مجله دنیای میکروب‌ها
سال هفتم شماره اول (پیاپی ۱۸) بهار ۱۳۹۳
صفحات ۶۵-۵۸

Original Article

فراوانی *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین و شناسایی ژن *mec A* با روش واکنش زنجیره ای پلی مراز در نمونه های بالینی بیمارستان آیت ا... موسوی زنجان

رسول شکری[۱]، مجتبی صلوتی*[۲]، رحیم سروری زنجانی[۳]، زهرا حیدری[۴]

[۱]کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات فارس، گروه میکروب شناسی، [۲]دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان، مرکز تحقیقات بیولوژی، گروه فیزیک پزشکی، [۳]دانشیار، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، گروه میکروب شناسی، [۴]کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان، مرکز تحقیقات بیولوژی، گروه بیوشیمی

چکیده

سابقه و هدف: امروزه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین* به دلیل مقاومت به عوامل و داروهای ضد میکروبی به یکی از نگرانی های عمده سلامت عمومی تبدیل شده است. این مطالعه با هدف بررسی فراوانی و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین* در نمونه های بالینی جمع آوری شده از بیمارستان آیت ا... موسوی زنجان و شناسایی ژن *mec A* با روش واکنش زنجیره ای پلی مراز انجام شده است.

مواد و روش ها: این پژوهش به صورت مقطعی - توصیفی بر روی ۱۷۶ نمونه بالینی جمع آوری شده از بخش های مختلف بیمارستان آیت ا... موسوی زنجان انجام شد. پس از شناسایی سویه ها، مقاومت جدایه ها نسبت به ۱۲ نوع آنتی بیوتیک با روش انتشار دیسک بررسی گردید. در نهایت پس از استخراج DNA، با استفاده از روش PCR، ژن مقاومت به متی سیلین (*mec A*) مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: از مجموع نمونه های مورد بررسی ۲۵/۵۶ درصد (۴۵ مورد) آلوده به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. از این میان به کمک روش PCR مشخص گردید که ۲۶ مورد (۵۷/۷۷٪) حاوی ژن مقاومت به متی سیلین می باشند. بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی نشان داد که سویه ها بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی بیوتیک های پنی سیلین (۱۰۰٪) و کلوگزاسیلین (۸۰/۷۶٪) و کمترین میزان را نسبت به ونکومایسین (۷/۶۹٪) دارند.

نتیجه گیری: نتایج نشان می دهد که میزان شیوع باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه های بیمارستانی قابل توجه بوده و مقاومت به متی سیلین در سویه های این باکتری افزایش یافته است. این امر می تواند به عنوان یک هشدار در درمان عفونت های ناشی از این باکتری مطرح باشد.

واژگان کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس*، مقاومت آنتی بیوتیکی، ژن *mec A*، واکنش زنجیره ای پلی مراز.

دریافت مقاله: آذر ماه ۹۲ پذیرش برای چاپ: بهمن ماه ۹۲

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) یکی از مهم ترین عوامل ایجاد کننده عفونت های بیمارستانی است (۱). این باکتری به واسطه توانایی ذاتی و کسب مقاومت نسبت به عوامل و داروهای ضد میکروبی به یکی از نگرانی های عمده سلامت عمومی تبدیل شده است (۲). *استافیلوکوکوس اورئوس* باکتری گرم مثبت، کاتالاز مثبت، هوازی و بی هوازی اختیاری و بدون اسپور می باشد که در بخش قدامی بینی و

*) آدرس برای مکاتبه: زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، مرکز تحقیقات بیولوژی، گروه فیزیک پزشکی تلفن: ۰۹۱۲۱۴۵۴۹۵۴ پست الکترونیک: saloutim@yahoo.com

