دلیل که یک عنصر ژنتیکی منفرد باعث مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام می‌شود جلب کرده‌اند (9،1). مطالعات بسیار کمی در مورد حساسیت دارویی و شیوع ژن *mecA* در استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از UTI در کردستان وجود دارد، بنابراین هدف ما در این مطالعه، بررسی اطلاعات دموگرافی بیماران، حساسیت دارویی و شیوع ژن *mecA* و تیپ‌های SCC*mec* در استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران با علائم UTI در سنندج، غرب ایران می‌باشد. UTI بر اساس دستورالعمل سال 2015 انجمن اروپایی اورولوژی تعریف شد (10).

UTI یکی از شایع‌ترین عفونت‌های باکتریایی انسان، در جامعه و در بیمارستان می‌باشد (2). آناتومی و محیط هورمونی دستگاه ادراری، احتمال ابتلا به UTI را در زنان افزایش می‌دهد، به طوری که تقریباً 50 تا 60 درصد زنان در طول زندگی خود به UTI مبتلا می‌شوند (3). اگرچه استافیلوکوکوس اورئوس یک عامل نسبتاً غیرشایع UTI است و عامل 0/5 تا 6 درصد از عفونت‌های ادراری می‌باشد اما UTI درمان نشده این میکروارگانیزم می‌تواند منجر به عوارض جدی نظیر سپسیس شود (5،4). در بیماران بستری، استافیلوکوکوس اورئوس عامل بخش بزرگ‌تری از عفونت‌های ادراری می‌باشد و وجود کاتتر یا سایر عفونت‌های کانونی استافیلوکوکی مانند استئومیلیت، اندوکاردیت یا آبسه کبدی خطر عفونت با این باکتری را در دستگاه ادراری افزایش می‌دهد (6). بسیاری از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس انواع وسیعی از ژن‌های مقاومت به دارو را روی عناصر ژنتیکی متحرک حمل می‌کنند که به گسترش ژن‌های مقاومت در بین باکتری‌ها کمک می‌کند (4). در دهه 1960 میلادی، متی‌سیلین برای درمان عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس استفاده شد، اما پس از یک دوره کوتاه، سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (*Methicillin-resistant S. aureus*, MRSA) ظاهر شدند (7). سویه‌های MRSA از بیمارستان (Health Care Associated-MRSA, HA-MRSA) یا از جامعه (Community-Associated-MRSA, CA-MRSA) کسب می‌شوند. مقاومت به متی‌سیلین، باعث افزایش مرگ‌ومیر و عوارض عفونت‌های استافیلوکوکوس اورئوس می‌شود. بعضی از عوامل خطر برای کسب عفونت‌های MRSA عبارتند از وجود کاتتر در دستگاه ادراری، بستری شدن در بیمارستان، اقامت در خانه سالمندان، اعتیاد، استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها و بیماری‌های مزمن از جمله نارسایی کلیه، دیابت و بدخیمی (1). مکانیسم اصلی مقاومت به متی‌سیلین به علت حضور ژن

مواد و روش ها

جمع‌آوری و شناسایی ایزوله‌ها

در این مطالعه مقطعی، 44 ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* در پاییز 2017 (طی ماه مهر تا آذر) از بیماران با علائم UTI مراجعه‌کننده به دو بیمارستان آموزشی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی کردستان با نام‌های بیمارستان توحید (518 تخت خوابی) و بیمارستان بعثت (400 تخت خوابی) در سنندج، ایران جدا شدند. همراه با جمع‌آوری ایزوله‌ها، اطلاعات دموگرافی بیماران شامل سن، جنس، سرپایی یا بستری بودن و همچنین بخش بستری بیماران تهیه شد. ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی مانند رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، تخمیر مانیتول، کوآگولاز و DNase شناسایی شدند (11). همچنین واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase chain reaction, PCR) برای تایید شناسایی گونه *استافیلوکوکوس اورئوس* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای ژن *nuc* (کدکننده یک نوکلئاز مقاوم به حرارت) استفاده شد (12). توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره 1 نشان داده شده است. PCR در شرایط زیر انجام شد: واسرشت اولیه در دمای 94 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 دقیقه، سپس 35 چرخه واسرشت در دمای 94 درجه سانتی‌گراد به مدت 1 دقیقه، اتصال در دمای 61 درجه سانتی‌گراد برای 1 دقیقه، گسترش در دمای 72 درجه سانتی‌گراد به مدت 1 دقیقه و یک گسترش نهایی در 72 درجه سانتی‌گراد به مدت 7 دقیقه. *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC25923 به عنوان سویه کنترل مثبت برای واکنش PCR استفاده شد. ایزوله‌ها برای بررسی‌های بیش‌تر در دمای 70- درجه سانتی‌گراد در محیط تریپتیکیز سوی براث (ساخت شرکت Q-lab، آمریکا) حاوی 15 درصد گلیسرول ذخیره شدند.

آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی

حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌ها بر اساس دستورالعمل‌های

موسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 2017 تعیین شد (13). روش انتشار از دیسک در آگار برای تعیین حساسیت ایزوله‌ها به 9 دیسک آنتی‌بیوتیک (ساخت شرکت Rosco، دانمارک) استفاده شد که عبارت بودند از: سفوکسی تین (30 میکروگرم، برای تشخیص سویه‌های MRSA)، پنی‌سیلین (10 واحد)، اریترومایسین (15 میکروگرم)، کلیندامایسین (2 میکروگرم)، تری متوپریم - سولفامتوکسازول (23/75-1/25 میکروگرم)، لینزولید (30 میکروگرم)، تتراسایکلین (30 میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (5 میکروگرم) و جنتامیسین (10 میکروگرم). ایزوله‌ها از محیط ذخیره بر روی محیط نوترینت آگار (ساخت شرکت Q-lab، آمریکا) کشت ثانویه شده و پس از 18 تا 22 ساعت گرمخانه‌گذاری، یک کدورت استاندارد (نیم مک فارلند) در سرم فیزیولوژی از هر یک از ایزوله‌ها تهیه شد و پلیت‌های مولر هینتون آگار (ساخت شرکت Q-lab، آمریکا) با کدورت استاندارد ایزوله‌ها توسط سواب‌های استریل تلقیح شدند. سپس دیسک‌های ضد میکروبی با فواصل حدوداً 20 میلی‌متر روی محیط قرار داده شده و پلیت‌ها به مدت 16 تا 18 ساعت در دمای 35 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. قطر هاله‌های عدم رشد در اطراف دیسک‌ها بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد و با توجه به استانداردهای CLSI 2017 به عنوان مقاوم، حساس و یا حدواسط طبقه‌بندی شدند (13). حساسیت ایزوله‌ها به ونکومایسین با استفاده از نوارهای E تست (ساخت شرکت bioMerieux، فرانسه) در محیط مولر هینتون آگار تعیین شد. یک کدورت استاندارد نیم مک فارلند از هر یک از ایزوله‌ها تهیه شد و پس از تلقیح به محیط و قراردادن نوار E تست، پلیت‌ها در دمای 35 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت گرمخانه‌گذاری شدند و تفسیر آن‌ها بر اساس استاندارد CLSI 2017 صورت گرفت. سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*

حجم 25 میکرولیتر حاوی 1/5 میلی مولار $MgCl_2$ ، 0/2 میلی مولار از هر dNTP، 1U آنزیم Taq پلیمرز، بافر واکنش 1X، 0/4 میکرومولار از هر پرایمر (ساخت شرکت SinaClon، ایران) و 3 میکرولیتر DNA الگو انجام شد.

PCR با استفاده از یک دستگاه سیکلر حرارتی (ساخت شرکت Eppendorf، آلمان) تحت شرایط زیر انجام شد: واسرشت اولیه در دمای 94 درجه سانتی گراد به مدت 5 دقیقه، سپس 35 چرخه واسرشت در دمای 94 درجه سانتی گراد به مدت 1 دقیقه، اتصال در دماهای مختلف (جدول شماره 1) برای 1 دقیقه، گسترش در دمای 72 درجه سانتی گراد به مدت 1 دقیقه و گسترش نهایی در 72 درجه سانتی گراد به مدت 7 دقیقه. الکتروفورز بر روی ژل آگارز 1/5 درصد در بافر تریس بورات اتیلن دی آمین تتراسیتیک اسید (Tris borate ethylenediaminetetraacetic acid, TBE) 0.5X انجام شد. یک لدر DNA 100 جفت باز پلاس (SinaClon) به عنوان نشانگر اندازه استفاده شد. قطعات DNA با رنگ Safe stain (SinaClon) رنگ آمیزی شده و در نور UV دیده شدند. سویه های کنترل مثبت توسط دکتر نجار پیرایه (دانشگاه تربیت مدرس، ایران) اهدا شد. پرایمرهای استفاده شده در جدول شماره 1 ارائه شده است.

جدول شماره 1: توالی پرایمرها، دماهای اتصال و اندازه محصولات PCR (12، 17)

ژن هدف	توالی پرایمر (5'-3')	محصول PCR (جفت باز)	دمای اتصال (درجه سانتی گراد)
<i>mecA</i>	GTGAAGATATACCAAGTGAT/ATGCGCTATAGATTGAAAGGAT	147	54
SCC <i>mec</i> I	GCTTTAAAGAGTGCCTTACAGG/GTTCTCTCATAGTATGACGTCC	613	62
SCC <i>mec</i> II	CGTTGAAGATGATGAAGCG/CGAAATCAATGGTTAATGGACC	398	54
SCC <i>mec</i> III	CCATATGTGTACGATGGCG/CCTTAGTGTGTAACAAGATCG	280	54
SCC <i>mec</i> IV	GCCTTATTCGAAGAACAACCG/CTACTCTCTGAAAAGCGTCC	776	56
SCC <i>mec</i> V	GAACATTGTTACTTAAATGAGC/TGAAAGTGTACCTTGACACC	325	60
<i>nuc</i>	GCGATTGATGGTGTACGGTT/AGCCAAGCCTTGACGAACATAAAGC	279	61

تحلیل آماری

داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و تست کای اسکوئر و یا

ATCC25923 و استافیلوکوکوس اورئوس ATCC29213 به عنوان کنترل استفاده شدند.

سویه های مقاوم به چند دارو (Multi drug resistant, MDR)، سویه های غیر حساس به حداقل یک عامل در سه یا بیش تر از سه طبقه ضد میکروبی و همچنین سویه های MRSA در نظر گرفته شدند (14).

