مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
سال ۶۵، شماره ۳
مرداد-شهریور ۱۴۰۱، صفحه ۱۳۵۵-۱۳۴۱

www.mums.ac.ir
Medical Journal of Mashhad
University of Medical Sciences
Vol. 65, No.3, P: 1341-1355
Jul -Sep2022

مقاله اصلی

بررسی ژنوتیپی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی *سیلین* جدا شده از بیماران در شهرکرد

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۳۱- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۰۸

سامه حاجی محمدی [۱]
حسن ممتاز [۲*]
الهه تاجبخش [۳]

[۱] *دانشجوی دکتری تخصصی بیوتکنولوژی میکروبی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران*
[۲] *استاد گروه میکروب شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران*
[۳] *دانشیار گروه میکروب شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران*

Email: hamomtaz@yahoo.com

خلاصه

مقدمه: *استافیلوکوکوس اورئوس* رایجترین عامل ایجاد عفونت در بیمارستان است. این مطالعه به منظور تعیین فراوانی *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از عفونت‌های بیماران و تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌های شهرکرد انجام شد.

روش کار: این مطالعه توصیفی -مقطعی روی ۱۶۶ بیمار دارای عفونت مراجعه کننده به بیمارستان‌های شهرکرد طی سال ۱۴۰۰ انجام پذیرفت. از سواپ‌های استریل برای جمع آوری نمونه از عفونت‌ها استفاده شد. ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی نظیر رنگ آمیزی گرم، کاتالاز، کواگولاز، تست‌های مانیتولDNase و تخمیر قند تایید گردید. الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی با روش انتشار دیسک براساس الگوی CLSI انجام پذیرفت. ایزوله‌های جدا شده به دلیل بررسی حضور ژن هدف *mecA* و *تایید تیپ بندی* SCC*mec* به روش PCR بررسی شدند.

نتایج: تعداد ۴۵ نفر (۲۷/۱۰ درصد) از ۱۶۶ نفر بیمار مراجعه کننده دارای کشت مثبت استافیلوکوک اروئوس بودند. در این مطالعه اختلاف معنی داری بین متغیرهای سن و جنس مشاهده نشد ($P>0.05$). تعداد ۴۰ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* (۸۸/۸ درصد) مقاوم به اگزاسیلین و ۳۶ ایزوله (۸۰ درصد) مقاوم به سفوکسیتین بوده و ۴۵ ایزوله (۱۰۰درصد) از لحاظ فنوتیپی *MRSA* بودند که این ایزوله‌ها با روش مولکولی (حضور ژن حامل ژن *mecA* با روش مولکولی) PCR تایید شد. ۱۰۰ درصد از بیماران مبتلا به عفونت استافیلوکوک اروئوس، مقاوم به متی سیلین بوده و ۹۵/۵ درصد آن‌ها MDR بودند. بیمارانی که در یک سال گذشته مصرف آنتی بیوتیک داشتند، ۲ برابر بیماران دیگر دارای عفونت ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. از تعداد 100 ایزوله مقاوم به متی سیلین (ایزوله‌های واجد ژن *mecA*)، تیپ V در ۵۳,۳۳ درصد جدایه‌ها ردیابی شد. همچنین TypeIII و Typr IVa به ترتیب در ۲۶/۶۶٪ و ۱۷/۷۷٪ از ایزوله‌ها شناسایی شد.

نتیجه گیری: بیش از نیمی از عفونت‌های استافیلوکوکی در این مطالعه ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* بود و بیش از ۴۸ درصد از ایزوله‌ها مقاوم به متی سیلین بودند. بیشترین مقاومت به پنی سیلین مشاهده شد. شیوع بالای استافیلوکوکوس اورئس رنگ خطر جدی برای جامعه به شمار می‌آید.

کلمات کلیدی
استافیلوکوکوس اورئوس، ژنوتایپینگ، ژن‌های مقاومت

پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

مقدمه

وجود انواع مختلف باکتری‌ها در بیماری‌های عفونی و بافت نرم بیماران، به ویژه عفونت‌های مزمن، روند بهبود و التیام را به تأخیر انداخته و با کلونیزاسیون و ایجاد عفونت که در برخی بیماران به سپیس منجر می شود مشکل ساز می گردد (۱). یکی از مهمترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد که می‌تواند عامل عفونت‌های مهمی‌چون باکتریمی، عفونت‌های تنفسی و ادراری، ذات‌الریه، اندوکاردیت و عفونت‌های زخم و پوستی باشد (۲). *استافیلوکوکوس اورئوس* رایجترین پاتوژن عامل ایجاد عفونت پوست و بافت نرم است (۳). *استافیلوکوکوس اورئوس* پاتوژن فرصت طلبی است که بیش از 80 درصد در بینی و پوست کلونیزه می شود (۴). این کوکسی‌های گرم مثبت مسئول انواع عفونت‌های بیمارستانی بوده، در بسیاری از موارد از عفونت‌های پوستی منشاء گرفته و 30 درصد افراد ناقل این باکتری می باشند (۵). عفونت بیمارستانی به عفونتی گفته می‌شود که بیمار در زمان بستری و در دوره کمون دچار آن نباشد. میزان شیوع عفونت‌های بیمارستانی بالا می‌باشد به طوری که خطر آن‌ها در مجهزترین بیمارستان‌ها نیز بالاست (۶). *استافیلوکوکوس اورئوس* علت شایع عفونت‌های پوست و بافت نرم (مانند زردزخم، فورانکل و آبسه) و همچنین عفونت‌های سیستماتیک (مانند پنومونی و اندوکاردیت) است (۹-۷). عفونت‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مراقبت و درمان زخم‌های پوست و بافت نرم آسیب دیده را با مشکل مواجه می سازد (۹). خطر عفونت‌های ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* تنها ناشی از انتشار و پاتوژنیستی آن نیست (۱۰)، بلکه به دلیل توانایی آن در غلبه به عوامل ضدمیکروبی می باشد (۱۱). استفاده از آنتی بیوتیک به طور مداوم در درمان عفونت‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* باعث ظهور سوش‌های مقاوم به آنتی بیوتیک شده است. گسترش شدید و بی رویه مقاومت آنتی بیوتیکی، فرآیند درمان عفونت‌های ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* را با مشکل مواجه کرده و سبب فراگیر شدن سوش‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus*MRSA) در بیمارستان‌ها شده است (۱۲). استافیلوکوکوس‌های مقاوم به متی سیلین عامل عمده کلونیزاسیون و ایجاد عفونت در زخم‌های حاد و مزمن بافت نرم می باشند؛ این نوع ارگانیسم‌ها از سال 1960 به عنوان مهمترین پاتوژن کلینیکی و بیمارستانی به رسمیت شناخته شده اند (۱۳). ژن mecA روی یک قطعه ژنتیکی سیار قرار دارد که به آن مجموعه کروموزومی mec استافیلوکوکی (SCCmec) می‌گویند (۱۳). مقاومت دارویی ایجاد شده در سویه‌های MRSA ناشی از این عناصر متحرک ژنتیکی می باشد. ژن mecA دارای کدهایی برای تغییر در پروتئین متصل شونده به پنی سیلین (PBP2a) بوده که باعث ایجاد میل ترکیبی کمتر در اتصال به حلقه بتالاکتام می شود (۱۴). اخیرا اپیدمی‌های جهانی ناشی از عفونت‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین مرتبط با جامعه (community-associated-MRSA) از نقاط مختلف جهان گزارش شده است (۱۵). برای مقابله با این مشکل از داروی وانکومایسین استفاده شده است (۱۵).