پوست (به ویژه پوست آسیب دیده)، واژن، زیر بغل، ناحیه پرینه، ناف نوزادان تازه متولد شده و اوروفارنکس مستقر می شود (۳ و ۴). در سال ۱۹۶۱ اولین سویه *استافیلوکوک اورئوس* مقاوم به متی سیلین (Meticillin resistant *Staphylococcus aureus*) در اروپا شناسایی شد. از آن زمان تاکنون و به خصوص در دو دهه گذشته شیوع این سویه در بسیاری از نقاط جهان افزایش یافته است (۵). مطالعه ای در آمریکا نشان می دهد که شیوع عفونت های نازوفارنکس ایجاد شده توسط *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین از ۱۴/۳ درصد در سال ۱۹۸۷ به ۳۹/۷ درصد در سال ۱۹۹۷ افزایش پیدا کرده است. از طرفی میزان عفونت این باکتری در بیمارستان ها از ۲۴ درصد در سال ۱۹۷۴ به ۵۰ درصد در سال ۱۹۹۷ رسیده است (۶). بررسی ها در سایر نقاط جهان نیز نشان از افزایش سال به سال این سویه دارند. برای مثال در تحقیقی که در سال ۲۰۰۱ در کانادا صورت گرفت از ۳۰۹ ایزوله بالینی، ۲۱۳ مورد سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین (۶۸/۹ درصد) و بقیه سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* حساس به متی سیلین تشخیص داده شدند. بررسی های انجام شده در ایران نیز نتایج مشابهی را نشان می دهد (۶).

این باکتری به بسیاری از آنتی بیوتیک ها، خصوصا بتالاکتام ها (پنی سیلین، متی سیلین، نافی‌سیلین و اُگزاسیلین)، پنی سیلین های نیمه سنتتیک، سفالوسپورین ها، کارباپنم ها و پنم ها مقاومت نشان می دهد. عفونت های ناشی از این باکتری حتی می توانند موجب مرگ بیماران مبتلا به آن نیز گردند. بنابراین افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی یک نگرانی محسوب شده و بایستی کنترل گردد. مقاومت به متی سیلین مستقل از تولید آنزیم بتا لاکتاماز بوده و شیوع آن در کشورها و زمان های مختلف متفاوت است (۷). سویه های *استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین* دارای ژن *mec A* می باشند. این ژن پروتئینی به نام PBP2a (پروتئین های باند شونده به پنی سیلین) را کد می نماید که میل ترکیبی آن در اتصال به متی سیلین کمتر از سایر پروتئین های متصل شونده به پنی سیلین در دیواره باکتری می باشد. سویه هایی که دارای این ژن هستند به بسیاری از آنتی بیوتیک های دیگر نیز مقاومت نشان می دهند (مقاومت چند داروئی). این امر موجب بروز مشکلات فراوان در درمان عفونت های ناشی از این باکتری گردیده و باعث شیوع هرچه بیشتر آن در جامعه شده است. در باکتری های حساس فاقد این ژن، متی سیلین با میل ترکیبی بیشتری به پروتئین PBP دیواره سلولی متصل می شود که سبب تخریب دیواره باکتری و سرانجام مرگ آن می گردد (۸). به دلیل بیان غیر یکنواخت ژن *mec-A* تست های تشخیصی و سنجش حساسیت ضد میکروبی معمولی در تشخیص دقیق باکتری و مقاومت به متی سیلین ناتوانند. بنابراین لازم است برای تشخیص دقیق و کنترل بیماری از روش های دقیق، سریع و اختصاصی تر مانند واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) استفاده گردد (۹). هدف از این پژوهش بررسی فراوانی و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در نمونه های بالینی جدا شده از بیمارستان آیت ا... موسوی زنجان و شناسایی ژن *mec A* با روش PCR بود.

مواد و روش ها

الف) *نمونه برداری:* در این مطالعه مقطعی- توصیفی تعداد ۱۷۶ نمونه بالینی شامل نمونه خون، زخم، مایع مغزی نخاعی، ادرار، خلط، مدفوع، ریه و غیره از بخش های مختلف بیمارستان آیت ا... موسوی زنجان شامل ICU، زنان، اورژانس، جراحی عمومی، اطفال، بلوک زایمان، نوزادان، سوختگی، اورولوژی، قلب و اورتوپدی مردان در فاصله زمانی دی ماه ۱۳۹۰ تا اسفند ماه ۱۳۹۱ جمع آوری گردید. نمونه های بیماران بر روی محیط های آگار خوندار و مانیتول سالت آگار کشت و در دمای ۳۷ درجه به مدت ۴۸ ساعت گرماگذاری شدند. به منظور تشخیص افتراقی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* از آزمون های بیوشیمیایی شامل کاتالاز، کواگولاز، تخمیر قند مانیتول و DNase استفاده گردید (۱۰).

