Downloaded from zums.ac.ir at 17:35 IRDT on Friday March 23rd 2018

مجله‌ی علمی، پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زنجان
دوره‌ی ۱۹, شماره‌ی ۷۷, زمستان ۱۳۹۰, صفحات ۳۱ تا ۴۰

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

الهام زینلی[۱]، دکتر رضوان منیری[۲]، سید غلامعباس موسوی[۳]

نویسنده‌ی مسؤول: 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 ارئوس مقاوم به متی‌سیلین شایع‌ترین عامل عفونت بیمارستانی و عامل مهم ابتلا و مرگ و میر در جهان است. هدف از این مطالعه تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ساب تایپ‌های SCCmec در سویه‌های استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین (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.*

یافته ها: *از ۸۷ سویه‌ی MRSA بیشترین مقاومت نسبت به اریترومایسین، کلیندامایسین، کوتریموکسازول و تتراسایکلین مشاهده شد. حساس‌ترین آنتی‌بیوتیک آمیکاسین بود. همه سویه‌ها به بتالاکتام‌ها مقاوم بودند. همه سویه‌های MRSA حداقل به سه کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاوم بودند. همه سویه‌ها به ونکومایسین حساس بودند. ۳ سویه (۳/۴ درصد) دارای ژن SCCmec type I ، 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. ۵۷ سویه (۶۵/۵ درصد) قابل تایپینگ نبودند.*

نتیجه‌گیری: *افزایش مقاومت به چند آنتی‌بیوتیک، 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 اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، الگوی مقاومت، مقاوم به چند دارو، تایپینگ***

مقدمه

استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی سیلین مهم‌ترین پاتوژن بیمارستانی در ایران و جهان می‌باشد (۴-۱). MRSA به همه‌ی پنی‌سیلین‌ها، پنم‌ها، کاربا پنم‌ها و سفالوسپورین مقاوم می‌باشد (۵). آنتی‌بیوتیک‌هایی که در

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

Downloaded from zums.ac.ir at 17:35 IRDT on Friday March 23rd 2018

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)، Multilocus MLST) Sequencin Typing) و تایپینگ SCC*mec* وجود دارد (۷و۶). تعیین وضعیت MRSA براساس حضور بخش SCC*mec* که حامل ژن *mec*A بوده، مسوول مقاومت به متی‌سیلین می‌باشد، انجام می‌پذیرد (۸). هدف از انجام این مطالعه تعیین استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین و تایپ‌های SCC*mec* 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 اورئوس جدا شده از نمونه‌های ادرار، آبسه، 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 میکروب‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان منتقل و با استفاده از رنگ آمیزی گرم و تست‌های بیوشیمیایی نظیر کاتالاز، کواگولاز، تخمیر مانیتول 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 اورئوس ATCC 33591 به‌عنوان کنترل مثبت و سویه ATCC 25923 به عنوان 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 ساب تیپ‌های 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 مخلوط 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 ارایه 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 به مدت ۴۵ ثانیه، انیلینگ در ۵۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه و

Downloaded from zums.ac.ir at 17:35 IRDT on Friday March 23rd 2018

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´- GCTTTAAAGAGTGTCGTTACAGG -3´ 3´-GTTCTCTCATAGTATGACGTCC-5 ´	0/2	613	SCC*mec* I	[15]
Type II-F Type II-R	5´--CGTTGAAGATGATGAAGCG-3´ 3´-CGAAATCAATGGTTAATGGACC-5´	0/2	398	SCC*mec* II	[15]
Type III-F Type III-R	5´-CCATATTGTACGATGCG-3´ 3´-CCTTATTGTCGTAACAGATCG-5´	0/2	280	SCC*mec* III	[15]
Type IV a -F Type IV a R	5´-GCCTTATTCGAAGAAACCG-3´ 3´-CTACTCTTCTGAAAAGCGTCG-5´	0/2	776	SCC*mec* IV a	[15]
Type IV b-F Type IV b-R	5´-TCTGGAATTACTTCAGCTGC-3´ 3´-AAACAATATTGCTCTCCCT-5´	0/2	493	SCC*mec* IV b	[15]
Type IV c-F Type IV c-R	5´-ACAATATTTGTATTATCGGAGAGC-3´ 3´-TTGGTATGAGGTATTGCTGG-5´	0/2	200	SCC*mec* IVc	[15]
Type IV d-F5 Type IV d-R6	5´-CTCAAAATACGGACCCCAATACA-3´ 3´-TGCTCCAGTAATTGCTAAAG-5´	0/2	881	SCC*mec* I V d	[15]
Type V-F Type V-R	5´-GAACATTGTTACTTAAATGAGCG-3´ 3´-TGAAAGTTGTACCCTTGACACC-5´	0/2	325	SCC*mec* V	[15]
MecA147-F MecA147-R	5´-GTGAAGATATACCAAGTGATT-3´ 3´-ATGCGCTATAGATTGAAAGGAT-5´	0/2	147	mecA	[15]

