

ژنوتایپینگ کاست کروموزومی SCCmec در ایزوله های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس با روش multiplex PCR

جواد زره‌ساز^۱، شهین نجار پیرایه^{۲*}

۱- کارشناسی ارشد میکروب شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- استاد گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

*نشانی برای مکاتبه: najarp_s@modares.ac.ir

پذیرش برای چاپ: خرداد نود و هشت

دریافت مقاله: فروردین نود و هشت

چکیده

سابقه و هدف: استفاده گسترده از آنتی بیوتیک های مختلف سبب مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس به آنتی بیوتیک های درمانی شده است. در این میان مقاومت به متی سیلین به دلیل محدود کردن گزینه های درمانی اهمیت ویژه ای پیدا کرده است. لذا در این مطالعه به ارزیابی مقاومت دارویی و بررسی ژنوتیپی کاست کروموزومی mec استافیلوکوکوس (SCCmec) در سویه های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران بستری شده در بیمارستان های شهر تهران پرداختیم.

روش کار: ۲۱۵ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس از نمونه های کلینیکی جمع آوری شد. سپس برای بررسی مقاومت های آنتی بیوتیکی از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد. PCR برای تشخیص ژن mecA انجام شد. تایپ های مختلف SCCmec با استفاده از روش Multiplex PCR مورد شناسایی قرار گرفت.

یافته ها: بیشترین میزان مقاومت به ترتیب در برابر تتراسایکلین ۴۹/۳٪، اگزاسیلین ۴۶/۰۴٪ و اریترومايسين ۳۶/۵٪ و سپس نسبت به سیپروفلوکسازین ۲۹/۷٪، جنتامایسین ۲۸/۳٪، کلیندامایسین ۲۷/۴٪، کوتریموکسازول ۲۳/۳٪ و ونکومايسين (۰) مشاهده شد. فراوانی ژن mecA در سویه های مورد بررسی ۴۶/۰۴٪ بود. آنالیز حاصل از Multiplex PCR نشان داد که توزیع تیپ های مختلف SCCmec در مطالعه حاضر به ترتیب فراوانی شامل تیپ سه (۸۸/۹٪)، تیپ دو (۳/۰۳٪)، تیپ یک (۲/۰۲٪) و (غیر قابل تیپ بندی ۶/۰۵٪) بود.

بحث: به نظر می رسد یک تنوع ژنتیکی در بین سویه های در حال چرخش در بیمارستان های مورد مطالعه وجود دارد که بر نیاز برای اجرای سیاست کنترل عفونت مناسب برای کاهش انتشار تایپ های MRSA مقاوم به چند دارو تاکید می کند.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، MRSA، SCCmec، Multiplex PCR

مقدمه

به دلیل افزایش میزان مقاومت در بین سویه های استافیلوکوکوس اورئوس، آمار عفونت های بیمارستانی ناشی از این باکتری در سال های اخیر در مقایسه با گذشته افزایش چشمگیری داشته است (۲). مقاومت به متی سیلین Methicillin-Resistant (MRSA) Staphylococcus aureus یکی از مهم ترین و شایع ترین الگوی مقاومت در بین سویه های استافیلوکوکوس اورئوس است که ناشی از حضور ژن mecA است که به صورت کروموزومی کد می شود (۳).

جنس استافیلوکوکوس، حداقل ۳۲ گونه دارد. از میان آن ها استافیلوکوکوس اورئوس مهمترین پاتوژن انسانی با طیف وسیعی از بیماری ها می باشد. هر فردی در طول حیات خود به برخی از عفونت های استافیلوکوکوس نظیر عفونت های خفیف پوستی تا عفونت های شدید و مسمومیت غذایی که زندگی فرد را تهدید می کند، مبتلا می شود (۱). استافیلوکوکوس اورئوس به واسطه تولید توکسین یا به واسطه تهاجم مستقیم و تخریب بافت ها بیماری را ایجاد می کند.

تایپ های مختلف SCCmec به صورت روتین در انتخاب موثر روش های پیشگیری و درمانی عفونت های بیمارستانی ناشی از این باکتری بسیار حیاتی است. بنابراین هدف از مطالعه حاضر تایپینگ ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس جمع آوری شده از بیماران در بیمارستان های شهر تهران بر اساس آنالیز کاست کروموزومی mec و همچنین تعیین الگوی فنوتیپی مقاومت در بین این سویه ها است.

