

بررسی خصوصیات مولکولی و الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی استافیلوکوکوس ارتوس مقاوم به متی سیلین در بیمارستان آموزشی شهید بهشتی کاشان

الهام زینلی^۱، دکتر رضوان منیری^۲، سید غلام عباس موسوی^۳

نویسنده‌ی مسؤل: کاشان، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، دانشکده‌ی پزشکی، گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی moniri@kaums.ac.ir

دریافت: ۸۹/۱۲/۳ پذیرش: ۹۰/۴/۶

چکیده

زمینه و هدف: استافیلوکوکوس ارتوس مقاوم به متی سیلین شایع‌ترین عامل عفونت بیمارستانی و عامل مهم ابتلا و مرگ و میر در جهان است. هدف از این مطالعه تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و ساب تایپ‌های *SCCmec* در سویه‌های استافیلوکوکوس ارتوس مقاوم به متی سیلین (*MRSA*) بود.

روش بررسی: این مطالعه‌ی توصیفی بر روی ۸۷ سویه‌ی *MRSA* جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان آموزشی شهید بهشتی کاشان در سال ۱۳۸۹ انجام پذیرفت. الگوی حساسیت و مقاومت نسبت به ۱۰ آنتی بیوگرام با روش دیسک دیفیوژن تعیین گردید. ژن *mecA* و ژنوتیپ *SCCmec* با روش *Multiplex PCR* تعیین گردید.

یافته‌ها: از ۸۷ سویه‌ی *MRSA* بیشترین مقاومت نسبت به اریترومايسين، کلیندامایسین، کوتریموکسازول و تتراسایکلین مشاهده شد. حساس‌ترین آنتی بیوتیک آمیکاسین بود. همه سویه‌ها به بتالاکتام‌ها مقاوم بودند. همه سویه‌های *MRSA* حداقل به سه کلاس آنتی بیوتیکی مقاوم بودند. همه سویه‌ها به ونکومايسين حساس بودند. ۳ سویه (۳/۴ درصد) دارای ژن *SCCmec type I*، ۱۲ سویه (۱۳/۸ درصد) *SCCmec type II*، ۸ سویه (۹/۲ درصد) *SCCmec type IVb*، ۴ سویه (۴/۶ درصد) *SCCmec type IVd* و ۳ سویه (۳/۴ درصد) *SCCmec type V* بودند. ۵۷ سویه (۶۵/۵ درصد) قابل تایپینگ نبودند.

نتیجه‌گیری: افزایش مقاومت به چند آنتی بیوتیک، زنگ خطری برای درمان عفونت‌های ناشی از *MRSA* می‌باشد. یافته‌های این مطالعه نشان داد که سویه‌های *MRSA* در بیمارستان ما تایپ‌های مختلفی از *SCCmec* را حمل می‌کنند. تایپ‌های *SCCmec* نوع *II* و *IV* غالب‌ترین تایپ‌ها بودند.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس ارتوس مقاوم به متی سیلین، الگوی مقاومت، مقاوم به چند دارو، تایپینگ

مقدمه

MRSA به همه‌ی پنی سیلین‌ها، پنم‌ها، کاربا پنم‌ها و سفالوسپورین مقاوم می‌باشد (۵). آنتی بیوتیک‌هایی که در

استافیلوکوکوس ارتوس مقاوم به متی سیلین مهم‌ترین پاتوژن بیمارستانی در ایران و جهان می‌باشد (۴-۱).