بیش از 50 سال ونکومایسین برای درمان عفونت‌های استافیلوکوکوس اورئوس به ویژه برای درمان ایزوله‌های مقاوم به متی سیلین (MRSA) به طور موفقیت آمیز استفاده شده است (۱۶)؛ با این حال، سه دهه بعد از معرفی ونکومایسین، *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به ونکومایسین (Vancomycin Resistant *S .aureus*) و *استافیلوکوکوس اورئوس* حدواسط به ونکومایسین (Vanco-mycin Intermediate *S .aureus*) گزارش شده است (۱۷). تولید فاکتورهای ویرولانس متعدد و همچنین حضور ژن مقاومت آنتی بیوتیکی *استافیلوکوکوس اورئوس* را به یک میکروارگانیسم بسیار بیماریزا تبدیل کرده است (۱۸). شیوع عفونت‌های استافیلوکوکی در عفونت‌های پوست و بافت نرم بالا است (۱۹).

باتوجه به اهمیت گستردگی و مقاومت آنتی بیوتیکی عفونت‌های مختلف و بافت نرم ناشی از این باکتری و عدم

اطلاع نسبت به فراوانی و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی عفونت‌های بافت نرم در ایران این مطالعه طراحی گردید. بررسی عوامل ایجاد کننده عفونت و تعیین فراوانی الگوی مقاومت و حساسیت آنتی بیوتیکی *استافیلوکوکوس اورئوس* جداشده از عفونت‌های مختلف در بیمارستان‌های ایران و به کارگیری سیستم نظارت و مراقبت منطقه ای حائز اهمیت میباشد (۱۶-۱۹). هدف از این مطالعه تعیین فراوانی *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از عفونت‌های مختلف و تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌های شهرکرد در سال ۱۴۰۰ می باشد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری نمونه و شناسایی اولیه

این مطالعه توصیفی مقطعی روی 166 بیمار مبتلا به عفونت‌های ادراری و بافت نرم در بیمارستان‌های شهرکرد در سال طی سال ۱۴۰۰ انجام پذیرفت. از سواپ‌های استریل برای جمع آوری نمونه از عفونت‌های تشخیص داده شده توسط پزشکان متخصص عفونی استفاده گردید. اطلاعات بیماران از قبیل سن، جنس به وسیله پرسشنامه تائید شده توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی‌واحد شهرکرد جمع آوری گردید. نمونه‌های جمع آوری شده در محیط ترانسپورت (تریپتوکیس سوی براث؛ TSB) به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی‌شهرکرد منتقل شده و روی محیط بلادآگار حاوی 5 درصد خون گوسفند کشت داده شد و 24 ساعت در انکوباتور 37 درجه سانتیگراد انکوبه گردید. سپس، با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی استاندارد از قبیل تست کاتالاز، رنگ آمیزی گرم، تست کواگولاز لوله ای و اسلایدی، و رشد در محیط مانیتول سالت آگار ایزوله‌ها تعیین هویت شدند (۱۷).

بررسی الگوی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی

الگوی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی با روش انتشار دیسک با دیسک‌های آنتی بیوتیکی اگزاسیلین (15 میکروگرم)، کلیندامایسین (2 میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (5 میکروگرم)، تتراسایکلین (30 میکروگرم)، سفازولین (30 میکروگرم)، جنتامایسین (10 میکروگرم)، ونکومایسین (30 میکروگرم)، تیکوپلانین (30 میکرو-گرم)، آمیکاسین (30 میکروگرم)، داپتومایسین (30 میکروگرم)، لینزولید (30 میکروگرم)، سفوکسیتین (30 میکروگرم) و پنی سیلین (1 میکروگرم) تهیه شده از شرکت Mast انگلستان طبق معیارهای CLSI 2019 انجام پذیرفت (۱۸).

تعیین سویه‌های مقاوم به متی سیلین

ایزوله‌های مقاوم به متی سیلین با دو روش تعیین گردید؛ روش اول با استفاده از روش انتشار دیسک روی محیط مولرهینتون آگار طبق استانداردهای توصیه شده CLSI 2019 با استفاده از دیسک 30 میکروگرمی سفوکسیتین (هاله عدم رشد کمتر و مساوی 21 میکروگرم MRSA درنظر گرفته شد)، و دیسک 1 میکروگرمی اگزاسیلین (هاله عدم رشد کمتر و مساوی از 10 میکروگرم MRSAدرنظر گرفته شد). روش دوم با استفاده از روش مولکولی واکنش زنجیرهای پلیمراز (PCR) برای شناسائی ژن *mecA*. به دلیل وجود مقاومت ناهمگن در بین ایزوله‌های MRSA ممکن است کارایی روش‌های مختلف فنوتیپی متفاوت باشد، لذا از هر دو روش جهت تائید شناسایی ایزوله‌ها استفاده شد.