روش کار

در این مطالعه توصیفی مقطعی که در یک دوره ۱۱ ماهه از فروردین تا بهمن ماه سال ۱۳۹۵ انجام شد، ۲۱۵ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس ایجاد کننده عفونت در بیماران بستری که از نمونه های مختلف بالینی نظیر تراشه (۴۱/۱٪)، ادرار (۱۶/۷)، زخم (۱۶/۳)، آگزودا (۷/۹)، بافت (۶/۱)، خون (۰/۶) و چشم (۵/۶) جداسازی شده بود، بررسی شدند. نمونه ها در کوتاهترین زمان ممکن و در عرض کمتر از ۴ ساعت به آزمایشگاه منتقل شدند. برای شناسایی فنوتیپی سویه های استافیلوکوک اورئوس از روش های استاندارد میکروب شناسی شامل رنگ آمیزی گرم، کشت در محیط مانیتول سالت آگار (MSA; Merck, Germany)، تست کوآگولاز، تست کاتالاز، تست Dnase استفاده شد. سویه های تایید شده به عنوان استافیلوکوکوس در محیط تریپتیکیس سوی برات (TSB; Merck, Germany) حاوی ۲۰ درصد گلیسرول در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد برای انجام سایر آزمایش ها و تست های مولکولی ذخیره شدند. مقاومت دارویی ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به ۸ آنتی بیوتیک اگزاسیلین (۵μg)، ونکومایسین (۳۰μg)، تتراسایکلین (۳۰μg)، اریترومایسین (۱۵μg)، جنتامایسین (۱۵μg)، سیپروفوکسازین (۵μg)، کوترموکسازول (۲۵μg) و کلیندامایسین (۲μg) خریداری شده از شرکت رسکو دانمارک به روش دیسک دیفیوژن و بر اساس دستورالعمل CLSI بررسی شد (۱۴). برای اطمینان از صحت انجام کار و همچنین بررسی کنترل کیفی دیسک ها و پودرهای آنتی بیوتیک از سویه استاندارد استافیلوکوک اورئوس ATCC25923 و ATCC29213 به عنوان سویه های استاندارد در هر بار انجام آزمایش استفاده شد. حداقل غلظت مهارکنندگی minimum inhibitory concentration; MIC) برای آنتی بیوتیک اگزاسیلین با استفاده از روش برات دایلوژن و مطابق با روش توصیه شده توسط CLSI انجام شد (۱۴).

تمامی سویه ها از نظر ژن mecA با استفاده از تکنیک PCR مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای این منظور استخراج DNA ژنومیک با استفاده از کیت استخراج DNA صورت گرفت. وجود ژن mecA با استفاده از پرایمر های اختصاصی (جدول ۱) مورد بررسی قرار گرفت. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر (مخلوط) واکنش ۱۲/۵ میکرولیتر مستر میکس شرکت Ampliqun، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر و ۲ میکرولیتر DNA باکتری و ۸/۵