استخراج DNA ژنومی

DNA ژنومی ایزوله ها با استفاده از روش انجماد - ذوب استخراج شد (15). در این روش، کشت های شبانه از ایزوله ها در محیط تریپتیکیز سوی برات سانتریفیوژ شده و پس از برداشت مایع رویی، بافر تریس اتیلن دی آمین تتراسیتیک اسید (Tris ethylenediaminetetraacetic acid, TE) به رسوب اضافه شد. سوسپانسیون در دمای 100 درجه سانتی گراد به مدت 10 دقیقه جوشانده شده (مرحله ذوب) و سپس بلافاصله بر روی یخ (مرحله انجماد) به مدت 5 دقیقه قرار داده شد. پس از سه چرخه انجماد - ذوب، سوسپانسیون ها سانتریفیوژ شدند. مایع رویی، جمع آوری شده و پس از ارزیابی کیفی روی ژل آگارز 1 درصد و ارزیابی کمی توسط اندازه گیری جذب نوری در طول موج 260 نانومتر و محاسبه نسبت جذب نوری 280/260 برای تعیین خلوص، به عنوان DNA الگو در دمای 20- درجه سانتی گراد برای انجام آزمایش های بعدی مورد استفاده قرار گرفت. نسبت جذب نوری 280/260 در طیف 1/8 تا 2 نشان دهنده خلوص DNA است. پایین این طیف نشان دهنده آلودگی با RNA و بالای این طیف نشان دهنده آلودگی با پروتئین می باشد (16).

شناسایی *mecA* و تیپ های SCC*mec*

واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) برای شناسایی ژن *mecA* و تیپ های SCC*mec* توسط پرایمرهای اختصاصی (جدول شماره 1) استفاده شد. واکنش ها در

تست دقیق فیشر (هر جا که مورد نیاز بود) برای تعیین ارتباط استفاده شدند. ارزش P کم تر از 0/05 از لحاظ آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

در مجموع، 44 ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس از بیماران با علائم UTI در پاییز 1396 (بین ماه‌های مهر تا آذر) جمع‌آوری شدند. از این 44 ایزوله، 23 ایزوله (52/3 درصد) از زنان و 21 ایزوله (47/7 درصد) از مردان جدا شدند. همچنین 13 ایزوله از 44 ایزوله (29/5 درصد) از بیماران سرپایی و 31 ایزوله (70/5 درصد) از بیماران بستری در بخش‌های مختلف شامل بخش عفونی (10 مورد)، زنان (5 مورد)، واحد مراقبت ویژه اورژانس (3 مورد)، قلب و عروق (2 مورد)، واحد مراقبت قلبی (Cardiac Care Unit, CCU) (2 مورد)، گوارش (1 مورد) و بخش کودکان (1 مورد) جدا شدند. طیف سنی بیماران بین 13 تا 92 سال و میانگین سنی بیماران تقریباً 56 سال بود. بیشترین تعداد بیماران در گروه سنی 61 تا 80 سال قرار گرفتند (14 از 44 بیمار، 31/8 درصد).

حساسیت آنتی بیوتیکی

ونکومايسين و لیزولید با 100 درصد حساسیت، موثرترین آنتی بیوتیک‌ها بودند و به دنبال آن تری متوپریم - سولفامتو کسازول (95/5 درصد حساسیت) و جنتامیسین (86/4 درصد حساسیت) قرار گرفتند. کم اثرترین آنتی بیوتیک‌ها پنی سیلین بود که فقط 3 ایزوله به آن حساس بودند (6/8 درصد حساسیت) و پس از آن اریترومايسين قرار گرفت (52/3 درصد حساسیت). سه ایزوله حساس به پنی سیلین به تمام آنتی بیوتیک‌های دیگر نیز حساس بودند. MIC ونکومايسين که با روش E.test تعیین شد برای تمام ایزوله‌ها بین 0/38 تا 2 میکروگرم در میلی لیتر متغیر بود. اغلب سویه‌ها MIC به میزان 1/5 میکروگرم در میلی لیتر

داشتند (21 سویه) که پس از آن تعداد 10 سویه با MIC به میزان 2 میکروگرم در میلی لیتر قرار گرفتند. تست حساسیت نشان داد که نه ایزوله (20/5 درصد) به سفوکسی تین مقاوم بودند و به عنوان MRSA شناسایی شدند، بنابراین 35 ایزوله (79/5 درصد) استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی سیلین (Methicillin Sensitive *S. aureus*, MSSA) بودند. میزان حساسیت ایزوله‌ها به 10 آنتی بیوتیک مورد بررسی در جدول شماره 2 ارائه شده است. به طور جالب توجه، سویه‌های جدا شده از بیماران بستری در مقایسه با ایزوله‌های بیماران سرپایی به آنتی بیوتیک‌ها حساس تر بودند و ارتباط معناداری از نظر حساسیت به سفوکسی تین، تتراسایکلین، سیپروفلوکساسین، کلیندامایسین و اریترومايسين بین ایزوله‌های جدا شده از بیماران بستری با ایزوله‌های بیماران سرپایی دیده شد ($P < 0/05$) (جدول شماره 2). با این حال، تفاوت معنی داری از نظر حساسیت به آنتی بیوتیک‌های مورد بررسی بین ایزوله‌های جدا شده از زنان و مردان دیده نشد ($P > 0/05$). همچنین از 9 ایزوله MRSA، 3 ایزوله از بیماران بستری (HA-MRSA) جدا شده و بنابراین، 6 ایزوله از بیماران سرپایی (CA-MRSA) بودند.