ب) *آزمون حساسیت میکروبی:* در این مطالعه حساسیت آنتی بیوتیکی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* با روش انتشار

دیسک طبق توصیه مؤسسهٔ استاندارد آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) نسبت به ۱۲ آنتی بیوتیک شامل سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، اگزاسیلین (۱ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۱۲/۵ میکروگرم)، ریفامپین (۳۰ میکروگرم)، ونکومایسین (۳۰ میکروگرم)، پنی سیلین (۱۰ واحد)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفالوتین (۳۰ میکروگرم) و کلوگزاسیلین (۵ میکروگرم) (پادتن طب، ایران) مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۱). نتایج پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش گردید. مقاومت سویه های مورد نظر نسبت به اگزاسیلین در واقع نشان دهنده مقاومت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام مانند پنی سیلین ها، متی سیلین و سفالوسپورین می باشد. پس از تایید مقاومت، انواع سویه های مقاوم به متی سیلین به عنوان باکتری مورد نظر برای مراحل بعدی نگهداری شدند (۷).

ج) واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR): ابتدا سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین به صورت انبوه در محیط تریپتیک سوی براث به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرماگذاری شدند. سپس برای استخراج DNA از روش جوشاندن (boiling) استفاده شد (۱۱). به منظور ردیابی ژن *mecA* از پرایمرهای اختصاصی شامل mecA Reverse: AGT TCT GCA GTA CCG GAT TTGC و mecA Forward: AAA ATC GAT GGT AAA GGT TGGC (سیناژن، ایران) استفاده شد. واکنش زنجیره ای پلی مراز با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر بافر۱۰x، ۲/۴ میکرولیتر dNTP ۱۰ (میلی مولار)، ۲ میکرولیتر کلرید منیزیم (۵۰ میلی مولار)، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر (۱۰ میلی مولار)، ۲ میکرولیتر آنزیم Taq پلیمراز، ۱ میکرولیتر DNA الگو و ۸/۶ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیرانجام گرفت.

در ادامه واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Model PC818, AsTec Company, Japan) با شرایط دمایی ۴ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد و در ادامه ۳۰ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۵۳ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴ دقیقه انجام شد. محصول نهایی PCR در ژل آگارز ۱ درصد مورد الکتروفورز قرار گرفت. پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید با استفاده از اشعه UV مورد بررسی قرار گرفت (۶). در این مطالعه از باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین سویه ATCC 49476 به عنوان کنترل مثبت و از *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین سویه ATCC 25923 به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

د) آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نسخه هجدهم نرم افزار SPSS و آزمون آماری ANOVA انجام گرفت. مرز معنی داری روی P<۰/۰۵ قرار داده شد.

یافته ها

در این مطالعه از مجموع ۱۷۶ نمونه مورد بررسی، ۴۵ نمونه (۲۵/۵۶٪) آلوده به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. بیشترین میزان باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه های ادرار و خون به ترتیب با فراوانی ۳۸/۴۶ و ۳۴/۶۱ درصد مشاهده گردید. همچنین بیشترین میزان جداسازی *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین مربوط به بخش های اورژانس (۲۳/۰۷٪) و ICU (۱۹/۲۳٪) بود (جدول ۱).

ارزیابی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی نشان داد که سویه های جداسازی شده به ترتیب بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی بیوتیک های پنی سیلین (۱۰۰٪)، گلوکزاسیلین (۸۰/۷۶٪)، تتراسایکلین (۶۵/۳۸٪)، اریترومایسین (۶۱/۵۳٪)، کوتریموکسازول (۵۷/۶۹٪)، سفالوتین (۵۰٪) و کمترین میزان مقاومت را نسبت به اگزاسیلین (۴۶/۸۸٪)، سفتازیدیم (۴۶/۱۵٪)، جنتامایسین (۴۲/۳۰٪)، ریفامپین (۳۶/۳۹٪)، سیپروفلوکساسین (۳۰/۴۲٪) و ونکومایسین (۷/۶۹٪) داشتند. در این مطالعه ارتباط معنا داری بین مقاومت آنتی بیوتیکی و