ژن mecA به همراه ژن های تنظیم گر بیان آن و توالی های الحاقی (IS)، تشکیل یک کمپلکس ژنی به نام mecA Complex را داده که این مجموعه بر روی یک جزیره ژنی بسیار بزرگ به نام Staphylococcal Cassette (SCC mecA) Chromosome قرار گرفته است که امکان انتقال آن بین سویه های مختلف جنس استافیلوکوکوس را فراهم آورده و باعث گسترش مقاومت می گردد (۴). تا بحال ۵ کلاس (A-E) از mecA Complex شناسایی شده است. SCC mec علاوه بر mecA complex از دو قسمت دیگر یعنی ccr complex و J Regions تشکیل شده است (۵). Sccmec بر اساس ترکیب کلاس mec gene complex و تایپ ccr آن به ۱۲ تایپ اصلی (SCCmec type I - SCCmec type XII) طبقه بندی می شود (۶). SCC mec type I تنها ژن mecA را در خود جای داده است و از این روی فقط به آنتی بیوتیک های خانواده بتالاکتام، مقاومت نشان می دهد (۷). SCCmec تیپ II نظیر تیپ ۳، در بین سویه های بیمارستانی دیده می شود. در این نوع، علاوه بر ژن mecA ترانسپوزون Tn 554 و پلاسمید PUB110 نیز قرار دارند که ترانسپوزون Tn 554 با دارا بودن ژن ermA مقاومت به اریترومایسین و با داشتن ژن spc، مقاومت به اسپکتینومایسین را باعث می گردد. پلاسمید PUB110 که بین دو توالی الحاقی IS 431 قرار گرفته است با دارا بودن ژن های aadD و ble، مقاومت به کانامایسین، توبرامایسین و بلتومایسین را موجب می گردد (۸). SCCmec تیپ III بزرگترین تایپ کاست ژنی می باشد و دارای دو زیر تایپ A و B می باشد. در این تایپ پلاسمیدهای pT 181 و pI 258 و ترانسپوزون Tn 554 و پسدوترانسپوزون Tn 554 قرار گرفته اند. این پلاسمیدها به ترتیب منجر به مقاومت به تتراسیکلین، پنی سیلین و فلزات سنگین از قبیل جیوه می گردد. ترانسپوزون Tn 554 حامل ژن ermA بوده و مقاومت به ماکرولید، لینکوزامید و استرپتوگرامین را باعث می شود. پسدوترانسپوزون Tn 554 نیز با داشتن ژن cad مقاومت به کادمیوم را کم می نماید (۹). SCCmec تیپ V مانند SCC mec I, IV, VI, VII تنها حامل ژن مقاومت به متی سیلین (mecA) است (۱۰). SCCmec تیپ VIII دارای ژن های مقاومت به اریترومایسین و اسپکتینومایسین است (۱۱).

امروزه درمان و پیشگیری از عفونت های ناشی از سویه های MRSA به دلیل وجود مقاومت همزمان به آنتی بیوتیک های مختلف با مشکل مواجه شده است، به طوری که روز به روز تعداد آنتی بیوتیک های در دسترس برای درمان این عفونت ها کاهش می یابد (۱۲، ۱۳). بنابراین کنترل عفونتهای ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس امروزه نسبت به گذشته اهمیت بسیار بیشتری یافته است. با توجه به اهمیت سویه های MRSA در ایجاد عفونت های بیمارستانی، بررسی الگوی مقاومت دارویی و همچنین تعیین فراوانی

سانتی گراد . مرحله طویل شدن رشته هدف به مدت ۲ دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگراد و مرحله طویل شدن نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگراد انجام شد. محصول PCR پس از الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱درصد ، مورد ارزیابی قرار گرفت.

میکرولیتزر آب مقطر استریل (در طی ۳۵ سیکل ، شامل: مرحله اولیه باز شدن دو رشته DNA به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد ، مرحله باز شدن دو رشته DNA ۴۵ ثانیه در ۹۴ درجه سانتیگراد، مرحله اتصال پرایمرها ۴۵ ثانیه در ۴۹ درجه

جدول ۱. لیست پرایمرهای استفاده شده جهت بررسی حضور ژن *mecA* در ایزوله های استافیلوکوکوس

Target	Primer Sequence	Size, bp	Annealing temperature	Reference s
<i>mecA</i>	F: GTG AAG ATA TAC CAA GTG ATT R: ATG CGC TAT AGA TTG AAA GGA T	147 bp	49	(15)

توسط Boy و همکاران (۱۶) تعیین شد. از سویه های بالینی اهدایی توسط دکتر عینی از دانشگاه تهران بعنوان کنترل مثبت برای انجام PCR شد.

تایپ های مختلف *SCCmec* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی اشاره شده در جدول ۲ و روش شرح داده شده

جدول ۲. توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای بکار رفته برای *SCC mec Typing*

Target	Primer Sequence (5' → 3')	Size	Ref.
<i>SCCmec I</i>	F: GCTTTAAAGAGTGTCTGTTACAGG R: GTTCTCTCATAGTATGACGTCC	613 bp	(17)
<i>SCCmec II</i>	F: CGTTGAAGATGATGAAGCG R: CGAAATCAATGGTTAATGGACC	398 bp	(17)
<i>SCCmec III</i>	F: CCATATTGTGTACGATGCG R: CCTTAGTTGTCGTAACAGATCG	280 bp	(17)
<i>SCCmec Iva</i>	F: GCCTTATTCGAAGAAACCG R: CTACTCTTCTGAAAAGCGTCG	776 bp	(17)
<i>SCCmec IVb</i>	F: TCTGGAATTACTTCAGCTGC R: AAACAATATTGCTCTCCCTC	493 bp	(17)
<i>SCCmec IVc</i>	F: ACAATATTTGTATTATCGGAGAGC R: TTGGTATGAGGTATTGCTGG	200 bp	(17)
<i>SCCmec IVd</i>	F: CTCAAAAATACGGACCCCAATACA R: TGCTCCAGTAATTGCTAAAG	881 bp	(17)
<i>SCCmec V</i>	F: GAACATTGTTACTTAAATGAGCG R: TGAAAGTTGTACCCTTGACACC	325 bp	(17)