۱- کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان
۲- دکترای تخصصی میکروب شناسی، استاد دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مرکز تحقیقات علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان
۳- کارشناس ارشد آمار، مربی دانشگاه علوم پزشکی کاشان

برابر MRSA موثر بوده در بین بیمارستان‌های مختلف متفاوت بوده، الگوی مقاومت منحصری را نشان می‌دهد. بنابر دانش ارتباط کلون‌های MRSA و الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن می‌تواند در کنترل عفونت‌های بیمارستانی ناشی از این باکتری در بیمارستان‌ها نقش مهمی را ایفا نماید. روش‌های متعددی برای تایپینگ و مطالعه کلون‌های MRSA نظیر Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)، Sequencing Typing (Multilocus MLST) و تایپینگ SCCmec وجود دارد (۶ و ۷). تعیین وضعیت MRSA براساس حضور بخش SCCmec که حامل ژن *mecA* بوده، مسوول مقاومت به متی‌سیلین می‌باشد، انجام می‌پذیرد (۸). هدف از انجام این مطالعه تعیین استافیلوکوکوس ارنوس مقاوم به متی‌سیلین و تایپ‌های SCCmec آن و تعیین الگوی حساسیت و مقاومت سویه‌های MRSA جدا شده از نمونه‌های بالینی بود.

روش بررسی

این مطالعه‌ی توصیفی بر روی ۱۵۰ سویه‌ی استافیلوکوکوس ارنوس جدا شده از نمونه‌های ادرار، آبرسه، زخم، خلط، تراشه، گوش و مایع مغزی نخاعی بیماران بیمارستان شهید بهشتی کاشان در سال ۱۳۸۹ انجام پذیرفت. نمونه‌های جمع‌آوری شده در محیط ترانسپورت به آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان منتقل و با استفاده از رنگ آمیزی گرم و تست‌های بیوشیمیایی نظیر کاتالاز، کوآگولاز، تخمیر مانتیتول و تست DNase تعیین هویت گردید. مقاومت به متی‌سیلین با استفاده از دیسک اگزاسیلین یک میکروگرمی تهیه شده از شرکت Mast انگلستان و مطابق با معیار (CLSI) تعیین گردید. الگوی حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی با روش دیسک دیفیوژن با دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم)،

سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، تری متوپریم سولفامتاکسازول (۲۵ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، ونکومایسین (۳۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، سفوکسیتیم (۳۰ میکروگرم) و پنی‌سیلین (۱۰ واحد) تهیه شده از شرکت Mast انگلستان و مطابق با معیار (CLSI) انجام پذیرفت. سویه‌ی استافیلوکوکوس ارنوس ATCC 33591 به‌عنوان کنترل مثبت و سویه ATCC 25923 به‌عنوان کنترل منفی برای ژن *mecA* استفاده شد. استخراج DNA به روش Boiling انجام پذیرفت. DNA استخراج شده در آب مقطر دی‌یونیزه و در فریزر -۲۰ درجه‌ی سلسیوس ذخیره گردید. شناسایی ژن *mec* و ساب‌تیپ‌های آن به روش Multiplex PCR انجام پذیرفت. ۵ میکرولیتر DNA استخراج شده به ۲۰ میکرولیتر از مخلوط واکنش PCR اضافه گردید. مخلوط واکنش PCR شامل ۱۲/۵ میکرولیتر از Multiplex PCR Master شامل آنزیم Taq DNA Polymerase، سه میلی‌مول $MgCl_2$ و ۴۰۰ میکرومول از هر کدام از dNTPs بود. در این بررسی از ۹ جفت پرایمر استفاده گردید. ۹ سری از پرایمرها که به صورت مخلوط پرایمر ۱۰X تهیه شده بود به میزان ۳/۶ میکرولیتر به مسترمیکس اضافه شد. در نهایت حجم مخلوط به ۲۵ میکرولیتر رسید. ژن‌های مورد ارزیابی، سکانس‌های پرایمر، اندازه‌ی محصولات PCR و شرایط PCR در جدول ۱ ارائه شده است. برنامه‌ی Multiplex PCR شامل دناتوراسیون اولیه در ۹۴ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه و سپس ۱۰ سیکل شامل دناتوراسیون در ۹۴ درجه‌ی سلسیوس مدت ۳۰ ثانیه، انیلینگ در ۶۰ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۹۰ ثانیه، طویل شدن زنجیره در ۷۲ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۹۰ ثانیه و سپس ۲۵ سیکل شامل دناتوراسیون در ۹۴ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، انیلینگ در ۵۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه و

طویل شدن در ۷۲ درجه‌ی ساسیوس به مدت ۹۰ ثانیه و مرحله‌ی طویل شدن نهایی در ۷۲ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه انجام پذیرفت (۱۵).