از 44 ایزوله، 41 ایزوله (93/2 درصد) به حداقل یک آنتی بیوتیک مقاوم بودند و 15 ایزوله (34/1 درصد) MDR بودند (MDR، سویه‌های غیر حساس به حداقل یک عامل درسه یا بیش تر از سه طبقه ضد میکروبی هستند و MRSA همیشه MDR در نظر گرفته می‌شود) (14). در بین 44 ایزوله، 12 الگوی مقاومت شناسایی شد (جدول شماره 3). الگوها از مقاومت تکمی به پنی سیلین تا مقاومت به 8 از 10 آنتی بیوتیک متغیر بودند. از 13 الگو، 10 الگو MDR بودند و 7 مورد از 10 الگو در ایزوله‌های MRSA مشاهده شد. در حالی که الگوی مقاومتی اصلی شناسایی شده در ایزوله‌های MSSA، مقاومت تنها به پنی سیلین (19 ایزوله) بود و 6 از 35 ایزوله MSSA (17/1 درصد) MDR تعیین شدند؛ الگوهای مقاومت اصلی شناسایی شده در ایزوله‌های MRSA،

جدول شماره 2: حساسیت آنتی بیوتیکی 44 ایزوله استفیلوکوکوس اورئوس جدا شده از عفونت ادراری

آنتی بیوتیک ^a	حساسیت (درصد)					
	کلی (n=44) تعداد (درصد)	بیماران سرپایی (n=13) تعداد (درصد)	بیماران بستری (n=31) تعداد (درصد)	سطح معنی داری	زن (n=23) تعداد (درصد)	مرد (n=21) تعداد (درصد)
VAN	(100/44)	(100/13)	(100/31)		(100/23)	(100/21)
LNZ	(100/44)	(100/13)	(100/31)		(100/23)	(100/21)
SXT	(95/5) 42	(84/6) 11	(100/31)	P=0/082	(95/7) 22	(95/2) 20
GEN	(86/4) 38	(69/2) 9	(93/5) 29	P=0/053	(87) 20	(85/7) 18
FOX	(79/5) 35	(53/8) 7	(90/3) 28	*P=0/012	(73/9) 17	(85/7) 18
TET	(77/3) 34	(46/2) 6	(90/3) 28	*P=0/003	(78/3) 18	(76/2) 16
CIP	(70/4) 31	(38/5) 5	(83/9) 26	*P=0/009	(73/9) 17	(66/7) 14
CLI	(75) 33	(46/2) 6	(87/1) 27	*P=0/008	(78/3) 18	(71/4) 15
ERY	(52/3) 23	(23/1) 3	(64/5) 20	*P=0/020	(60/9) 14	(42/9) 9
PEN	(6/8) 3	0	(9/7) 3	P=0/544	(8/7) 2	(4/8) 1

SXT^a: تری متوپریم - سولفامتوکسازول، TET: تتراسایکلین، PEN: پنی سیلین، LNZ: لینزولید، GEN: جنتامیسین، FOX: سفوکسی تین، ERY: اریترومایسین، CLI: کلیندامایسین، CIP: سیپروفلوکساسین، VAN: ونکومایسین. ارزش P، وجود یا عدم وجود ارتباط معنی دار در مورد حساسیت به هر آنتی بیوتیک بین ایزوله های بیماران سرپایی و بستری را نشان می دهد. * نشان دهنده P کم تر از 0/05 می باشد.

جدول شماره 3: الگوهای مقاومت آنتی بیوتیکی در 44 ایزوله استفیلوکوکوس اورئوس جدا شده از عفونت دستگاه ادراری

الگوی مقاومت ^a	ایزوله هادر MRSA ^b (n=9) تعداد (درصد)	ایزوله هادر MSSA ^c (n=35) تعداد (درصد)	ایزوله هادر بیماران سرپایی (n=13) تعداد (درصد)	ایزوله هادر بیماران بستری (n=31) تعداد (درصد)	ایزوله هادر کل (n=44) تعداد (درصد)
PEN	0	(54/3) 19	(23/7) 3	(51/6) 16	(43/2) 19
PEN, ERY	0	(20) 7	(7/7) 1	(19/3) 6	(15/9) 7
PEN, FOX (MDR)	(11/1) 1	0	0	(3/2) 1	(2/3) 1
PEN, ERY, CIP (MDR)	0	(2/85) 1	(7/7) 1	0	(2/3) 1
TET, PEN, FOX, ERY (MDR)	(11/1) 1	0	(7/7) 1	0	(2/3) 1
PEN, ERY, CLI, CIP (MDR)	0	(2/85) 1	0	(3/2) 1	(2/3) 1
TET, PEN, ERY, CLI, CIP (MDR)	0	(11/4) 4	(15/4) 2	(6/4) 2	(9/1) 4
PEN, GEN, FOX, ERY, CIP (MDR)	(11/1) 1	0	0	(3/2) 1	(2/3) 1
PEN, GEN, FOX, ERY, CLI, CIP (MDR)	(11/1) 1	0	(7/7) 1	0	(2/3) 1
TET, PEN, FOX, ERY, CLI, CIP (MDR)	(11/1) 1	0	(7/7) 1	0	(2/3) 1
TET, PEN, GEN, FOX, ERY, CLI, CIP (MDR)	(22/2) 2	0	(7/7) 1	(3/2) 1	(4/5) 2
SXT, TET, PEN, GEN, FOX, ERY, CLI, CIP (MDR)	(22/2) 2	0	(15/4) 2	0	(4/5) 2

SXT^a: تری متوپریم - سولفامتوکسازول، TET: تتراسایکلین، PEN: پنی سیلین، GEN: جنتامیسین، FOX: سفوکسی تین، ERY: اریترومایسین، CLI: کلیندامایسین، CIP: سیپروفلوکساسین، VAN: ونکومایسین، MDR: سوبه های غیر حساس به یک عامل در سه یا بیش تر از سه طبقه ضد میکروبی و MRSA همیشه MDR در نظر گرفته می شود.