بررسی حضور ژن‌های مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها با روش PCR:

استخراج DNA

برای این منظور، استخراج DNA از هر نمونه مطابق با پروتکل کیت استخراج DNA (سیناکلون، ایران) انجام شد. . به این ترتیب که مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از کشت تازه باکتری را با ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط پروتئاز و پروتئاز بافر میکس کرده و به مدت ۲ ساعت در هیتربلاک در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. مقدار ۲۰۰ میکرولیتر محلول Lysis به آن اضافه کرده و پس از ۱۵ ثانیه ورتکس مقدار ۳۰۰ میکرولیتر از محلول رسوب گذاری اضافه شد. نمونه ها، ۱ ساعت در درمای ۲۰- درجه سانتی گراد قرار گرفتند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول رویی دور ریخته شد. مقدار ۷۰۰ میکرولیتر

محلول شستشو اضافه شده و بلافاصله در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت را دور ریخته و مقدار ۶۰ میکرولیتر آب تزریق به رسوب حاصل (پس از خشک شدن) اضافه شده و به مدت ۲ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول رویی به عنوان منبع DNA استفاده گردید.

کیفیت سنجی DNA استخراج شده

جذب نوری DNA استخراج شده جهت تعیین کیفیت، توسط دستگاه نانودراپ thermo مدل **NanoDrop One C (آمریکا)** خوانده شد .برای انجام PCR از آغازگرهای (Primers) معرفی شده برای ژن *mecA* استفاده شد (۱۹).

ردیابی ژن‌های کد کننده مقاومت آنتی بیوتیکی در استافیلوکوکوس اورئوس

جهت ردیابی ژن‌های کد کننده مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها شامل ژن‌های مقاومت به تتراسایکلین (tetK,tetM)، ژن مقاومت به متی سیلین (mecA)، ژن مقاومت به آمینوگلیکوزید (aacA-D)، ژن‌های مقاومت به ماکرولید (msrA)و(msrB)، ژن مقاومت به لینکوزامیدها (linA) ، ژن مقاومت به لینکوزامیدها و استرپتو گرامین B و (ermCermA erInC)و ژن مقاومت به استرپتو گرامین A (vatA.vatB.vatC) از زوج پرایمرهای ارائه شده در جدول ۱ طبق دستور ارایه شده توسط Momtaz(2014) استفاده شد (۳۹).

جدول ۱. لیست پرایمرهای شناساسایی مقاومت میکروبی

Gene	Oligonucleotide Sequences	bp	Refrences
mecA	F-AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC R- AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC	532	39
msrA	F-GGCACAATAAGAGTGTTTAAAGG R-AAGTTATATCATGAATAGATTGTCCTGTT	940	39
msrB	F-TATGATATCCATAATAATTATCCAATC R-AAGTTATATCATGAATAGATTGTCCTGTT	595	39
aacA-D	F-TAATCCAAGAGCAATAAGGGC R-GCCACACTATCATAACCACTA	227	39
tetK	F-GTAGCGACAATAGGTAATAGT R-GTAGTGACAATAAACCTOCTA	360	39
tetM	F-AGTGGAGCGATTACAGAA R-CATATGTCCTGGCGTGTCTA	158	39
vatA	F-TGGTCCCGGAACAACATTTAT R-TCCACCGACAATAGAATAGGG	268	39
vatB	F-GCTGCGAATTCAGTTGTTACA R-CTGACCAATCCCACCATTTTA	136	39
vatC	F-AAGGCCCCAATCCAGAAGAA R-TCAACGTTCTTTGTCACAACC	467	39
ermA	F-AAGCGGTAAACCCCTCTGA R-TTCGCAAATOCCTTCTCAAC	190	39
ermC	F-AATCGTCAATTCCTGCATGT R-AATCGTCAATTCCTGCATGT	299	39
Lin A	F-GGTGGCTGGGGGGTAGATGTATTAACTGG R-GCTTCTTTTGAAATACATGGTATTTTTCGA	323	39

ردیابی انواع تیپ‌های ccitec در استافیلوکوکوس اورئوس

ردیابی انواع تیپ‌های ccitec در استافیلوکوکوس اورئوس جهت تعیین تیپ‌های مختلف کاست کروموزومیSCCmtec در ایزوله‌های mec مثبت استافیلوکوکوس اورئوس از زوج پرایمرهای ارائه شده در جدول ۲ استفاده شد (۱۴، ۳۹).

جدول ۲. لیست پرایمرهای شناساسایی انواع تیپ‌های ccitec

Types	Primer Sequence (5'-3')	bp	Refrences
SCCmec I	F: GCTTTAAAGAGTGTCGTTACAGG R: GTTCTCTCATAGTATGACGTCC	613	14, 39
SCCmec II	F: CGTTGAAGATGATGAAGCG R: CGAAATCAATGGTTAATGGACC	398	14, 39
SCCmec III	F: CCATATTGTGTACGATGCG R: CCTTAGTTGTCGTAACAGATCG	280	14, 39
SCCmec Iva	F: GCCTTATTCGAAGAAACCG R: CTACTCTTCTGAAAAGCGTCG	776	14, 39
SCCmec lVb	F: TCTGGAATTACTTCAGCTGC R: AAACAATATTGCTCTCCCTC	493	14, 39
SCCmeclVc	F: ACAATATTTGTATTATCGGAGAGC R: TTGGTATGAGGTATTGCTGG	200	14, 39
SCCmeclVd	F: CTCAAAATACGGACCCCAATACA R: TGCTCCAGTAATTGCTAAAG	881	14, 39
SCCmec V	F: GAACATTGTTACTTAAATGAGCG R: TGAAAGTTGTACCCTTGACACC	325	14, 39