جدول ۱: ژن‌های مورد ارزیابی، سکانس‌های پرایمر، اندازه محصولات PCR، شرایط PCR و منبع مورد استفاده را نشان می‌دهد

Primers	Oligonucleotide sequence (5'-3')	Concentration (μM)	Amplicon Size	specificity	source
Type I-F Type I-R	5'-GCTTTAAAGAGTGTCTGTTACAGG-3' 3'-GTTCTCTCATAGTATGACGTCC-5'	0/2	613	SCCmec I	[15]
Type II-F Type II-R	5'-CGTTGAAGATGATGAAGCG-3' 3'-CGAAATCAATGGTTAATGGACC-5'	0/2	398	SCCmec II	[15]
Type III-F Type III-R	5'-CCATATTGTACGATGCG-3' 3'-CCTTATTGTCGTAACAGATCG-5'	0/2	280	SCCmec III	[15]
Type IV a-F Type IV a R	5'-GCCTTATTCGAAGAAACCG-3' 3'-CTACTCTTCTGAAAAGCGTCG-5'	0/2	776	SCCmec IV a	[15]
Type IV b-F Type IV b-R	5'-TCTGGAATTACTTCAGCTGC-3' 3'-AAACAATATTGCTCTCCCT-5'	0/2	493	SCCmec IV b	[15]
Type IV c-F Type IV c-R	5'-ACAATATTTGTATTATCGGAGAGC-3' 3'-TTGGTATGAGGTATTGCTGG-5'	0/2	200	SCCmec IVc	[15]
Type IV d-F5 Type IV d-R6	5'-CTCAAAATACGGACCCCAATACA-3' 3'-TGCTCCAGTAATTGCTAAAG-5'	0/2	881	SCCmec I V d	[15]
Type V-F Type V-R	5'-GAACATTGTTACTTAAATGAGCG-3' 3'-TGAAAGTTGTACCCTTGACACC-5'	0/2	325	SCCmec V	[15]
MecA147-F MecA147-R	5'-GTGAAGATATACCAAGTGATT-3' 3'-ATGCGCTATAGATTGAAAGGAT-5'	0/2	147	mecA	[15]

و به ارگانیس‌هایی که ظرف ۴۸ ساعت اولیه‌ی پذیرش در بیمارستان از بیماران جدا شده بود (Community Associated -MRSA) CA-MRSA اطلاع‌رسانی گردید. اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از آمار توصیفی و با به کارگیری آزمون‌های مجذور کای و دقیق فیشر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

از ۱۵۰ سویه‌ی استافیلوکوکوس ارتوس مورد بررسی ۸۷ سویه استافیلوکوکوس اورتوس مقاوم به متی‌سیلین (۵۸ درصد) از نمونه‌های بالینی بیماران بیمارستان شهید

الکتروفورز محصولات PCR در ژل ۱/۴ درصد آگاروز به مدت ۷۵ دقیقه در ولتاژ ۹۰ ولت صورت گرفت. رنگ‌آمیزی ژل با استفاده از ۵ میکرولیتر از اتیدیوم بروماید ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر انجام و نتایج توسط دستگاه Transluminator مشاهده شد. از مارکر ۱۰۰bp برای تایید وزن مولکولی محصولات PCR استفاده گردید. اطلاعات دموگرافیک بیماران در پرسشنامه‌ای حاوی اطلاعات سن، جنس و مصرف قبلی آنتی‌بیوتیک ثبت گردید. استافیلوکوکوس ارتوس مقاوم به متی‌سیلین که از عفونت بیماران ۴۸ ساعت بعد از پذیرش ایزوله شده بود (Health Care Associated -MRSA) HA-MRSA

۱ سویه از CSF (۱/۱۴ درصد) بود. ۸۷ سویه (۵۸ درصد) دارای ژن *mecA* بودند. ۳۴ سویه از ۸۷ سویه مقاوم به متی‌سیلین (۳۹/۱ درصد) از بیمارستان و ۵۳ سویه (۶۰/۹ درصد) از جامعه بود. از ۸۷ سویه *MRSA* بیشترین مقاومت نسبت به اریترومايسين، کلیندامایسین، کوتریموکسازول و تتراسایکلین مشاهده شد. حساس‌ترین آنتی‌بیوتیک آمیکاسین بود (جدول ۲).