جدول ۱: توزیع فراوانی *استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین* و نوع نمونه در بخش های مختلف بیمارستان

نمونه / بخش	خون	ریه	ادرار	CSF	خلط	مدفوع	زخم	اورئوس مقاوم به متی سیلین	اورئوس حساس به متی سیلین
ICU	۳	۰	۲	۰	۰	۰	۰	۵ (٪۲۳/۱۹)	۳ (٪۱۵/۷۸)
زنان	۰	۰	۳	۰	۰	۰	۰	۳ (٪۵۳/۱۱)	۲ (٪۱۰/۵۲)
اورژانس	۰	۲	۲	۰	۰	۰	۲	۶ (٪۰۷/۲۳)	۴ (٪۲۱/۰۵)
جراحی عمومی	۳	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۳ (٪۵۳/۱۱)	۱ (٪۵/۲۶)
اطفال	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱ (٪۸۴/۳)	۱ (٪۵/۲۶)
نوزادان	۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲ (٪۶۹/۷)	۴ (٪۲۱/۰۵)
بلوک زایمان	۰	۰	۱	۰	۰	۰	۰	۱ (٪۸۴/۳)	۲ (٪۱۰/۵۲)
سوختگی	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲	۲ (٪۶۹/۷)	–
اورولوژی	۰	۰	۲	۰	۰	۰	۰	۲ (٪۶۹/۷)	۲ (٪۱۰/۵۲)
قلب	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	–	–
ارتوپدی مردان	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۱ (٪۸۴/۳)	–
جمع کل	۹ (٪۳۴/۶۱)	۲ (٪۷/۶۹)	۱۰ (٪۳۸/۴۶)	–	–	–	۵ (٪۱۹/۲۳)	۲۶ (٪۱۰۰)	۱۹ (٪۱۰۰)

سویه های جداسازی شده مشاهده گردید (P<۰/۰۵).

همچنین نتایج حاصل از PCR نشان داد که از ۴۵ سویه جداسازی شده، ۲۶ سویه (۵۷/۷۷ درصد) دارای ژن مقاومت به متی سیلین (*mec A*) بودند.

بحث

در مطالعه حاضر، الگوی حساسیت ضد میکروبی سویه های مختلف *استافیلوکوکوس اورئوس* و فراوانی ژن مقاومت به متی سیلین با روش PCR بررسی گردید. در پژوهش حاضر از مجموع ۴۵ سویه جداسازی شده، ۲۶ سویه (۵۷/۷۷ درصد) دارای ژن مقاومت به متی سیلین (*mec A*) بودند. همچنین بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی نشان داد که بیشترین مقاومت دارویی نسبت به پنی سیلین (۱۰۰ درصد) و کلوگزاسیلین (۸۰/۷۶ درصد) و کمترین میزان مقاومت، مربوط به ونکومایسین (۷/۶۹ درصد) بوده است.

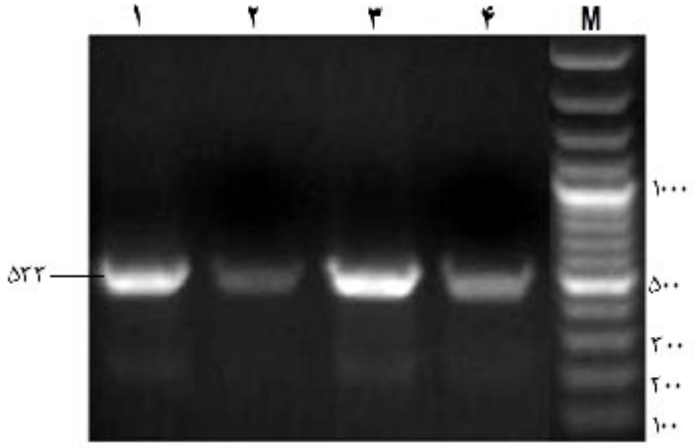
زمانی (Zamani) و همکاران در سال ۲۰۰۶ در همدان، مطالعه ای بر روی ۷۰ نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام دادند. یافته های آنها نشان داد که ۵۰ درصد از سویه های جداسازی شده دارای ژن مقاومت به متی سیلین بودند. همچنین ۵۰ درصد از سویه ها نسبت به آنتی بیوتیک سفوکسیتین مقاوم داشتند. از طرفی مقاومت به متی سیلین در مقایسه با سایر آنتی بیوتیک ها درصد بالایی را نشان می داد (۶).