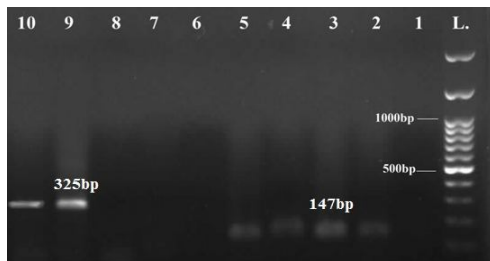
^b MRSA: استفیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین

^c MSSA: استفیلوکوکوس اورئوس حساس به متی سیلین

77/8 درصد برای تری متوپریم - سولفامتوکسازول و 33/3 درصد برای هر کدام از تتراسایکلین، جنتامیسین، کلیندامایسین؛ 22/2 درصد برای سیپروفلوکساسین و 11/1 درصد برای اریترومایسین دنبال شد. در میان ایزوله های MSSA، همگی به لینزولید، ونکومایسین، تری متوپریم - سولفامتوکسازول و جنتامیسین حساس بودند که به دنبال آن تتراسایکلین (88/6 درصد حساسیت)، کلیندامایسین (85/7 درصد)، سیپروفلوکساسین

شامل مقاومت به تتراسایکلین، پنی سیلین، جنتامیسین، سفوکسی تین، اریترومایسین، کلیندامایسین، و سیپروفلوکساسین (2 ایزوله) و همچنین مقاومت در برابر تری متوپریم - سولفامتوکسازول، تتراسایکلین، پنی سیلین، جنتامیسین، سفوکسی تین، اریترومایسین، کلیندامایسین و سیپروفلوکساسین بود (2 ایزوله). میزان حساسیت ایزوله های MRSA به آنتی بیوتیک های ونکومایسین و لینزولید 100 درصد تعیین شد، که با

سولفامتو کسازول، تتراسایکلین، لینزولید، کلیندامایسین و ونکومایسین بود.



تصویر شماره 1: شناسایی ژن‌های *mecA* و *SCCmecV* در استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از عفونت ادراری توسط واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز. L: 100 bp plus ladder؛ چاهک‌های 1 تا 6: مربوط به ژن *mecA* (1: کنترل منفی، 2: کنترل مثبت، 3 تا 6: ایزوله‌های بالینی)؛ چاهک‌های 7 تا 10: مربوط به ژن *SCCmecV* (7: کنترل منفی، 10: کنترل مثبت، 8 و 9: ایزوله‌های بالینی)

بحث

UTI ایجاد شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس، یک مشکل مهم سلامتی در جامعه و همچنین در بیمارستان‌ها می‌باشد و عفونت‌های درمان نشده با این باکتری می‌تواند به عوارض جدی نظیر سپسیس منجر شوند (5). بنابراین، شناسایی سویه‌های مقاوم و استفاده از درمان مناسب مهم است. در این مطالعه طی ماه مهر تا آذر 1396، 44 ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس را از بیمارستان مبتلا به علائم UTI در دو بیمارستان آموزشی سنج در غرب ایران جدا کردیم. این مطالعه الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و شیوع مقاومت به متی‌سیلین را در این ایزوله‌ها توصیف می‌کند. در مطالعه ما، شیوع استافیلوکوکوس اورئوس در زنان اندکی بالاتر از مردان بود. این نتیجه را می‌توان با تفاوت‌های آناتومی و محیط هورمونی مجرای ادراری توضیح داد که به ایجاد UTI در زنان کمک می‌کند (3). اگرچه یافته‌های قبلی گزارش کرده‌اند که UTI به علت استافیلوکوکوس اورئوس بیش‌تر در سنین 20 تا 40 سالگی رخ می‌دهد (18، 19)، با این حال در مطالعه ما گروه سنی بالاترین خطر ابتلا به

(82/9 درصد)، اریترومایسین (62/9 درصد) و پنی‌سیلین (6/8 درصد) قرار گرفتند. به‌طور کلی، ایزوله‌های MRSA در مقایسه با ایزوله‌های MSSA، به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم‌تر بودند. همچنین در حالی که الگوی مقاومتی اصلی شناسایی شده در 31 ایزوله جدا شده از بیماران بستری، مقاومت تنها به پنی‌سیلین بود (16 ایزوله)، در بیماران سرپایی، ایزوله‌های MDR بیش‌تر شناسایی شدند. از 13 ایزوله به‌دست آمده از بیماران سرپایی، 9 ایزوله (69/2 درصد) MDR بودند؛ در حالی که از 31 ایزوله جدا شده از بیماران بستری، 6 ایزوله MDR شناسایی شدند (19/3 درصد) (جدول شماره 3).

توزیع ژن‌های *mecA* و *SCCmec*

از 44 ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس، 5 ایزوله (11/4 درصد) دارای ژن *mecA* بودند و بنابراین از 9 ایزوله که به وسیله آزمون انتشار از دیسک سفوکسی‌تین به عنوان MRSA تشخیص داده شد، 4 ایزوله، *mecA* منفی بودند. یکی از 5 ایزوله مثبت از بیماران بستری و 4 ایزوله دیگر از بیماران سرپایی جدا شدند. از 5 ایزوله مثبت، 2 ایزوله دارای *SCCmec* تیپ V و 3 ایزوله غیر قابل تیپ‌بندی بودند (تصویر شماره 1). سه ایزوله غیر قابل تیپ‌بندی از بیماران سرپایی جدا شده و یکی از ایزوله‌های با تیپ V از بیمار سرپایی و دیگری از یک بیمار بستری جدا شد.