واکنش PCR جهت ردیابی تیپ‌های SCCmecدر حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase، 2.5 میکرولیتر باقر 10X و ۰/۵میکرومول از هر کدام از پرایمرها، ۲۰۰ میکرومول dNTP و ۱/۵میلی مول MgCl2 و1 ناتوگرم DNA الگو و یا برنامه حرارتی 1سیکل ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۳ سیکل تکراری ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۶۵ درجه سانتی- گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۹۰ ثانیه و یک سیکل نهایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز 1/5درصد واجد محلول رنگی DNA safe stain سینا ژن ایران در حضور مار کر ۱۰۰ جفت بازی با ولتاژ ثابت 90 ولت به مدت حدودا ۱ساعت انجام گرفت. ژل مورد نظر با دستگاه ترانس لومیناتور UV مورد بررسی قرار گرفت

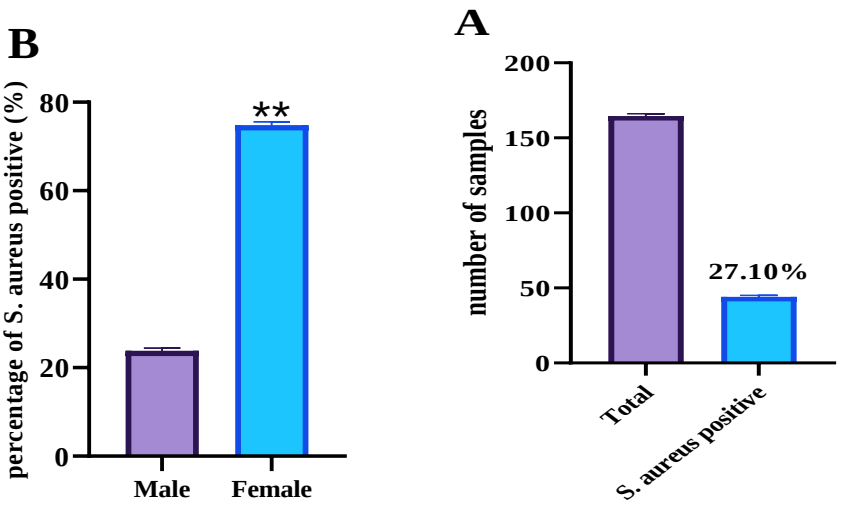
تجزیه و تحلیل آماری نتایج

داده‌های حاصل از نتایج به دست آمده در این مطالعه با نرم افزار آماری SPSS ver.16 و مدل‌های آماری مربع کای و دقیق فیشر در سطح اطمینان ۹۵ درصد تحلیل شد.

نتایج

پراکنش عفونت استافیلوکوکی در بیماران

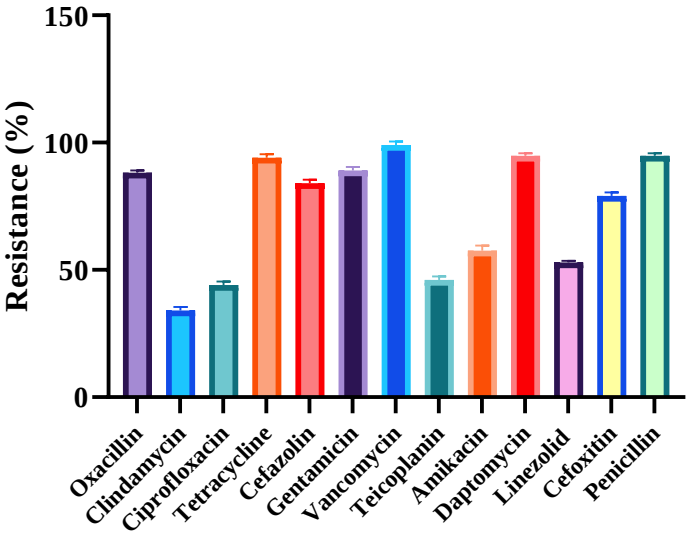
این مطالعه روی 166 نفر از مراجعه کنندگان به بخش عفونی بیمارستان‌های شهرکرد انجام شد. میانگین سنی بیماران 17/5±45/7 سال و دامنه سنی از حداقل ۷ تا حداکثر ۸۱ سال متغیر بود. تعداد ۱۲۱ نفر (۷۲/۸۹ درصد) بیماران را زنان و ۴۵ نفر (۲۷/۱۰درصد) آنها را مردان تشکیل داده بودند. تعداد ۴۵ نفر (۲۷/۱۰ درصد) از ۱۶۶ نفر بیمار مراجعه کننده دارای کشت مثبت استافیلوکوک اروئوس بودند. تعداد ۱۱ نفر (۲۴/۴۴ درصد) بیماران را مردان و ۳۴ نفر (۷۵/۵۵درصد) آنها را زنان تشکیل داده بودند (شکل شماره 1). میانگین سنی بیماران مبتلا به عفونت استافیلوکوک اروئوس 11/3±40/2 سال با دامنه سنی 7 تا 81 سال بود که در این مطالعه اختلاف معنی داری بین متغیرهای سن و جنس مشاهده نشد. تعداد 45 نفر (100 درصد) از بیماران مبتلا به عفونت *استافیلوکوکوس اورئوس* آنتی‌بیوتیک مصرف می کردند. تعداد 38 نفر (84/44 درصد) آنتی بیوتیک در یک سال گذشته مصرف کرده بودند، 7 نفر (15/5 درصد) بیش از 48 ساعت در بیمارستان بستری بوده و دارای عفونت بیمارستانی بودند.



شکل ۱. (A) درصد فراوانی شیوع استافیلوکوکوس اورئوس در بین نمونه‌های عفونی جمع آوری شده. (B) درصد توزیع استافیلوکوکوس اورئوس در بین بیماران زن و مرد.

الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی سویه‌های جدا شده

تعداد ۴۰ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* (۸۸/۸ درصد) مقاوم به اگزاسیلین و ۳۶ ایزوله (۸۰ درصد) مقاوم به سفوکسیتین بوده و ۴۵ ایزوله (۱۰۰درصد) از لحاظ فنوتیپی *MRSA* بودند که این ایزوله‌ها با روش مولکولی (حضور ژن حامل ژن *mecA* با روش مولکولی) PCR تایید شد (شکل شماره ۲). 95/5 درصد ایزوله‌ها (۴۳ ایزوله) مقاوم به پنیسیلین بوده، همه ایزوله‌ها (۱۰۰ درصد) به ونکومایسین مقاوم بودند و ۴۶/۶ درصد ایزوله‌ها به لینزولید حساس بودند. مقاومت به داپتومایسین (۹۵/۵ درصد) بود. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی استافیلوکوک اروئوس جدا شده از بیماران در شکل شماره 3 ارائه شده است. ۱۰۰ درصد از بیماران مبتلا به عفونت استافیلوکوک اروئوس، مقاوم به متی سیلین بوده و ۹۵/۵ درصد آنها MDR بودند.



شکل ۲. توزیع درصد مقاومت آنتی بیوتیکی *استافیلوکوکوس اورئوس* جداشده از عفونت‌های بیماران مراجعه کننده

فاکتورهای خطر عوامل باکتریایی جدا شده از بیماران

فاکتورهای خطر عوامل باکتریایی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت در جدول شماره ۳ ارائه شده است. همانطور که این جدول نشان میدهد بیمارانی که در یک سال گذشته مصرف آنتی بیوتیک داشتند، ۲ برابر بیماران دیگر دارای عفونت ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. همچنین، بیمارانی که مصرف ونکومایسین و کلیندامایسین داشتند به ترتیب 1/6 و 3/1 برابر بیماران دیگر، مبتلا به عفونت ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. افرادی که در بیمارستان بستری نبودند ۲ برابر کمتر از کسانی که در بیمارستان بستری بودند، مبتلا به عفونت ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند.

جدول ۳. فاکتورهای خطر عوامل باکتریایی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت

فاکتورهای خطر	استافیلوکوکوس اورئوس (۴۵ ایزوله) درصد	OR (95%CI)	*P*
مصرف آنتی بیوتیک در یکسال گذشته	38 (84.44 %)	3.8(1.8-7.6)	<0/001
مصرف آنتی بیوتیک ونکومایسین	28 (62.22 %)	1.6 (1.001-2.6)	0/048
مصرف آنتی بیوتیک کلیندامایسین	10 (22.2 %)	3.1(1.4-6.6)	0/002
بستری دربیمارستان	7 (15.5 %)	1.4 (1.2-2.7)	<0/001
بستری بودن بیش از یک هفته	5 (11.11%)	-	<0/001

بررسی ژنوتیپی توزیع ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی

جهت تشخیص وجود ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی در میان جدایه‌های استافیلوکوکوس‌اورئوس از آزمون PCR استفاده گردید. نتایج حاصل از این آزمون در جدول ۴ نشان داده شده است. ژن‌های FOX30، CPT30، OFX5، OX1، P10 و TE30 در ۱۰۰٪ جدایه‌ها (۴۵ جدایه) وجود داشت که نشان دهنده توزیع بالای مقاومت در این سویه‌ها می‌باشد. کمترین میزان توزیع ژن مقاومت مربوط به ژن‌های F/M300 و C30 بود که توزیع به ترتیب ۱۷/۷۷ ٪ و ۲۰ درصدی را در بین ایزوله‌ها داشتند. سایر ژن‌های مقاومت نیز پراکنش ۲۰ تا ۹۸ درصدی مطابق با جدول ۴ داشتند.

تعیین تیپ‌های کاست کروموزومی‌ژن *mecA* (SCC*mec*)

در آزمایش تعیین تیپ‌های کاست کروموزومی‌ژن *mecA* (SCC*mec*) از تعداد 100 ایزوله مقاوم به متی سیلین (ایزوله‌های واجد ژن *mecA*)، تیپ V در درصد جدایه‌ها ردیابی شد. همچنین TypeIII و Typr IVa به ترتیب در ۲۶/۶۶٪ و ۱۷/۷۷٪ از ایزوله‌ها شناسایی شد. تیپ‌های ژنی TypeI، TypeII، Type IVb، Type IVc و Type IVd در هیچ یک از جدایه‌ها یافت نشد (جدول ۵).

جدول ٤. توزیع ژن‌های مقاوم به آنتی بیوتیک در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران

MPLE	AM10	AZM15	FOX30	CPT30	C30	CIP5	CLR15	CC2	D30	DT15	ENX10	E15	GM10	LEV5	MIN30	F/M300	OFX5	OX1	P10	RA5	SXT	TE30	TMP5	V30
1200	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
1211	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-
1222	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
1233	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
1244	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+
1255	+	+	+	+	-	-	+	+		-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-
1266	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+
1277	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1288	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-
1299	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+
1300	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+
1311	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
1322	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+
1333	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
2222	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
2227	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+

10	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
1845	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
1	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-
3	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
4	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
1466	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
1477	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-
1488	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
1499	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
1500	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+
1511	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-
1522	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+
1533	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1544	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-
1555	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+
1566	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+
1577	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
1588	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+
1599	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-

160	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
161	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
162	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
162	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
163	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
164	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-
165	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
166	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-

جدول ۵. تیپ‌های SCC*mec* ردیابی شده در ایزوله‌های مقاوم به متیسیلین استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران

Sample	TypeI	TypeII	TypeIII	Typr IVA	Type IVB	Type IVC	Type IVD	TYPe V
Positive	۰	۰	۱۲	۸	۰	۰	۰	۲۱
Negative	۴۵	۴۵	۳۳	۳۷	۴۵	۴۵	۴۵	۲۴