بهشتی کاشان جدا شد. ۴۱ سویه‌ی جدا شده از مردان (۴۷/۱ درصد) ۴۶ سویه (۵۲/۹ درصد) از زنان بود. میانگین سنی افراد مورد مطالعه ۳۴/۱۳±۲۰/۷۲ و از حداقل ۱ تا حداکثر ۸۳ سال متغیر بود. ۳۷ مورد (۴۲/۵ درصد) سابقه‌ی مصرف آنتی‌بیوتیک داشتند. ۸۰ سویه از ادار (۹۲ درصد)، ۲ سویه از آبسه (۲/۳ درصد)، ۱ سویه از زخم (۱/۱۴ درصد)، ۱ سویه از خلط (۱/۱۴ درصد)، ۱ سویه از تراشه (۱/۱۴ درصد)، ۱ سویه از گوش (۱/۱۴ درصد).

جدول ۲. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۸۷ سویه *MRSA* از نمونه‌های بالینی بیمارستان شهید بهشتی کاشان

الگوی حساسیت و مقاومت	حساس تعداد (%)	حد واسط تعداد (%)	مقاوم تعداد (%)
پنی سیلین	(۰)۰	(۰)۰	۸۷ (۱۰۰)
اگزا سیلین	(۰)۰	(۰)۰	۸۷ (۱۰۰)
سفوکسیم	(۰)۰	(۰)۰	۸۷ (۱۰۰)
کلیندامایسین	۸ (۹/۲)	۷ (۸)	۶۸ (۷۸/۲)
اریترومايسين	۱ (۱/۲)	۱۰ (۱۱/۵)	۷۶ (۸۷/۳)
تتراسایکلین	۲۶ (۲۹/۹)	۳ (۳/۴)	۵۸ (۶۶/۷)
کوتریموکسازول	۱۳ (۱۴/۹)	۶ (۶/۹)	۶۸ (۷۸/۲)
سیپروفلوکساسین	۳۵ (۴۰/۲)	۶ (۶/۹)	۴۶ (۵۲/۹)
آ میکاسین	۷۵ (۸۶/۲)	۰ (۰)	۱۲ (۱۳/۸)
ونکومايسين	۸۷ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)

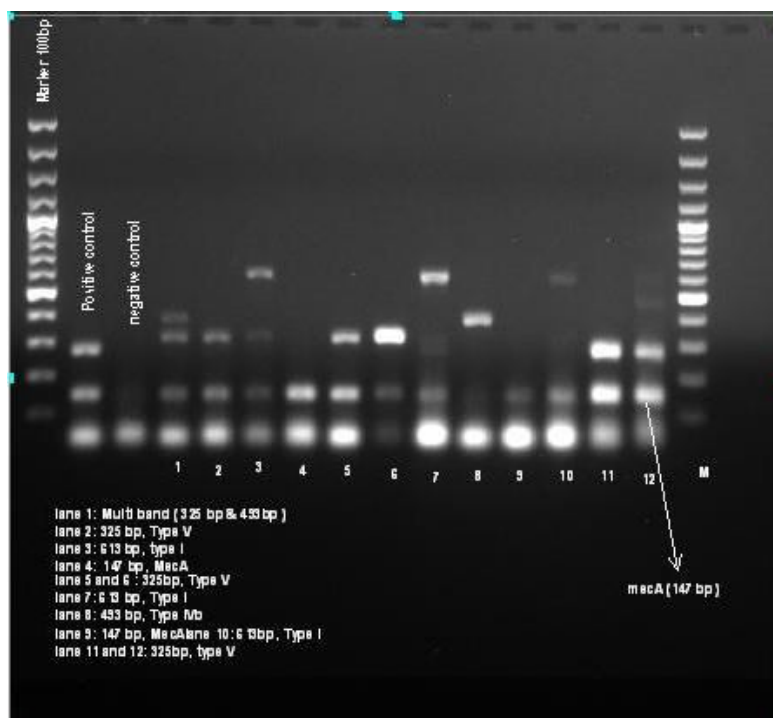
مولتی باند *SCCmec IVd* و *SCCmec IVb* بودند. ۵۷ سویه (۶۵/۵ درصد) قابل تایپینگ نبودند. سویه‌های استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین *SCCmec TypeII* بیشترین مقاومت را به کوتریموکسازول، اریترومايسين و کلیندامایسین نشان دادند. سویه‌های استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین *SCCmec typeIV* بیشترین مقاومت را به اریترومايسين، کلیندامایسین و کوتریموکسازول نشان دادند (جدول ۳).