SCCmec تیپ‌های I، II، III و IV یافت نشدند. دو ایزوله با *SCCmec* تیپ V در مقایسه با 3 ایزوله غیر قابل تیپ‌بندی، به آنتی‌بیوتیک‌ها حساس‌تر بودند. الگوهای حساسیتی برای 3 ایزوله غیر قابل تیپ‌بندی، حساسیت به لینزولید و ونکومایسین (2 ایزوله) و همچنین لینزولید و ونکومایسین و تری‌متوپریم - سولفامتو کسازول (1 ایزوله) بود؛ در حالی که الگوهای حساسیت برای یک ایزوله با *SCCmec* تیپ V، حساسیت به تری‌متوپریم - سولفامتو کسازول، تتراسایکلین، لینزولید و ونکومایسین و برای ایزوله دیگر حساسیت به تری‌متوپریم -

درصد به تری متوپریم - سولفامتو کسازول، 48/1 درصد به تتراسایکلین و 14/8 درصد به پنی سیلین را در سویه های خود گزارش کردند (23). در مقایسه با نتایج بالا، سویه های ما به طور کلی حساسیت بالاتری را به آنتی بیوتیک های مورد بررسی از خود نشان دادند که این تفاوت ها می تواند به دلیل سیاست های کنترل عفونت و یا تجویزی مناسب در منطقه و همچنین تفاوت در منطقه جغرافیایی و مجموعه ایزوله های به دست آمده باشد. به طور قابل توجه، در مطالعه ما میزان مقاومت آنتی بیوتیکی و تعداد ایزوله های MDR در بیماران سرپایی بیش تر از بیماران بستری بود که این امر ممکن است به علت استفاده بیش از حد و یا نامناسب از این آنتی بیوتیک ها در جامعه، برنامه های کنترل عفونت ناکارآمد و فقدان سیاست های آنتی بیوتیکی سختگیر در جامعه منطقه مورد بررسی و یا مقاومت متقاطع میان آنتی بیوتیک های یک کلاس دارویی مانند آمیکاسین و جنتامیسین باشد. تخمین زده می شود که 80 تا 90 درصد آنتی بیوتیک ها برای بیماران سرپایی تجویز می شود و از این میان تقریباً 20 تا 50 درصد استفاده از آنتی بیوتیک ها ضروری به نظر نمی رسد (24). از طرف دیگر، این یافته بر اهمیت ورود بیماران عفونی از جامعه به بیمارستان ها تاکید می کند. سویه های مقاوم می توانند از جامعه به بیمارستان ها گسترش یابند و باعث ایجاد مقاومت دارویی در بیمارستان ها شوند (25).

نتایج آزمون حساسیت در مطالعه ما نشان داد که 20/5 درصد از ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس، MRSA بودند. میزان شیوع متفاوتی برای MRSA در مناطق مختلف ایران گزارش شده است.

گودرزی و همکاران در سال 2018 در تهران، شیوع 61/1 درصد را برای MSRA در میان 90 ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران با عفونت ادراری گزارش کردند (9).

همچنین در مطالعه دیگر از تهران که توسط رحیمی و همکاران در سال 2016 انجام شد، از مجموع

UTI/استافیلوکوکوس اورئوس، گروه سنی 61 تا 80 سال بود (31/8 درصد) که این امر می تواند به علت تغییر عملکرد سیستم ایمنی در سنین بالاتر و مواجهه بیش تر با پاتوژن ها به خصوص در بیمارستان باشد (20). در دهه گذشته، افزایش قابل توجهی در مقاومت ضد میکروبی در میان عوامل عفونت ادراری دیده شده است. میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های استافیلوکوکوس اورئوس نیز در حال افزایش است (21). موثرترین آنتی بیوتیک ها در مطالعه ما عبارت بودند از ونکومایسین، لیزولید و تری متوپریم - سولفامتو کسازول (بالای 90 درصد حساسیت) که به دنبال آن ها جنتامیسین (86/4 درصد)، تتراسایکلین (77/3 درصد)، کلیندامایسین (75 درصد)، سیپروفلوکساسین (70/4 درصد) و اریترومایسین (52/3 درصد) حساسیت قرار گرفتند. نتایج آزمون حساسیت، مقاومت 93/2 درصد از ایزوله ها را به پنی سیلین نشان داد.

در مطالعه یوسفی و همکاران در سال 2016، از 39 ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از عفونت ادراری در تهران، 100 درصد به لیزولید حساس بودند که به دنبال آن تری متوپریم - سولفامتو کسازول با حساسیت 76/9 درصد، کلیندامایسین (43/6 درصد)، جنتامیسین (41 درصد)، اریترومایسین و سیپروفلوکساسین (35/9 درصد) و تتراسایکلین (33/3 درصد) قرار گرفتند (22).

همچنین در مطالعه گودرزی و همکاران در تهران در سال 2018، از 90 ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از عفونت ادراری، حساسیت 24/4 درصد به سیپروفلوکساسین، 26/7 درصد به جنتامیسین، 27/8 درصد به اریترومایسین، 31/1 درصد به تتراسایکلین، 40 درصد به کلیندامایسین، 42/2 درصد به آمیکاسین و 68/9 درصد به تری متوپریم - سولفامتو کسازول دیده شد (9).