در مطالعه ای که مرادی (Moradi) و همکاران در سال ۲۰۱۲ بر روی ۱۰۴ نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام دادند مشخص گردید که سویه ها کمترین مقاومت (٪۳/۸) را نسبت به آنتی بیوتیک ونکومایسین داشتند. از طرفی ۴۰/۴ درصد از سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* به متی سیلین مقاوم بودند (۱۲). این یافته ها با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر هم خوانی دارد. از آنجایی که در مطالعه حاضر سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین به آنتی بیوتیک ونکومایسین حساسیت دارند، مصرف بی رویه این آنتی بیوتیک در درمان مبتلایان به عفونت ناشی از این باکتری می تواند عواقب خطرناکی مانند افزایش سویه های مقاوم به متی سیلین و ونکومایسین و عدم درمان مناسب بیماران را به همراه داشته باشد. رضازاده (Rezazadeh) و همکاران در سال ۲۰۱۳ در مطالعه ای در اراک نشان دادند که ۸۰ درصد از سویه های جداسازی شده از عفونت های بیمارستانی نسبت به متی سیلین مقاوم بوده اند. همچنین تمامی سویه ها نسبت به آنتی بیوتیک موپیروسین حساسیت داشتند (۱۳). در پژوهش حاضر بیشترین میزان جداسازی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به

متی سیلین مربوط به نمونه های ادرار و خون به ترتیب با فراوانی ۳۸/۴۶ و ۳۴/۶۱ درصد بود.

واعظ (Vaez) و همکاران در سال ۲۰۱۰ در گرگان بیشترین *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین را از نمونه ادرار (۳۶/۵۳٪) جداسازی نمودند. همچنین نتایج آنها نشان داد که سویه ها بیشترین مقاومت را به ترتیب نسبت به آنتی بیوتیک های پنی سیلین (۱۰۰ درصد)، کوآموکسی کولاو (۹۶/۷ درصد)، سفوتاکسیم (۷۱/۴ درصد) و اریترمایسین (۶۴/۳ درصد) داشتند (۱۴). این یافته ها با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر هم خوانی دارد. در مطالعه کورن (Korn) و همکاران در سال ۲۰۰۱ در برزیل، تعداد حاملین سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین ۴۶ درصد گزارش گردید (۱۵). این میزان از فراوانی به دست آمده در مطالعه حاضر بیشتر است.

هوواری (Hwwari) و همکاران در سال ۱۹۹۸ در آمریکا از مجموع ۸۷۵ بیمار بستری در بخش ICU، میزان حاملین سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین را ۴/۱۹ درصد اعلام نمودند (۱۶). ساجیت خان (Sajith Khan) و همکاران در سال ۲۰۱۲ در هند، حضور ژن مقاومت به متی سیلین در ۵۸۶ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه های بالینی را بررسی نمودند که از این تعداد، ۲۳۶ سویه (۴۰/۲ درصد) دارای ژن مقاومت به متی سیلین بودند. این نتایج کمتر از نتیجه حاصل از تحقیق حاضر می باشد (۱۷). در تحقیقی که سکوسکا (Cecovsca) و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام دادند، روش های مختلف بررسی مقاومت دارویی شامل روش انتشار در آگار، رقت در براث و رقت در آگار با روش PCR مورد مقایسه قرار گرفتند. این تحقیق بر روی ۱۲۰ نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس* به دست آمده از بیماران بستری شده در بیمارستان انجام گرفت و نتایج نشان داد که ترکیبی از روش های مورد اشاره می تواند با دقت بالایی باعث شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین گردد (۱۸). در سال ۲۰۰۹ زاهان (Zahan) و همکاران، برای بررسی مقاومت به متی سیلین در ۴۰ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه های بالینی، روش های PCR و انتشار در آگار را انجام دادند. نتایج روش انتشار در آگار نشان داد که ۳۷ درصد از سویه های مورد بررسی مقاوم به متی سیلین می باشد در صورتی که در روش PCR ۲۵ درصد سویه ها دارای ژن مقاومت به متی سیلین می باشند (۱۹) در مجموع نتایج به دست آمده در مطالعات یاد شده نشان می دهد که شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین و سایر آنتی بیوتیک ها از جمله بتالاکتام ها، آمینوگلیکوزیدها، ماکرولیدها و کوئینولون ها در حال افزایش بوده و این امر می تواند خطری جدی در افزایش عفونت های ناشی از این باکتری محسوب شود. همچنین با توجه به موارد زیاد مقاومت به آنتی بیوتیک