یافته ها

مختلف در جدول ۳ نشان داده شده است . بیشترین مقاومت همزمان دارویی در بین سویه های بررسی شده به ترتیب شامل مقاومت همزمان به یک آنتی بیوتیک (۲۶/۱۰۴)، پنج آنتی بیوتیک (۸/۳۷)، شش آنتی بیوتیک (۷/۹)، هفت آنتی بیوتیک (۶/۱۵۱)، دو آنتی بیوتیک (۶/۱۵۱)، چهار آنتی بیوتیک (۵/۱۱۱)، سه آنتی بیوتیک (۵/۱۶) بود.

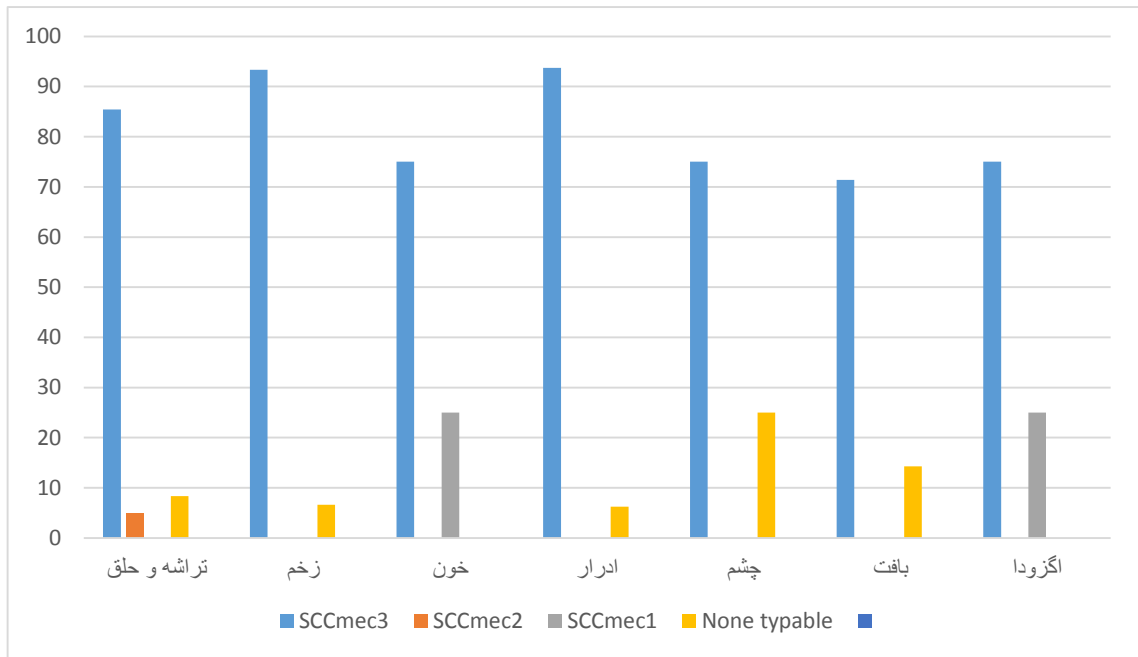
بیشترین میزان مقاومت به ترتیب در برابر تتراسایکلین ۴۹/۳، اگزاسیلین ۴۶/۰۴، اریترومايسين ۳۶/۵، سیپروفلوکسازین ۲۹/۱۷، جنتامایسین ۲۸/۳، کلیندامایسین ۲۷/۴، کوتریموکسازول ۲۳/۳ مشاهده شد. هیچ کدام از سویه ها به ونکومايسين مقاوم نبودند. فراوانی مقاومت های آنتی بیوتیکی سویه ها در نمونه های