نجف آبادی و همکاران در سال 2018 در اصفهان، تعداد 54 ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس را از عفونت ادراری جمع آوری کرده و حساسیت 77/8 درصد به جنتامیسین، 74/1 درصد به سیپروفلوکساسین، 66/7

419 ایزوله که از بیماران با عفونت ادراری در تهران به دست آمد، تعداد 108 ایزوله (25/8 درصد) MRSA بودند (26). نجف آبادی و همکاران در سال 2018 در اصفهان، تعداد 54 ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس را از عفونت ادراری جمع آوری کردند که 46/3 درصد آن‌ها به عنوان MRSA شناسایی شدند (23). این تغییرات در میزان شیوع ممکن است تاحدی به واسطه تجویز متفاوت محلی آنتی‌بیوتیک‌ها، مناطق جغرافیایی، برنامه‌های کنترل عفونت و جمعیت مورد مطالعه توضیح داده شود. همچنین انتقال ایزوله‌های مقاوم یا مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در محصولات غذایی حیوانی ممکن است به گسترش مقاومت کمک کند (27). سویه‌های MRSA تمایل دارند که در برابر بسیاری از داروهای ضد میکروبی موجود، مقاوم باشند (9،1). میزان مقاومت در بین ایزوله‌های MRSA مانیز بالاتر از ایزوله‌های MSSA بود و درصد بالایی از ایزوله‌های MRSA به اریترومايسين، سپروفلوکساسين، جنتاميسين، کلیندامایسین و تتراسایکلین مقاوم بودند. این مساله منجر به گزینه‌های محدود برای درمان عفونت‌های MRSA شده است و ممکن است مشکل جدی را در سلامت عمومی ایجاد کند.

ونکومايسين یکی از موثرترین گزینه‌های درمانی برای عفونت‌های ناشی از MRSA است (2). در حال حاضر، گزارشات بسیار کمی از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس با کاهش حساسیت نسبت به ونکومايسين در ایران وجود دارد. اولین ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به ونکومايسين در ایران توسط امانینی و همکاران در سال 2007 گزارش شد که MIC این ایزوله برای ونکومايسين، 512 میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین شد (28). عظیمیان و همکاران نیز در سال 2012 یک سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به ونکومايسين را از نمونه تنفسی یک بیمار بستری در مشهد گزارش کردند (29).

همچنین بر اساس گزارش یوسفی و همکاران در

سال 2017، از 30 ایزوله MRSA جدا شده از تهران، 2 سویه دارای مقاومت به ونکومايسين با MIC بیش‌تر از 128 میکروگرم در میلی‌لیتر بودند (4). در مطالعه ما، تمام ایزوله‌های به دست آمده به ونکومايسين حساس بودند که می‌تواند نشان‌دهنده استفاده مناسب از این آنتی‌بیوتیک در منطقه مورد مطالعه باشد. همچنین میزان حساسیت بالا در برابر تری‌متوپریم - سولفامتوکسازول، به عنوان آنتی‌بیوتیک خط اول برای درمان UTI (3)، در ایزوله‌های MRSA دیده شد.

از 9 ایزوله که به وسیله آزمون انتشار دیسک سفوکی تین به عنوان MRSA تشخیص داده شد، 4 ایزوله *mecA* منفی بودند. یکی از مکانیسم‌های نادر مقاومت به متی‌سیلین به غیر از *mecA*، وجود یک مشابه جدید از *mecA* به نام *mecC* می‌باشد. مقاومت به واسطه حضور *mecC* نمی‌تواند با آزمایشاتی که *mecA* را تشخیص می‌دهد شناسایی شود (13). در مطالعه ما، از 5 ایزوله *mecA* مثبت، 2 ایزوله دارای *SCCmec* تیپ V و 3 ایزوله غیرقابل تیپ‌بندی بودند. *SCCmec* تیپ‌های IV و V انواع غالب در عفونت‌های اکتسابی از جامعه هستند (1). در این بررسی از 5 ایزوله *mecA* مثبت، 4 مورد از بیماران سرپایی جدا شدند که یکی از آن‌ها دارای تیپ V بود و سایرین غیر قابل تیپ‌بندی بودند که ممکن است به علت محدودیت پرایمر مورد استفاده در این بررسی باشد. سویه‌های MRSA معمولاً بیماران بستری در بیمارستان و یا سایر مراکز درمانی را آلوده می‌کنند (30)، اما به‌طور جالب توجه، تقریباً دو سوم از نمونه‌های MRSA ما از جامعه جدا شدند. مراکز کنترل و پیشگیری از بیماری (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) توصیه می‌کند که بیماران با کلونیزاسیون و یا عفونت با MRSA برای کنترل گسترش سویه‌های MRSA در اتاق‌های ایزوله نگهداری شوند (31). با این حال، در داخل جامعه، این اقدامات احتیاطی تماسی معمولاً دنبال نمی‌شود و ممکن است به گسترش بیش‌تر باکتری‌ها کمک کند.

قابل توجهی همراه باشد و برای جلوگیری از نتایج وخیم، باید درمان موثر صورت گیرد.

سپاسگزاری

این مطالعه حاصل پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد میکروب شناسی بوده و با حمایت مالی از دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان انجام شده است. بدین وسیله از بخش میکروب شناسی آزمایشگاه بیمارستان‌های توحید و بعثت قدردانی می‌شود. این طرح توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کردستان با شماره IR.MUK.REC.1396.11 تصویب شده است.

References

1. Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Infect 2007; 13(3): 222-235.
2. Looney AT, Redmond EJ, Davey NM, Daly PJ, Troy C, Carey BF, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a uropathogen in an Irish setting. Medicine 2017; 96(14): e4635.
3. Brumbaugh AR, Mobley HL. Preventing urinary tract infection: progress toward an effective *Escherichia coli* vaccine. Expert Rev Vaccines 2012; 11(6): 663-676.
4. Yousefi M, Fallah F, Arshadi M, Pourmand MR, Hashemi A, Pourmand G. Identification of tigecycline-and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* strains among patients with urinary tract infection in Iran. New Microbes New Infect 2017; 19: 8-12.
5. Chihara S, Popovich KJ, Weinstein RA, Hota B. *Staphylococcus aureus* bacteriuria as a prognosticator for outcome of *Staphylococcus aureus* bacteremia: a case-control study. BMC Infect Dis 2010; 10(1): 225.
6. Megged O. *Staphylococcus aureus* urinary tract infections in children are associated with urinary tract abnormalities and vesico-ureteral reflux. Pediatr Nephrol 2014; 29(2): 269-272.
7. Jevons MP. "Celbenin"-resistant staphylococci. Br Med J 1961; 1(5219): 124-125.
8. Turlej A, Hryniewicz W, Empel J. Staphylococcal cassette chromosome mec (Scmec) classification and typing methods: an overview. Pol J Microbiol 2011; 60(2): 95-103.
9. Goudarzi M, Abiri P, Nasirian S, Ghaderi Afshari SG. SCCmec and spa typing of *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients with urinary tract infection: emergence of spa types t426 and t021 in Iran. Jundishapur J Microbiol 2018; 11(5): e3568.
10. Grabe M, Bartoletti R, Bjerklund Johansen