الکتروفورز محصولات PCR در ژل ۱/۴ درصد اگاروز 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 ارئوس مقاوم به متی‌سیلین که از عفونت بیماران ۴۸ ساعت بعد از پذیرش ایزوله شده بودHA-MRSA (Health Care Associated –MRSA) و به ارگانیسم‌هایی که ظرف ۴۸ ساعت اولیه‌ی پذیرش در بیمارستان از بیماران جدا شده بود CA-MRSA (Community Associated –MRSA) اطلاق 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 ارئوس مورد بررسی ۸۷ سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (۵۸ درصد) از نمونه‌های بالینی بیماران بیمارستان شهید

Downloaded from zums.ac.ir at 17:35 IRDT on Friday March 23rd 2018

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 ۲۰/۷۲±۳۴/۱۳ و از حداقل ۱ تا حداکثر ۸۳ سال متغیر بود. ۳۷ مورد (۴۲/۵ درصد) سابقه‌ی مصرف آنتی‌بیوتیک داشتند. ۸۰ سویه از ادرار (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)، ۱ سویه ازCSF (۱/۱۴ درصد) بود. ۸۷ سویه (۵۸ درصد) دارای ژن *mecA* بودند. ۳٤ سویه از ۸۷ سویه مقاوم به متی‌سیلین (۳۹/۱ درصد) از بیمارستان و ۵۳ سویه (۶۰/۹ درصد) از جامعه بود. از ۸۷ سویه‌ی MRSA بیشترین مقاومت نسبت به اریترومایسین، کلیندامایسین، کوتریموکسازول و تتراسایکلین مشاهده شد. حساس‌ترین آنتی‌بیوتیک آمیکاسین بود (جدول ۲).

جدول ۲: الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ۸۷ سویه‌ی MRSA از نمونه‌های بالینی بیمارستان شهید بهشتی کاشان

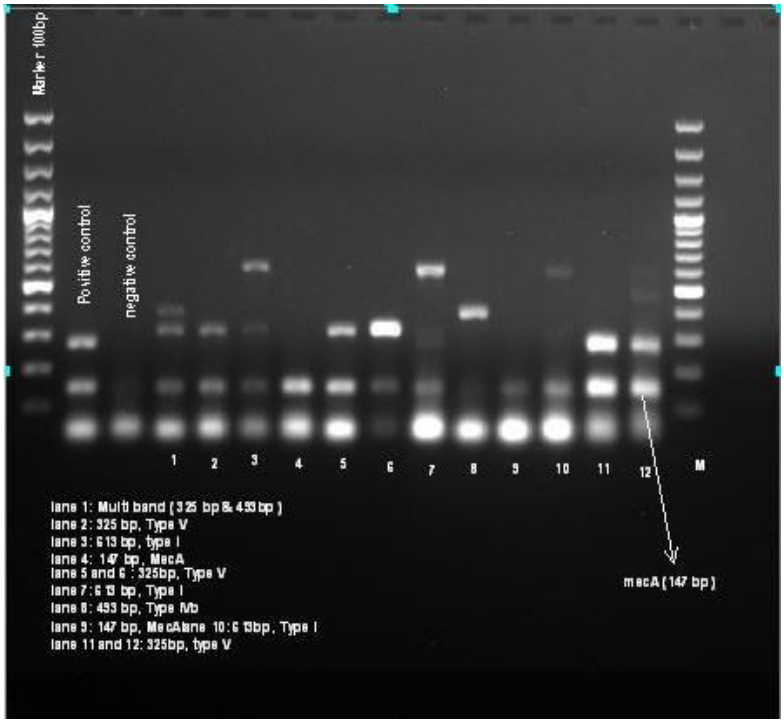
الگوی حساسیت و مقاومت / نوع آنتی بیوتیک	حساس تعداد (%)	حد واسط تعداد (%)	مقاوم تعداد (%)
پنی سیلین	۰ (۰)	۰ (۰)	۸۷ (۱۰۰)
اگزا سیلین	۰ (۰)	۰ (۰)	۸۷ (۱۰۰)
سفوکسیتیم	۰ (۰)	۰ (۰)	۸۷ (۱۰۰)
کلیندامایسین	۸ (۹/۲)	۷ (۸)	۶۸ (۷۸/۲)
اریترومایسین	۱ (۱/۲)	۱۰ (۱۱/۵)	۷۶ (۸۷/۳)
تتراسایکلین	۲۶ (۲۹/۹)	۳ (۳/۴)	۵۸ (۶۶/۷)
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)
ونکومایسین	۸۷ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)