جدول ۳. فراوانی مقاومت های آنتی بیوتیکی سویه ها در نمونه های مختلف

آنتی بیوتیک	تراشه	ادرار	زخم	خون	چشم	بافت	اگزودا
اگزاسیلین	۴۸/۳۱	۴۴/۴۴	۴۵/۷۱	۳۰/۷۶	۳۳/۳۳	۵۳/۴۸	۴۳/۷۵
تتراسایکلین	۴۹/۴۳	۶۱/۱۱	۴۴/۱۱	۵۹	۴۱/۷	۲۳/۰۷	۶۰
اریترومايسين	۳۲/۱۸	۴۱/۶۶	۲۹/۴۱	۶۶/۶۶	۵۴/۵۴	۳۰/۷۶	۴۰
جنتامایسین	۲۱/۳۸	۴۱/۷	۲۹/۴۱	۵۰	۲۷/۲۷	۱۵/۳۸	۳۳/۳۳
کلیندامایسین	۱۹/۱	۳۶/۱۱	۳۲/۳۵	۴۶/۱۵	۲۵	۲۳/۰۷	۲۶/۶۶
سیپروفلوکسازین	۳۲/۵۸	۶/۶۶	۴۲/۸۵	۴۶/۱	۴۱/۶۶	۲۳	۶/۶۶
کوتریموکسازول	۲۲/۴۷	۱۹/۴۴	۲۰/۵۸	۵۸/۳۳	۱۸/۲	۳۰/۱۸	۲۰
ونکومايسين

فراوانی ژن *mecA* در سویه های مورد بررسی ۴۶/۰۴ بود. آنالیز حاصل از Multiplex PCR نشان داد که توزیع تیپ های مختلف *SCC mec* در مطالعه حاضر به ترتیب فراوانی شامل تیپ سه (۸۸/۹)، تیپ دو (۳/۱۰۳)، تیپ یک (۲/۱۰۲) و None (۶/۰۵ typable) بود. در تمامی نمونه ها *SCC mec* تیپ سه بیشترین فراوانی را داشت (نمودار ۱).

نتایج تست MIC برای اگزاسیلین نشان داد که ۲۳/۲۵٪ از سویه ها دارای MIC کمتر از ۲۵٪، ۱۵/۸۱٪ از سویه ها MIC معادل ۲۵-۰/۵، ۱۴/۸۸٪ سویه ها MIC معادل ۱-۲، ۲۷/۹۰٪ سویه ها MIC معادل ۴-۸، ۸/۳۷٪ سویه ها MIC معادل ۱۶-۳۲، ۸/۳۷٪ سویه ها MIC معادل ۶۴-۱۲۸، ۱/۳۹٪ سویه ها دارای MIC معادل ۲۵۶ بودند. بر طبق استانداردهای CLSI در مورد اگزاسیلین مقادیر $MIC \geq 4$ مقاوم و $MIC \leq 2$ حساس در نظر گرفته می شود. بر این اساس؛ نتایج تست MIC برای اگزاسیلین نشان داد که ۵۳/۹۴٪ از سویه ها حساس و ۴۶/۰۴٪ از سویه ها در برابر اگزاسیلین مقاوم بودند.



نمودار ۱. ارتباط ژن های SCCmec با عفونت

کروموزومی SCCmec3 داشتند و در مقابل سویه های دارای کاست کروموزومی SCCmec3 در برابر تتراسایکلین و کوتریموکسازول مقاومت بیشتری از سویه های گروه SCCmec1 داشتند (جدول ۴)

تمامی سویه های کاست کروموزومی در برابر اگزاسیلین مقاومت کامل داشتند. سویه های دارای کاست کروموزومی SCCmec1 در مقابل اریترومایسین، سیپروفلوکسازین، جنتامایسین و کلیندامایسین مقاومت بیشتری نسبت به سویه های کاست