۳ سویه (۳/۴ درصد) دارای ژن *SCCmec TypeI*، ۱۲ سویه (۱۳/۸ درصد) *SCCmec TypeII*، ۸ سویه (۹/۲ درصد) *SCCmec Type IVb*، ۴ سویه (۴/۶ درصد) *SCCmec Type IVd* و ۳ سویه (۳/۴ درصد) *SCCmec typeV* بودند. ۶ سویه مولتی باند بودند. ۴ سویه (۴/۶ درصد) مولتی باند *SCCmec IVb* و *SCCmec V*، یک سویه (۱/۱ درصد) مولتی باند *SCCmec V* و *SCCmec Ivd*، ۱ سویه (۱/۱ درصد)

جدول ۳. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ۱۲ سویه *SCCmec type II* و ۱۲ سویه *SCCmec type IV* از نمونه‌های بالینی

بیمارستان شهید بهشتی کاشان

SCCmec Type IV تعداد (%)	SCCmec Type II تعداد (%)	تایپ‌های <i>SCCmec</i>	نوع آنتی‌بیوتیک
۱۲ (۱۰۰)	۱۲ (۱۰۰)		پنی سیلین
۱۲ (۱۰۰)	۱۲ (۱۰۰)		اگزاسیلین
۱۲ (۱۰۰)	۱۲ (۱۰۰)		سفوکسیتیم
۱۰ (۸۳/۳)	۶ (۵۰)		کلیندامایسین
۱۱ (۹۱/۷)	۱۰ (۸۳/۳)		اریترومایسین
۹ (۷۵)	۲ (۱۶/۷)		تتراسایکلین
۷ (۵۸/۳)	۱۱ (۹۱/۷)		کو‌تریموکسازول
۴ (۳۳/۳)	۵ (۴۱/۷)		سیپروفلوکساسین
۱ (۸/۳)	۱ (۸/۳)		آ میکاسین
۰ (۰)	۰ (۰)		ونکومایسین



شکل ۱: الگوی آمپلیفیکاسیون به دست آمده از تایپینگ *SCCmec* با استفاده از *Multiplex PCR* در سویه‌های استافیلوکوکوس ازئوس مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از نمونه‌های بالینی کاشان