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* محدوده وسیعی از عفونت‌های انسانی را به خود اختصاص داده است و در میان عفونت‌های با فراوانی بالا در میان بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌های شهرکرد قرار دارد؛ به طوریکه در بیش از نیمی از بیماران مشاهده شد. عفونت‌های ناشی از این باکتری معمولا دشوار می‌باشد و درمان آن براساس تجویز داروهای آنتی بیوتیکی قوی می باشد (۲۲-۲۰). در مطالعه اسماعیلی و همکاران بیشترین عفونت باکتریایی تشخیص داده شده مربوط به بیماران پمفیگوس ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* بوده است. در سایر مطالعات هم بیشترین عفونت پوستی در این بیماران *استافیلوکوکوس اورئوس* گزارش شده است (۲۳و ۲۴). در مطالعه ی Kanwar نشان داده شد که یکی از علل کشته شدن 10 نفر از بیماران پمفیگوس سپسیس بوده که چهار مورد آن ناشی از باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بود (۲۵). در مطالعه ای که در سال 1393 در ایران روی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه‌های کلینیکی توسط هوایی و همکاران انجام شد، 46/9 درصد از ایزوله‌ها *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین بودند (۲۶). در

مطالعه شریعتی و همکاران روی *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه‌های بالینی درصد فراوانی MRSA 49 درصد گزارش گردید (۲۹-۲۷).

استافیلوکوکوس اورئوس در این مطالعه بیشترین مقاومت را نسبت به پنی سیلین داشت. مقاومت استافیلوکوک‌ها نسبت به پنی سیلین نیز به علت تولید آنزیم بتالاکتاماز در حال افزایش است و نشان میدهد پنیسیلین تاثیری در کنترل عفونت‌های ناشی از این ایزوله‌ها ندارد. همچنین، میزان بالایی از این مقاومت در مطالعات قبلی گزارش شده است (۳۰). این آنتی بیوتیک یکی از اولین آنتی بیوتیک‌های معرفی شده می باشد که تاثیری بر *استافیلوکوکوس اورئوس* ندارد (۳۱). پنیسیلین در کشورهای در حال توسعه دارای مصرف بالایی می باشد (۳۲). نتایج مطالعه Sina و همکاران در سال 2013 در آفریقا روی تنوع حساسیت آنتی بیوتیکی و تولید توکسین در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد که از 136 ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* همه ایزوله‌ها مقاوم به پنی سیلین G و ونکومایسین بوده و 25 درصد ایزوله‌ها به متی سیلین مقاوم بودند (۳۳). در مطالعه حاضر 95/5 درصد ایزوله‌ها (۴۳ ایزوله) مقاوم به پنیسیلین بودند، همه ایزوله‌ها (۱۰۰ درصد) به ونکومایسین مقاوم بودند و ۴۶/۶ درصد ایزوله‌ها به لینزولید حساس بودند. مقاومت به داپتومایسین (۹۵/۵ درصد) بود و میزان حساسیت حدواسط به این آنتی بیوتیک نسبت به سایر آنتی بیوتیک‌ها بیشتر بود.

از ۴۵ ایزوله MRSA در این مطالعه ۹۵/۵ درصد دارای مقاومت چندگانه به دارو بودند. نتایج مطالعه شریعتی و همکاران روی 70 سویه استافیلوکوکوس نشان داد که بیشترین مقاومت سویه‌های MRSA به آنتی بیوتیک پنی-سیلین (100 درصد)، تتراسایکلین (74/2 درصد)، اریترومایسین (68/5 درصد)، کوتریماکسازول (68/5 درصد)، و ریفامپین (11/4 درصد) می باشد (34). به طور کلی تفاوت در نتایج این مطالعات می‌تواند به دلیل اختلاف در منطقه جغرافیایی و نوع نمونه اخذ شده باشد. استافیلوکوک‌ها به دلیل استفاده ی بی رویه از آنتی بیوتیک ها، وجود توانایی بالا در تبادلات ژنتیکی و حضور انواع پلاسمیدهای مقاومتی به بسیاری از آنتی بیوتیک‌های رایج به درمان مقاومت نشان می دهند (۳۴-۲۸).

حضور ایزوله‌های MRSA در بیماران مبتلا به عفونت‌های پوستی ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* در بیمارستان افزایش احتمال خطر ایجاد عفونت‌های شدید ناشی از MRSA در بیماران بستری را مطرح می سازد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی به آنتی بیوتیک‌های رایج در درمان بالا بود. میزان حساسیت یا مقاومت ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به آنتی‌بیوتیک‌های رایج مصرفی در نقاط مختلف جغرافیایی جهان متفاوت است (۳۴) و تحت تاثیر الگوی مصرف آنتی بیوتیک‌ها در بیمارستان‌های مختلف می باشد (۳۴).

هدف اصلی از تحقیق حاضر تعیین تیپ‌های مختلف کاست کروموزومی‌ژن *mecA* بود که همان گونه که در جدول ۵ نشان داده شده است تنها ۳ تیپ Type V، TypeIII و Type IVa در ایزوله‌های *mec* مثبت استافیلوکوکوس اورئوس ردیابی گردید. عمده مطالعات انجام شده روی کاست‌های SCC*mec* مربوط به ایزوله‌های جدا شده از عفونت‌های مرتبط با انسان بوده است و شاید مطالعه حاضر یکی از اولین مطالعات انجام شده روی بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌های مختلف شهرکرد باشد. در مطالعه دی سوزا[1] و همکاران (2010) در Mumbai هند از میان 445 ایزوله *mec* مثبت استافیلوکوکوس اورئوس، SCC*mec* تیپ II در 46 ایزوله ،تیپ IV در 147 ایزوله و تیپ V در 172 ایزوله MRSA ردیابی شد و مشخص گردید که تمام سویه‌های SCC*mec* تیپ III، 64 درصد از سویه‌های مربوط به تیپ IV و 62 درصد از ایزوله‌های متعلق به تیپ V کاست کروموزومی‌ژن *mec* دارای مقاومت آنتی بیوتیکی چند گانه

[1] . Moussa

(MDR) هستند (۳۵). موسی3 و همکاران، غالبترین تیپ SCC*mec* را در ایزوله-های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیمارستان‌های عربستان صعودی، تیپ V (32/5 درصد) و متعاقب آن تیپ III (45/7 درصد) گزارش کردند (۳۶). در مطالعه ممتاز1 و همکاران (2014)، 52/42 درصد از ایزوله‌ها به متی سیلین مقاوم بودند و ارتباط آماری معنی داری بین ژن کدکننده مقاومت به متی‌سیلین با سایر ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی مشاهده شد (۳۷). ممتاز و حافظی (2013) در مطالعه دیگری از 77 ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی ،50/40 درصد واجد ژن *mecA* بودند. در این ایزوله ها، تیپ SCC*mecV* با فراوانی 52/54 درصد غالب‌ترین تیپ شناسایی شده بود (۳۸).