۳ سویه (۳/۴ درصد) دارای ژن SCC*mec* TypeI، ۱۲ سویه (۱۳/۸ درصد) SCC*mec* TypeII، ۸ سویه (۹/۲ درصد) SCC*mec* Type IVb، ۴ سویه (۴/۶ درصد)SCC*mec* Type IVd و ۳ سویه (۳/۴ درصد) SCC*mec* typeV بودند. ۶ سویه مولتی باند بودند. ۴ سویه (۴/۶ درصد) مولتی باند SCC*mec* IVb و SCC*mec* V، یک سویه (۱/۱ درصد) مولتی باند SCC*mec* Ivd و SCC*mec* V، ۱ سویه (۱/۱ درصد) مولتی باند SCC*mec* IVd و SCC*mec* IVb بودند. ۵۷ سویه (۶۵/۵ درصد) قابل تایپینگ نبودند. سویه‌های استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین SCC*mec* TypeII بیشترین مقاومت را به کوتریموکسازول، اریترومایسین و کلیندامایسین نشان دادند. سویه‌های استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین SCC*mec* typeIV بیشترین مقاومت را به اریترومایسین، کلیندامایسین و کوتریموکسازول نشان دادند (جدول ۳).

Downloaded from zums.ac.ir at 17:35 IRDT on Friday March 23rd 2018

جدول ۳: الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ۱۲سویه SCCmec type II و ۱۲ سویه SCCmec type IV از نمونه‌های بالینی بیمارستان شهید بهشتی کاشان

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



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

Downloaded from zums.ac.ir at 17:35 IRDT on Friday March 23rd 2018

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 (۲و۱). 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 منشا 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 *mec*A بودند. شایع‌ترین تایپ SCC*mec* II و SCC*mec* 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 SCC*mec* III بوده است (۹). در مطالعه‌ی ما SCC*mec* III جدا نشد. MRSA جداشده 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 اریترومایسن مقاوم بودند. هر چند مقاومت به هر دو عامل از یک مکانیسم کنترل می‌گردد. کلیندا مایسین، 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 تری‌متوپریم- سولفامتوکسازول را در سویه‌های MRSA نشان دادند (۴). در گزارش جنگ و همکاران غالب‌ترین تایپ SCC*mec* Type IV با (۶۷/۷ درصد) و بعد SCC*mec* Type V با ۳۲/۳ درصد بود و ساب تایپ‌های IVa، IVc و IVg در بین سویه‌های SCC*mec* Type IV مشاهده گردید (۱۱). مطالعه‌ی تانگ و همکاران در مالزی حاکی از آن است که ۵۵ درصد از ٦٦ سویه به بیش از ٤ 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 SCC*mec* TypeIII بودند (۱۲). در مطالعه‌ی تای و همکاران غالب ترین تایپ SCC*mec* Type III، کمتر از ۵ درصد به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام حساس بوده، SCC*mec* type IV ۹۳/۳ درصد به سیپروفلوکساسین، ۴۶/۷ درصد به جنتامایسین و ۹۳/۳ درصد به تری‌متوپریم حساس بودند. ولی همه سویه‌ها به

Downloaded from zums.ac.ir at 17:35 IRDT on Friday March 23rd 2018

ونکومایسین 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 (۱۶ و ۱۵). سویه‌های غیرقابل تایپینگ در این مطالعه به‌طور قابل توجهی از سایر مطالعات بیشتر است (۱۷). SCC*mec* تایپ‌های III-I مولکول‌هایی را کد نموده که مقاومت به چندین کلاس آنتی‌بیوتیکی را کد می‌نماید در صورتی که تایپ SCC*mec* 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. ونکومایسین داروی تزریقی انتخابی در درمان عفونت‌های ناشی از MRSA می‌باشد که خوشبختانه همه‌ی سویه‌های جدا شده به آن حساس بودند.

نتیجه‌گیری

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 SCC*mec* در این مطالعه (تایپ II و IV) بودند. تایپ SCC*mec* III 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, Haghighi 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. 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

Downloaded from zums.ac.ir at 17:35 IRDT on Friday March 23rd 2018

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- Milheiriço 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 methicillineresistant *Staphylococus 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.

Downloaded from zums.ac.ir at 17:35 IRDT on Friday March 23rd 2018

Downloaded from zums.ac.ir at 17:35 IRDT on Friday March 23rd 2018

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

Zeinali E[1], Moniri R[2], Mousavi GA[3]

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

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

[3]Dept. 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 (SCC*mec*) 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 SCC*mec* subtypes were determined by multiplex PCR.

Results: Amomg 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 SCC*mec* 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 typeV. 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 (SCC*mec*) types. SCC*mec typse* II and IV were the predominant strain of MRSA identified.

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