جدول ۴. مقاومت های آنتی بیوتیکی در سویه های SCCmec

	اگزاسیلین	اریترومایسین	تتراسایکلین	کوتریموکسازول	کلیندامایسین	ونکومایسین	سیپروفلوکسازین	جنتامایسین
SCCmec1	٪۱۰۰	٪۵۰	٪۵۰	۰	٪۵۰	۰	٪۵۰	٪۵۰
SCCmec2	٪۱۰۰	٪۳۳/۳۳	٪۳۳/۳۳	۰	٪۳۳/۳۳	۰	۰	٪۳۳/۳۳
SCCmec3	٪۱۰۰	٪۴۶	٪۵۶/۱۸	٪۲۷/۲۷	٪۳۶/۳۶	۰	٪۴۳/۸۲	٪۳۸/۶۳
None typable	٪۱۰۰	٪۴۲/۸۵	٪۷۱/۴۲	٪۱۴/۲۸	٪۴۲/۸۵	۰	٪۴۲/۸۵	٪۴۲/۸۵

بحث

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از عوامل مهم عفونت های بیمارستانی و اکتسابی است که با طیف گسترده ای از بیماری ها در ارتباط است، به طوری که سویه های استافیلوکوکوس اورئوس شایع ترین پاتوژن جدا شده از عفونت های خون، پوست، بافت نرم و تراشه می باشند (۱۸، ۱۹). در سال های اخیر به دلیل استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک ها و انتشار ژن های مقاوم در بین سویه های MRSA درمان عفونت های ناشی از این باکتری با چالش مواجه شده است (۲۰). در این تحقیق، تمامی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی، نسبت به آنتی بیوتیک ونکومايسين، حساسیت کامل داشته و هیچگونه مقاومتی نسبت به این آنتی بیوتیک ، در سویه های مورد بررسی ما، مشاهده نشد. بنابراین این آنتی بیوتیک داروی انتخابی مناسبی برای درمان عفونت های استافیلوکوکی به شمراری رود ولی با توجه به گسترش سویه های دارای حساسیت متوسط و افزایش احتمال پیدایش سویه های مقاوم به ونکومايسين باید از مصرف بی رویه این آنتی بیوتیک در موارد غیرضروری اجتناب کرد. با توجه به نتایج حاصل از آزمایش دیسک دیفیوژن مشخص شد که میزان مقاومت به اگزاسیلین در حدود ۴۶/۱٪ بود. مقاومت به آنتی بیوتیک اریترومايسين ۳۶/۵٪ در صورتی که میزان مقاومت به کلیندامایسین ۲۷/۴٪ درصد بود. میزان مقاومت به سپیروفلوکسازین ۲۹/۷٪، جنتامایسین ۲۸/۳٪، تتراسایکلین ۴۹/۳٪، کوتریموکسازول ۲۳/۳٪ می باشد. در مطالعه ای که توسط مصطفایی و همکاران در تهران انجام شد ، میزان مقاومت های آنتی بیوتیکی در تست دیسک دیفیوژن برای اگزاسیلین (۴۲٪)، اریترومايسين (۹۱/۵٪)، تتراسایکلین (۸۷٪)، جنتامایسین (۷۳٪/۵)، کوتریموکسازول (۷۵٪) گزارش شد و در مقابل ونکومايسين مقاومتی دیده نشده بود . از مقایسه نتایج مشخص می شود که مقاومت به اگزاسیلین در مطالعه ما افزایش یافته است و در برابر سایر آنتی بیوتیک های مورد بررسی ، میزان مقاومت ها در بررسی ما کمتر بود. نکته حایز اهمیت در این مطالعه ، جداسازی چندین سویه با مقاومت های مختلف بود که به عفونت عنوان زنگ خطری در درمان های استافی بشمار می آید. طبق بررسی حاضر میزان شیوع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA) در جامعه مورد بررسی ۴۶/۴٪ بود . این میزان با توجه به مطالعاتی که در اکثر نقاط کشور و سایر نقاط دنیا صورت گرفته است، نشانگر افزایش شیوع این سویه های مقاوم است.

میزان شیوع MRSA در دیگر کشورها نیز، متغیر می باشد و از ۲٪ در کشورهای سوئیس و هلند تا ۸۰٪ در چین، گزارش شده است (۱۸). شیوع MRSA در مطالعه حاضر به ترتیب در نمونه های تراشه و زخم، بالاترین فراوانی (۲۳٪/۲۳، ۳۴٪/۳۴) و در نمونه های پوست و csf کمتر ین فراوانی (۳٪/۴) را داشت. در مطالعه وحدانی و همکاران نیز، بیشترین موارد MRSA از خلط (۴۱٪) و کمترین آن از سینوس (۲٪) به دست آمد (۱۸). تفاوت ها در شیوع مقاومت به متی سیلین در سویه های استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه های مختلف ممکن است به واسطه درمان طولانی مدت آنتی بیوتیکی بیماران با صدمات بالا باشد که دوره بستری طولانی تر و در نتیجه فشار انتخابی افزایش یافته ای را داشته اند.