بحث

استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین مهم‌ترین پاتوژن در بیمارستان می‌باشد. شیوع MRSA در سال ۱۳۸۰ در بخش‌های مختلف بیمارستان امام خمینی تهران ۴۶/۵ درصد، در سال ۱۳۸۶ در بیمارستان امام حسین تهران ۷۹ درصد و در سال ۱۳۸۶ در بیمارستان‌های کاشان ۲۲ درصد گزارش گردید (۱ و ۲). علت تفاوت شیوع در MRSA در این مطالعه، متفاوت بودن عوامل خطر همراه با MRSA اکتسابی از جامعه و مراکز درمانی می‌باشد. مصرف بی‌رویه‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها در جامعه و اختلافات سطح اجتماعی و اقتصادی مردم ساکن این منطقه می‌تواند دلایل میزان بالای MRSA اکتسابی از جامعه در این منطقه باشد. در این مطالعه بیشتر سویه‌های جدا شده منشأ آن جامعه بوده است. عفونت CA-MRSA بر حسب ریسک تماس قبلی بیمار با MRSA در دو گروه همراه فاکتورهای خطر (مصرف آنتی‌بیوتیک در طول سه ماه گذشته، سابقه‌ی بستری شدن در بیمارستان در طی سال گذشته، اقامت در خانه سالمندان در طی سال گذشته، ابتلا به بیماری‌های مزمن، اعتیاد تزریقی، تماس نزدیک با فردی که کولونیزاسیون پوستی یا حلقی داشته) و بدون فاکتور خطر صورت می‌گیرد. وقوع عفونت‌های CA-MRSA در بین ورزشکاران، سربازان، زندانیان تادیبی، بیماران اطفال و افرادی که تاتو می‌کنند گزارش شده است (۳). بنابراین تعیین خصوصیات سویه‌های MRSA برای مطالعه‌ی اپیدمیولوژی و به کارگیری سیستم نظارت و مراقبت منطقه‌ای حایز اهمیت است. در این مطالعه همه‌ی سویه‌های MRSA جدا شده از نمونه‌های مختلف بالینی دارای ژن *mecA* بودند. شایع‌ترین تایپ SCCmec II و SCCmec Type IV بود و همه‌ی آن‌ها مقاوم به چند دارو بودند. مطالعه‌ی چونگ تراکول و همکاران نشان داد که شایع‌ترین تایپ گزارش شده در ۸ کشور آسیایی SCCmec III بوده است (۹). در مطالعه‌ی ما

SCCmec III جدا نشد. MRSA جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی اغلب مقاوم به چند دارو بوده، اکثر آن‌ها به تری‌متو پریم - سولفامتوکسازول، تتراسیکلین، اریترومایسین و جنتامایسین مقاومت نشان می‌دهند (۱۰). در این مطالعه ۷۸/۲ درصد ایزوله‌ها به کلیندامایسین و ۸۷/۳ درصد به اریترومایسین مقاوم بودند. هر چند مقاومت به هر دو عامل از یک مکانیسم کنترل می‌گردد. کلیندامایسین، ماکرولیدی است که اغلب برای درمان عفونت‌های جلدی استافیلوکوکی به کار می‌رود. مقاومت به کلیندامایسین گاهی القایی بوده، در شرایط آزمایشگاهی وقتی قابل شناسایی است که در مجاورت اریترومایسین قرار گیرد، لذا از روش تغییر یافته Double - Disk Diffusion Test (D Test) برای نتایج متناقض تست ماکرولیدها (اریترومایسین مقاوم و کلیندامایسین حساس) استفاده می‌گردد (۳).
 بوردون و همکاران کاهش مقاومت به تتراساکلین و تری‌متو پریم - سولفامتوکسازول را در سویه‌های MRSA نشان دادند (۴). در گزارش جنگ و همکاران غالب‌ترین تایپ SCCmec Type IV با (۶۷/۷ درصد) و بعد SCCmec Type V با (۳۲/۳ درصد) بود و ساب تایپ‌های IVa، IVc و IVg در بین سویه‌های SCCmec Type IV مشاهده گردید (۱۱). مطالعه‌ی تانگ و همکاران در مالزی حاکی از آن است که ۵۵ درصد از ۶۶ سویه به بیش از ۴ آنتی‌بیوتیک مقاوم بوده ولی همه سویه‌ها به ونکومایسین حساس بودند و میزان مقاومت پایین (۱۹ درصد) به کلیندامایسین مشاهده گردید و اغلب سویه‌های مقاوم به چند دارو MRSA دارای SCCmec Type III بودند (۱۲). در مطالعه‌ی تای و همکاران غالب‌ترین تایپ SCCmec Type III، کمتر از ۵ درصد به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام حساس بوده، SCCmec type IV ۹۳/۳ درصد به سیپروفلوکساسین، ۴۶/۷ درصد به جنتامایسین و ۹۳/۳ درصد به تری‌متو پریم حساس بودند. ولی همه سویه‌ها به