این مطالعه گزارش فراوانی عفونت ناشی از استافیلوکوکوس اروئوس در بیماران مبتلا به بیماری‌های مختلف در ایران می باشد. فراوانی عفونت استافیلوکوکوس اروئوس و *MRSA* در بیماران مبتلا بسیار بالا بود. ایزوله‌های استافیلوکوکوس اروئوس جداشده از بیماران علاوه بر اینکه مقاومت به پنیسیلین را نشان دادند، نسبت به آنتی بیوتیک‌های ونکومایسین، لینزولید و داپتومایسین نیز مقاوم بودند. بیش از 97 درصد ایزوله‌های استافیلوکوکوس اروئوس مقاوم به چند دارو بودند. و درصد فراوانی ایزوله‌های مقاوم به متی سیلین در این مطالعه بالا بود. به منظور جلوگیری از افزایش بروز مقاومت دارویی جهت درمان بیماران مبتلا به عفونت‌های استافیلوکوکوس شناسایی عوامل ایجاد کننده عفونت و تعیین الگوی حساسیت آنتی توصیه میشود.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر بخشی از پایان نامه دکتری رشته بیوتکنولوژی میکربی دانشگاه آزاد شهرکرد بوده و بدینوسیله از همکاری معاونت تحقیقات و فناوری این دانشگاه و از زحمات اساتید محترم و پرسنل محترم آزمایشگاه گروه میکروب شناسی، و نیز پرسنل محترم آزمایشگاه بیمارستان‌های شهرکرد صمیمانه تشکر و قدردانی می شود.

References

1. Njoungang LL, NwobegahayMbekem J, Ayangma RC, NjukengAchianga P, Kengne M, Mbozo'o Abeng E, Mama EA, Tchouamo M, Ter Goon D. Prevalence and antibiotic resistance patterns of strains of *Staphylococcus aureus* isolated at the Yaounde Military Hospital, Cameroon. Microbiol Res Int. 2015; 3(4): 56-63.
2. Niu H, Yee R, Cui P, Tian L, Zhang S, Shi W, Sullivan D, Zhu B, Zhang W, Zhang Y. Identification of Agents Activeagainst Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* USA300 from a Clinical Compound Library. Pathogens. 2017; 6(3): pii: E44.
3. National strategy for combating antibiotic resistant bacteria, 2014.
4. Fnac. Rémic. Référentiel en microbiologie médicale. 4eme édition. 2010.
5. Piri-Gharaghie T, Doosti A, Mirzaei SA. Identification of Antigenic Properties of Acinetobacter baumannii Proteins as Novel Putative Vaccine Candidates Using Reverse Vaccinology Approach. Applied Biochemistry and Biotechnology. 2022:1-23.
6. EUCAST. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations. 2014.
7. Piri-Gharaghie T, Jegargoshe-Shirin N, Saremi-Nouri S, Khademhosseini SH, Hoseinnezhad-Lazarjani E, Mousavi A, Kabiri H, Rajaei N, Riahi A, Farhadi-Biregani A, Fatehi-Ghahfarokhi S. Effects of Imipenem-containing Niosome nanoparticles against high prevalence methicillin-resistant Staphylococcus Epidermidis biofilm formed. *Sci rep*. 2022;12(1):1-3.

8. Piri-Gharaghie T, Beiranvand S, Riahi A, Shirin NJ, Badmasti F, Mirzaie A, Elahianfar Y, Ghahari S, Ghahari S, Pasban K, Hajrasouliha S. Fabrication and characterization of thymol-loaded chitosan nanogels: Improved antibacterial and anti-biofilm activities with negligible cytotoxicity. *Chem & Biodiversity*. 2022;19(3):e202100426.
9. Asiimwe BB, Baldan R, Trovato A, Cirillo DM. Molecular epidemiology of Panton-Valentine Leukocidin-positive community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates in pastoral communities of rural south western Uganda. BMC Infect Dis. 2017; 17(1): 17-24.
10. Akindolire AE, Tongo O, Dada-Adegbola H, Akinyinka O. Etiology of early onset septicemia among neonates at the University College Hospital, Ibadan, Nigeria. J Infect Dev Ctries. 2016; 10(12): 1338-1344.
11. Eshetie S, Tarekegn F, Moges F, Amsalu A, Birhan W, Huruy K. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Ethiopia: a meta-analysis. BMC Infect Dis. 2016; 16(1): 689.
12. Eibach D, Nagel M, Hogan B, Azuure C, Krumkamp R, Dekker D, Gajdiss M, Brunke M, Sarpong N, Owusu-Dabo E, May J. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* among Children in the Ashanti Region of Ghana. PLoS One. 2017; 12(1): e0170320.
13. Leibler JH, León C, Cardoso LJP, Morris JC, Miller NS, Nguyen DD, Gaeta JM. Prevalence and risk factors for MRSA nasal colonization among persons experiencing homelessness in Boston, MA. J Med Microbiol. 2017; 66(8): 1183-1188.
14. Ravensbergen SJ, Berends M, Stienstra Y, Ott A.High prevalence of MRSA and ESBL among asylum seekers in the Netherlands. PLoS One. 2017; 12(4): e0176481.
15. Catry *et al*. Risk Factors for Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*: a multi-laboratory study. PLOS ONE. 2014; 9(2): e89579.
16. Karimi M, Esfahani BN, Halaji M, Mobasherizadeh S, Shahin M, Havaei SR, Shokri D, Havaei SA. Molecular characteristics and antibiotic resistance pattern of *Staphylococcus aureus* nasal carriage in tertiary care hospitals of Isfahan, Iran. Infez Med. 2017; 25(3): 234-240.
17. Bottega A, Rodrigues Mde A, Carvalho FA, Wagner TF, Leal IA, Santos SO, Rampelotto RF, Hörner R. Evaluation of constitutive and inducible resistance to clindamycin in clinical samples of *Staphylococcus aureus* from a tertiary hospital. Rev Soc Bras Med Trop. 2014; 47(5): 589-592.
18. Brown PD. Multiple-locus VNTR Analyses of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from Jamaica. Infect Dis (Auckl). 2015; 8: 31-38.
19. Navidinia M. Detection of inducible clindamycin resistance (MLSBi) among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from health care providers. J Paramedical Sci. 2015; 6(1): 91-96.
20. Hertl M, Eming R. Autoimmune skin disorders, pemphigus. Autoimmune Diseases of the Skin *(Pathogenesis, Diagnosis, Management).* 2011; 33-63.
21. Atkinson TP. Immune deficiency and autoimmunity. *Curr Opin Rheumatol* 2012; 24(5): 515-21.
22. Belgnaoui FZ, Senouci K, Chraibi H, Aoussar A, Mansouri F, Benzekri L, et al. Predisposition to infection in patients with pemphigus. Retrospective study of 141 cases. *Presse Med* 2007; 36(11 Pt 1):1563-9.
23. Esmaili N, Mortazavi H, Noormohammadpour P, Boreiri M, Soori T, Vasheghani Farahani I, et al. Pemphigus vulgaris and infections: a retrospective study on 155 patients. *Autoimmune Dis* 2013; 2013.
24. Chmurova N, Svecova D. Pemphigus vulgaris: a 11-year review. *Bratisl Lek Listy* 2009; 110(8): 500-3. Kanwar AJ, Dhar S. Factors responsible for death in patients with pemphigus. *J Dermatol* 1994; 21(9): 655-9.