بر اساس نتایج به دست آمده از مطالعه های پیشین در خصوص SCCmec تایپینگ سویه های MRSA مشخص شده است که ارتباط معناداری بین عفونت های بیمارستانی مربوط به سویه های MRSA و تایپ های یک تا سه از این باکتری وجود دارد . در حالی که SCCmec تایپ چهار و پنج در ارتباط با عفونت های MRSA اکتسابی از جامعه هستند (۲۱، ۲۲). در مطالعه حاضر SCCmec تیپ سه دارای بیشترین میزان فراوانی (۸۸/۹٪) بود . این نتایج در راستای یافته های به دست آمده از مطالعات پیشین مبنی بر شیوع بالای SCCmec تیپ سه در اکثر کشورهای آسیایی (۲۳) و برزیل (۲۴) بود. در مطالعات مختلف شیوع متفاوتی از SCCmec های تیپ های مختلف گزارش شده است . در مطالعه گودرزی و همکاران که بر روی ۱۰۶ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران سوختگی صورت پذیرفت ؛ بیشترین فراوانی متعلق به SCCmec تیپ سه (۷۴٪/۷) و سپس SCCmec تیپ چهار (۲۸٪/۳) بود (۲۵). در مطالعه انجام شده توسط رشیدی و همکاران (۲۰) بر روی ۱۰۶ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بخش ICU هفت بیمارستان شهر تهران ، SCCmec تیپ چهار دارای بیشترین فراوانی (۵۷٪/۹) بود. فراوانی SCCmec تیپ سه در مطالعه آنها ۲۲/۱٪ گزارش شد . در مطالعه انجام شده از سوی Vázquez و همکاران (۲۶) در کشور اسپانیا بیشترین تیپ شناسایی شده در بین ایزوله های MRSA بررسی شده SCCmec تیپ چهار (۸۳٪/۳) بود. فراوانی تیپ های یک و دو در مطالعه آنها به ترتیب ۱۰ و ۶/۷٪ بود. در حالی که SCCmec تیپ سه در مطالعه آن ها مشاهده نشد.

نتیجه گیری

MRSA این امکان را فراهم می سازد تا رژیم درمانی مناسب برای درمان بیماران انجام گیرد و عفونت های بیمارستانی کنترل گردد .
بنابر این نتایج تحقیق حاضر می تواند مورد استفاده پزشکان برای انتخاب تدابیر مناسب در جهت درمان، جلوگیری و کنترل عفونت های بیمارستانی با سویه های MRSA قرار گیرد.

در این مطالعه نشان داده شد که مقاومت چند دارویی در میان سویه های MRSA شایع بوده و به عنوان تهدیدی جدی برای بهداشت و درمان کشور محسوب می شود. همچنین آگاهی از فراوانی سویه های MRSA در نمونه های بالینی بیماران، نمونه های پرسنل پزشکی بیمارستان و افراد سالم حامل سویه های

REFERENCES

۱. Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG. Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical microbiology reviews*. 2015;28(3):603-61.
۲. Stapleton PD, Taylor PW. Methicillin resistance in Staphylococcus aureus: mechanisms and modulation. *Science progress*. 2002;85(1):57-72.
۳. Wang L, Ruan S. Modeling nosocomial infections of methicillin-resistant Staphylococcus aureus with environment contamination. *Scientific reports*. 2017;۸(۱):۱۷۷۸.
۴. Rolo J, Worning P, Nielsen JB, Bowden R, Bouchami O, Damborg P, et al. Evolutionary origin of the staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec). *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2017;61(6):e02302-16.
۵. Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T. The emergence and evolution of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Trends in microbiology*. 2001;9(10):486-93.
۶. Shore A, Rossney AS, Keane CT, Enright MC, Coleman DC. Seven novel variants of the staphylococcal chromosomal cassette mec in methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates from Ireland. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2005;49(5):2070-83.
۷. Hanssen A-M, Ericson Sollid JU. SCC mec in staphylococci: genes on the move. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2006;46(1):۸-۱۲.
۸. Ma XX, Ito T, Tiensasitorn C, Jamklang M, Chongtrakool P, Boyle-Vavra S, et al. Novel type of staphylococcal cassette chromosome mec identified in community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2002;46(4):1147-52.
۹. Coombs GW, Nimmo GR, Bell JM, Huygens F, O'Brien FG, Malkowski MJ, et al. Genetic diversity among community methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains causing outpatient infections in Australia. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004;42(10):4735-43.
۱۰. Archer GL, Scott J. Conjugative transfer genes in staphylococcal isolates from the United States. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1991;35(12):2500-4.