نتیجه گیری

همه‌ی سویه‌های MRSA در بیمارستان آموزشی ما به سه یا بیش از سه کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاوم بودند که زنگ خطری برای افزایش سویه‌های MDR MRSA در این منطقه می‌باشد. دو تایپ غالب SCCmec در این مطالعه (تایپ II و IV) بودند. تایپ III SCCmec در مطالعه‌ی ما مشاهده نشد. به منظور پیشگیری از آلودگی‌های متقاطع، سیستم‌های مراقبت و نظارت موثری برای کنترل عفونت‌های بیمارستانی ناشی از MRSA مقاوم به چند دارو احساس می‌گردد.

تقدیر و تشکر

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان که در تصویب این طرح با ما همکاری نمودند و از آقای مهدی روحانی به خاطر همکاری در انجام طرح، صمیمانه قدردانی می‌گردد.

References

- 1- Razin B, Shabani M, Nabavi M, Taghavi N, Haghghi M, Foroumand M. Prevalence of Methicilin-Resistance-*Staphylococcus-Aureus* in different wards of Imam Hossein Hospital in Tehran, in 2007-2008. *Pejouhandeh*. 2009; 14: 263-267.
- 2- Moniri R, Shafiee M. The Survey on Prevalence and Risk Factors for Antibiotic-Resistant *Staphylococcus Aureus* Isolated from Samples in Kashan Hospitals. *J Zanjan Uni Med Sci*. 2008; 16: 73-82.
- 3- Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G.

و نکومایسین حساس بودند (۱۳). در این مطالعه ۶ سویه‌ی MRSA مولتی باند نشان دادند که نشانگر ساب تایپ‌های متعدد یک کلون غالب می‌باشند. لسینگ و همکاران نشان دادند که سویه‌های متعدد از MRSA قادر است در طی وقوع در بیمارستان در گردش باشد (۱۴). سویه‌های مولتی باند توسط سایر محققین نیز نشان داده شده است ولی این سویه‌ها مورد بررسی قرار نگرفته‌اند (۱۵ و ۱۶). سویه‌های غیرقابل تایپینگ در این مطالعه به‌طور قابل توجهی از سایر مطالعات بیشتر است (۱۷). SCCmec تایپ‌های III-I مولکول‌هایی را کد نموده که مقاومت به چندین کلاس آنتی‌بیوتیکی را کد می‌نماید در صورتی که تایپ SCCmec IV مقاومت به بتالاکتام‌ها را کد می‌کند (۱۸). بتالاکتام‌ها داروهای ارزان، غیرسمی و موثری بوده، ولی سویه‌های MRSA جدا شده در این مطالعه به‌طور وسیعی به بتالاکتام‌ها مقاومت نشان دادند. و نکومایسین داروی تزریقی انتخابی در درمان عفونت‌های ناشی از MRSA می‌باشد که خوشبختانه همه‌ی سویه‌های جدا شده به آن حساس بودند.

Textbook of diagnostic microbiology. China: W.B. Saunders Company; 2011.

- 4- Bordon J, Master RN, Clark RB, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* resistance to non-beta-lactam antimicrobials in the United States from 1996 to 2008. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2010; 67: 395-8.
- 5- Santos Sanches I, Mato R, de Lencastre H, Tomasz A; CEM/NET Collaborators and the International Collaborators. Patterns of multidrug resistance among methicillin-resistant hospital isolates of coagulase-positive and coagulase-negative staphylococci collected in the