شکل ۱: الکتروفوز حاصل از تکثیر ژن *mec-A* با روش PCR. M: مارکر (۱۰۰جفت بازی)، ستون های ۱ تا ۳ نمونه های مثبت حاوی ژن *mec-A* (۵۳۳ جفت باز)، ستون ۴) کنترل مثبت (سویه استاندارد).

ها، به منظور درمان عفونت های *استافیلوکوکوس اورئوس* و جلوگیری از هزینه های غیر ضروری و ناموفق در درمان این باکتری، انجام تست های میکروب شناسی و حساسیت داروئی قبل از درمان ضروری می باشد. تاکنون تحقیقی در زمینه بررسی فراوانی *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین و شناسایی ژن *mec A* در نمونه های بالینی بیمارستان های شهر زنجان انجام نگرفته است و نتایج حاصل از این تحقیق می تواند گامی موثر در کاهش عفونت های ناشی از این باکتری در شهر زنجان بر دارد.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که شیوع سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین همراه با مقاومت های چند دارویی به سطح قابل توجهی رسیده است. این افزایش مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف باید در بخش های مختلف بیمارستان به عنوان یک موضوع جدی مورد توجه قرار گیرد تا ضمن درمان به موقع و موثر، از بروز سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک و انتشار آن در بیمارستان و جامعه جلوگیری به عمل آید.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از آقای محمدیان کارشناس محترم آزمایشگاه بیمارستان آیت ا... موسوی زنجان به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Lowy FD. *Staphylococcos aureus* infections. N Engl J Med. 1998; 339(8): 520-532.
2. Rahimi F, Bouzari M, Vandyousefi J, Maleki Z, Saberi Kashani S, Davoudi S. Analysis of antibiotic resistance and detection of *mecA* gene in *Staphylococcus aureus* isolated from hospitals and medical laboratories in Tehran. Iran Biological J. 2008; 21: 64-74.
3. Ghaznavi-Rad E, Shamsudin MN, Sekawi Z, Khoon LY, Aziz MN, Hamat RA. Predominance and emergence of clones of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Malaysia. J Clin Microbiol. 2010; 48(3): 867-872.
4. Morell EA, Balkin DM. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a pervasive pathogen highlights the need for new antimicrobial development. Yale J Biol Med. 2010; 83(4): 223-233.
5. Shehab el-din SA, El-shfey EIl, El-hadiy MR, El- dlin AB, El-hadiy MM, Zaghlvul HA. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, a problem in the burns unit. Egypt J Plast Reconstr Surg. 2003; 27(1): 1-10.
6. Zamani A, Sadeghian S, Ghaderkhani J, Alikhani MY, Najafimosleh M, Taghi Goodarzi M. Detection of methicillin-resistance (*mec-A*) gene in *Staphylococcus aureus* strains by PCR and determination of antibiotic susceptibility. Ann Microbiol. 2007; 57(2): 273-276.
7. Merlino J, Watson J, Rose B, Beard-Pegler M, Gottlieb T, Bradbury R. Detection and expression of Methicillin/oxacillin resistance in Multidrug-resistant and non-Multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in Central Sydney, Australia. J Antimicrob Chemother. 2002; 49(5): 793-801.
8. Pereira V, Lopes C, Castro A, Silva J, Gibbs P. Teixeira, P. Characterization for enterotoxin

production. Virulence factors, and antibiotic susceptibility of *staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal. Food Microbiol. 2009; 26: 278-282.

9. Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). PNAS. 2002; 99(11): 7687-7692.

10. Sharifi M. Application, interpretation and principles of biochemical tests in medical microbiology. Tabriz; Ahrar company. 2000: 257-503 [In Persian].

11. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing;* Twentieth Informational Supplement. M100S222012. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012.

12. Moradi N, Javadpour S, Karmostaji A. Reduced sensitivity of *Staphylococcus aureus* to vancomycin. Hormozgan Uni of Med Sci. 2011;15(3):169-177 [In Persian].

13. Rezazadeh M, Yousefi Mashouf R, Sarmadyan H, Ghaznavi-Rad E. Antibiotic profile of methicillin-resistant *Staphylococcus aureu*s with multiple-drug resistances isolated from nosocomial infections in Vali-Asr Hospital of Arak. Arak Med Uni J. 2013; 16(71): 29-37 [In Persian].

14. Vaez H, Ghazi K, Abdolvahab S, Tabarai M, Khodabakhshi B, Bazori M. Antibiotic resistance patterns of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains in hospitals in Gorgan. Afr J Microbiol Res. 2008; 5(4): 432-436.

15. Korn GP, Martino MD , Mimica IM, Mimica LJ, Chiavone PA, Musolino LR. High frequency of Colonization and absence of identifiable risk factors for MRSA in ICU in Brazil. Brazil J Infect Dis. 2001; 5: 47: 9-15.

16. Hwwari A, Hendrix E, Hebden J, Edelman R, Martin M, Campbell W. Phenoytpic and genotypic characterization of nosocomial *Staphylococcus aureus* isolates from trauma patients. J Clin Microbiol. 1998; 36: 414-420.

17. Sajith Khan AK, Preetha JS, Lakshmi SY, Anandi C, Ramesh R. Detection of *mecA* genes of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction. Int J of Health Rehabilitation Sci. 2012; 1: 64-68.

18. Cecovsca Z, Panovski N, Petrovsca M. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Comparison of susceptibility test methods with *mecA* gene analysis for determining oxacillin (Methicilin) resistance in our clinical isolates. Bratisal Lek Listy. 2005; 106: 163-167.

19. Zahan NA, Hossain MA, Musa AK, Shamsuzzaman AK, Mahamud MC, Mamun AA, Paul SK, Ahmed S, Sumona AA, Begum Z, Alam M, Yusuf MA, Uddin MS. PCR for *mecA* gene of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Mymensing Med J. 2009; 18: 21-26.

Journal of Microbial World
Volume 7, No. 1, April 2014

Original Article

Frequency of meticillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical samples in Mousavi Hospital, Zanjan, and recognition *mec A* gene using PCR

Rasoul Shokri[1], Mojtaba Salouti[2], Rahim Sorouri Zanjani[3], Zahra Heidari[4]

[1] MS.c., Department of Microbiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Fars, Iran.
[2] Associate Professor, Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University Zanjan, Iran.
[3] Associate Professor, Zanjan University of Medical Science, Zanjan, Iran.
[4] MS.c., Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University Zanjan, Iran.

Abstract

Background and Objectives: Nowadays Meticillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the public-health threats due to resistance to agents and anti microbial drugs. The aim of present study was to find the incidence of Meticillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical samples in Ayatollah Mousavi Hospital of Zanjan and their antibiotic resistance pattern as well as recognizing of the *mecA* gene using PCR.

Materials & Methods: In this descriptive cross-sectional study, 176 specimens were collected from different sections of Ayatollah Mousavi Hospital and assayed. The strains were identified and the resistances of the isolates to 12 kinds of antibiotics were determined using disk diffusion method. Finally, following DNA extraction, *mecA* gene was analyzed by PCR.

Results: 45 *Staphylococcus aureus* isolates were recovered (25.56%). 26 out of 45 *Staphylococcus aureus* isolates (57.77%) were confirmed as MRSA. Evaluation of antibiotic resistance showed the greatest resistance to penicillin (100%) and cloxacillin (80.76%), respectively, and the lowest resistance was observed to vancomicin (7.69%).

Conclusion: The findings showed that the prevalence of MRSA was remarkable in the hospital samples and the resistance to methicillin has increased that is a serious warning to the treatment of infections caused by this bacterium.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Antibiotic resistance, *mecA* gene, PCR.

Correspondence to: Mojtaba Salouti

Tel: +989121454954

E-mail: saloutim@yahoo.com

Journal of Microbial World 2014, 7(1): 58-65.