- ۱۱ Liu J, Chen D, Peters BM, Li L, Li B, Xu Z, et al. Staphylococcal chromosomal cassettes mec (SCCmec): a mobile genetic element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbial pathogenesis*. 2016;101:56-67.
- ۱۲ Ziebuhr W, Hennig S, Eckart M, Kränzler H, Batzilla C, Kozitskaya S. Nosocomial infections by *Staphylococcus epidermidis*: how a commensal bacterium turns into a pathogen. *International journal of antimicrobial agents*. 2006;28:14-20.
- ۱۳ Shekarabi M, Hajikhani B, Chirani AS, Fazeli M, Goudarzi M. Molecular characterization of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical samples: A three year study in Tehran, Iran. *PloS one*. 2017;12(8):e0183607.
- ۱۴ Wayne P. Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 2011.
- ۱۵ Karmakar A, Dua P, Ghosh C. Biochemical and molecular analysis of *Staphylococcus aureus* clinical isolates from hospitalized patients. *Canadian journal of infectious diseases and medical microbiology*. 2016;2016.
- ۱۶ Boye K, Bartels MD, Andersen IS, Moeller JA, Westh H. A new multiplex PCR for easy screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SCCmec types I–V. *Clinical Microbiology and Infection*. 2007;13(7):725-7.
- ۱۷ Zhang K, McClure J-A, 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*. *Journal of clinical microbiology*. 2005;43(10):5026-33.
- ۱۸ Peng Q, Hou B, Zhou S, Huang Y, Hua D, Yao F, et al. Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) analysis and antimicrobial susceptibility profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates in a teaching hospital, Shantou, China. *African Journal of Microbiology Research* . ۸-۸۴۴:(۹)۴;۲۰۱۰
- ۱۹ Shittu AO, Lin J. Antimicrobial susceptibility patterns and characterization of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* in KwaZulu-Natal province, South Africa. *BMC Infectious diseases*. 2006;6(1):125.
- ۲۰ Nezhad RR, Meybodi SM, Rezaee R, Goudarzi M, Fazeli M. Molecular characterization and resistance profile of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from hospitalized patients in intensive care unit, Tehran-Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2017;10(3).
- ۲۱ Goudarzi M, Seyedjavadi SS, Nasiri MJ, Goudarzi H, Nia RS, Dabiri H. Molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated from patients with bacteremia based on MLST, SCCmec, spa, and agr locus types analysis. *Microbial pathogenesis*. 2017;104:328-35.
- ۲۲ Goudarzi M, Goudarzi H, Figueiredo AMS, Udo EE, Fazeli M, Asadzadeh M, et al. Molecular characterization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from intensive care units in Iran: ST22-SCCmec IV/t790 emerges as the major clone. *PloS one*. 2016;11(5):e0155529.
- ۲۳ Ko KS, Lee J-Y, Suh JY, Oh WS, Peck KR, Lee NY, et al. Distribution of major genotypes among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Asian countries. *Journal of clinical microbiology*. 2005;43(1):421-6.
- ۲۴ Rodrigues MVP, Fortaleza CMCB, Riboli DFM, Rocha RS, Rocha C, de Souza MdLR. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a burn unit from Brazil. *Burns*. 2013;39(6):1242-9.
- ۲۵ Goudarzi M, Bahramian M, Tabrizi MS, Udo EE, Figueiredo AMS, Fazeli M, et al. Genetic diversity of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from burn patients in Iran: ST239-SCCmec III/t037 emerges as the major clone. *Microbial pathogenesis*. 2017;105:1-7.
- ۲۶ Pérez-Vázquez M, Vindel A, Marcos C, Oteo J, Cuevas O, Trincado P, et al. 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. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2008;63(1):21-31.