- international multicenter study RESIST in 1997 and 1998. *Microb Drug Resist.* 2000; 6: 199-211.
- 6- Enright MC, Day NP, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol.* 2000; 38: 1008-15.
- 7- Milheirico C, Oliveira DC, de Lencastre H. Update to the multiplex PCR strategy for assignment of mec element types in *Staphylococcus aureus* *Antimicrob Agents Chemother.* 2007; 51: 3374-7.
- 8- Ito T, Ma XX, Takeuchi F, Okuma K, Yuzawa H, Hiramatsu K. Novel type V staphylococcal cassette chromosome mec driven by a novel cassette chromosome recombinase, ccrC. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48: 2637-51.
- 9- Chongtrakool P, Ito T, Ma XX, et al. Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in 11 Asian countries: A proposal for a new nomenclature for SCCmec elements. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50: 1001-12.
- 10 -Naimi TS, LeDell KH, Como-Sabetti K, et al. Comparison of community- and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA.* 2003; 290: 2976-84.
- 11- Geng W, Yang Y, Wu D, et al. Molecular characteristics of community-acquired, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Chinese children. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2010; 58: 356-62.
- 12- Thong KL, Junnie J, Liew FY, Yusof MY, Hanifah YA. Antibiograms and molecular subtypes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in local teaching hospital, Malaysia. *J Microbiol Biotechnol.* 2009; 19: 1265-70.
- 13- Tai PW, Huang CH, Lin QD, Huang YY. Molecular pattern and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates at a teaching hospital in Northern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect.* 2006; 39: 225-30.
- 14- Lessing MP, Jordens JZ, Bowler IC. Molecular epidemiology of a multiple strain outbreak of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* amongst patients and staff. *J Hosp Infect.* 1995; 31: 253-60.
- 15- Makgotlho PE, Kock MM, Hoosen A, et al. Molecular identification and genotyping of MRSA isolates. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2009; 57: 104-15.
- 16- Denis O, Deplano A, De Beenhouwer H, et al. Polyclonal emergence and importation of community-acquired methicillin-resistant *staphylococcus aureus* strains harbouring panton-valentine leukocidin genes in Belgium. *J Antimicrob Chemother.* 2005; 56: 1103-6.
- 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: 5026-33.
18- Ma XX, Ito T, Tiensasitorn C, Jamklang M,
Novel type of staphylococcal cassette
chromosome *mec* identified in community-

acquired methicillin-resistant *staphylococcus aureus* strains, *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46: 1147-52.

Molecular Characterization and Antibiotic Susceptibility Pattern of Methicillin-Resistant S. aureus (MRSA) in Tertiary Care Hospital, Kashan

Zeinali E¹, Moniri R², Mousavi GA³

¹Dept. of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

²Dept. of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Anatomical Sciences Research Center, Kashan, Iran.

³Dept. of Biostatic, Faculty of Health, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

Corresponding Author: Moniri R, Dept. of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Anatomical Sciences Research Center, Kashan, Iran.

E-mail: moniri@kaums.ac.ir

Received: 22 Feb 2011 **Accepted:** 27 Jun 2011

Background and Objective: Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), which is the most common cause of nosocomial infection, has been a major cause of morbidity and mortality around the world. This study was carried out to find out the resistance pattern and staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) typing among MRSA.

Materials and Methods: This descriptive work was done on 87 Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates which were collected from the patients with infections in a teaching hospital in Kashan, Iran, during the period of 2009. The isolates were tested for antibiotic resistance by the disc-diffusion method, covering 10 antimicrobials. The genotypes of SCCmec subtypes were determined by multiplex PCR.

Results: Among 87 MRSA isolated tested; the highest resistance was shown against erythromycin, clindamycin, sulfamethoxazole-trimethoprim, and tetracycline respectively. By contrast, the highest sensitivity was shown to amikacin. All of the isolates were resistant to Beta-lactams. All of the isolates were resistant to at least three classes of antibiotics, and all of the isolates were sensitive to vancomycin.

Three (3.4%) MRSA strains were SCCmec type I, 12 (13.8%) were type II, 8 (9.2%) were type IV-b, 4 (4.6%) were type IV-d, and 3 (3.4%) were type V. Overall, 57 (65.5%) MRSA strains could not be typed.

Conclusion: The rising trend of multi-resistance to antibiotics poses an alarming threat to treatment of MRSA infections. Our findings show that clinical isolates of MRSA in our hospital carrying various kinds of staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) types. SCCmec type II and IV were the predominant strain of MRSA identified.

Keywords: Methicillin-resistant *S. aureus*, Antibiotic resistance, Multidrug resistance, Typing