- TE, Cai T, Çek M, Köves B, et al. Guidelines on urological infections. European Association of Urology. 2015. Available at: https://uroweb.org/wp-content/uploads/19-Urological-infections_LR2.pdf. Accessed May 2, 2019.
11. Tille P. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 13th ed. Amsterdam: Elsevier Health Sciences; Mosby; 2015.
 12. Zhang K, Sparling J, Chow BL, Elsayed S, Hussain Z, Church DL, et al. New quadriplex PCR assay for detection of methicillin and mupirocin resistance and simultaneous discrimination of *Staphylococcus aureus* from coagulase-negative staphylococci. J Clin Microbiol 2004; 42(11): 4947-4955.
 13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 27th informational supplement (M100). 27th ed. Wayne Pa: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.
 14. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey R, Carmeli Y, Falagas M, Giske C, et al. Multidrug resistant, extensively drug resistant and pandrug resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect 2012; 18(3): 268-281.
 15. Kuske CR, Banton KL, Adorada DL, Stark PC, Hill KK, Jackson PJ. Small-scale DNA sample preparation method for field PCR detection of microbial cells and spores in soil. Appl Environ Microbiol 1998; 64(7): 2463-2472.
 16. Khare P, Raj V, Chandra S, Agarwal S. Quantitative and qualitative assessment of DNA extracted from saliva for its use in forensic identification. J Forensic Dent Sci 2014; 6(2): 81-85.
 17. Zhang K, McClure JA, Elsayed S, Louie T, Conly JM. Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome mec types I to V in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 2005; 43(10): 5026-5033.
 18. Onanuga A, Awhowho GO. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* strains from patients with urinary tract infections in Yenagoa, Nigeria. J Pharm Bioallied Sci 2012; 4(3): 226-260.
 19. Farajnia S, Alikhani MY, Ghotaslou R, Naghili B, Nakhband A. Causative agents and antimicrobial susceptibilities of urinary tract infections in the northwest of Iran. Int J Infect Dis 2009; 13(2): 140-144.
 20. Rowe TA, Juthani-Mehta M. Urinary tract infection in older adults. Aging health 2013; 9(5): 519-528.
 21. Rağbetli C, Parlak M, Bayram Y, Guducuoglu H, Ceylan N. Evaluation of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolates by years. Interdiscip Perspect Infect Dis 2016; 2016.
 22. Yousefi M, Pourmand MR, Fallah F, Hashemi A, Mashhadi R, Nazari-Alam A. Characterization of *Staphylococcus aureus* biofilm formation in urinary tract infection. Iran J Public Health 2016; 45(4): 485-493.
 23. Pezeshki Najafabadi M, Dagoohian A, Rajaie S, Zarkesh-Esfahani SH, Edalati M. Common microbial causes of significant bacteriuria and their antibiotic resistance pattern in the Isfahan Province of Iran. J Chemother 2018; 30(6-8): 348-353.
 24. Čížman M. The use and resistance to antibiotics in the community. Int J Antimicrob Agents 2003; 21(4): 297-307.

25. Leverstein-van Hall MA, Box AT, Blok HE, Paauw A, Fluit AC, Verhoef J. Evidence of extensive interspecies transfer of integron-mediated antimicrobial resistance genes among multidrug-resistant Enterobacteriaceae in a clinical setting. *J Infect Dis* 2002; 186(1): 49-56.
26. Rahimi F, Katouli M, Karimi S. Biofilm production among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from catheterized patients with urinary tract infection. *Microb Pathog* 2016; 98: 69-76.
27. Marshall BM, Levy SB. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clin Microbiol Rev* 2011; 24(4): 718-733.
28. Emaneini M, Aligholi M, Hashemi FB, Jabalameli F, Shahsavan S, Dabiri H, et al. Isolation of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in a teaching hospital in Tehran. *J Hosp Infect* 2007; 66(1): 92-93.
29. Azimian A, Havaei SA, Fazeli H, Naderi M, Ghazvini K, Samiee SM, et al. Genetic characterization of a vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from the respiratory tract of a patient in a university hospital in northeastern Iran. *J Clin Microbiol* 2012; 50(11): 3581-3585.
30. Lunacek A, Koenig U, Mrstik C, Radmayr C, Horninger W, Plas E. Unexpected multidrug resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in urine samples: A single-center study. *Korean J Urol* 2014; 55(5): 349-353.
31. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). March 24, 2016. Available at: <https://www.cdc.gov/mrsa/healthcare/clinicians/precautions.html>. Accessed May 2, 2019.
32. Al Mohajer M, Musher DM, Minard CG, Darouiche RO. Clinical significance of *Staphylococcus aureus* bacteriuria at a tertiary care hospital. *Scand J Infect Dis* 2013; 45(9): 688-695.