25. Havaei SA, Ahmadpour M, Poursina F, Ruzbahani M, Assadbeigi B. The prevalence of panton-valentine leukocidin gene in *Staphylococcus aureus* isolated from alzahra hospital Isfahan. *Iran J Isfahan Med Sch* 2015; 32(31): 219-9. [in Persian]
26. Shariati L, Validi M, Tabatabaiefar MA, Karimi A, Nafisi MR. Comparison of real-time PCR with disk diffusion, agar screen and E-test methods for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus. Curr Microbiol* 2010; 61(6): 520-4.
27. Motamedi H, Rahmat Abadi SS, Moosavian SM, Torabi M. The Association of Panton- Valentine leukocidin and mecA Genes in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates From Patients Referred to Educational Hospitals in Ahvaz, Iran. *Jundishapur J Microbiol* 2015; 8(8): e22021.
28. Darabi N, Habibollahi H, Shahbabian K. Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* Isolated from patients and personnel in Army hospital. *J Army Univ Med Sci I R Iran* 2010; 8(3): 193-9. [in Persian]
29. Denton M, O'Connell B, Bernard P, Jarlier V, Williams Z, Henriksen AS. The EPISA study: antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* causing primary or secondary skin and soft tissue infections in the community in France, the UK and Ireland. *J Antimicrobial Chemotherapy* 2008; 61(3): 586-8.
30. Elazhari M, Saile R, Dersi N, Timinouni M, Elmalki A, Zriouil SB, et al. Activité de 16 Antibiotiques vis-à-vis des *Staphylococcus aureus* communautaires à Casablanca (Maroc) et Prévalence des Souches Résistantes à la Méthicilline. *Eur J Sci Res* 2009; 30: 128-37.
31. Cohen ML. Epidemiology of drug resistance: implications for a post—*antimicrobial era. Science* 1992; 257(5073): 1050-5.
32. Sina H, Ahoyo TA, Moussaoui W, Keller D, Bankolé HS, Barogui Y, et al. Variability of antibiotic susceptibility and toxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from skin, soft tissue, and bone related infections. *BMC Microbiol* 2013; 13(1): 188.
33. Shariati L, Validi M, Tabatabaiefar MA, Karimi A, Nafisi MR. Comparison of real-time PCR with disk diffusion, agar screen and E-test methods for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Curr Microbiol* 2010; 61(6): 520-4.
34. Schneider-Lindner V, Delaney J, Dial S, Dascal A, Suissa S. Antimicrobial drugs and community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, United Kingdom. *Emerg Infect Dis* 2007; 13(7): 99.
35. D'Souza, N., Rodrigues, C., and Mehta, A. Molecular characterization of methicillinresistant *Staphylococcus aureus* with emergence of epidemic clones of sequence type (ST) 22 and ST 772 in Mumbai, India. J Clin Microbiol. 2010;48:1806-1811.
36. Moussa, I., Kabli, S.A., Hemeg, H.A., Al- Garni, S.M., and Shibl, A.M. 2012. A novel multiplex PCR for molecular characterization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* recovered from Jeddah, Kingdom of Saudi Arabia. Indian J Med Microbiol. 30: 296-301 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2015. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard M02-A12. 12th ed., NCCLS, Villanova.
37. Momtaz, H., and Hafezi, L. 2014. Meticillinresistant *Staphylococcus aureus* isolated from Iranian hospitals: virulence factors and antibiotic resistance properties. Bosn J Basic Med Sci. 2014; 14: 219-226.
38. Momtaz, H., Safarpoor Dehkordi, F., Rahimi, E., Asgarifar, A., and Momeni, M. Virulence genes and antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat in Isfahan province, Iran. J Appl Poult Res. 2013; 22: 913-921

Original Article

Genotypic study of resistant *Staphylococcus aureus* strains To methicillin isolated from patients in Shahrekord

Received: 20/04/2022 - Accepted: 30/07/2022

Sameh Hajimohammadi[1]
Hassan Momtaz [2*]
Elahe Tajbakhsh [3]

[1] PhD student in Microbial Biotechnology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
[2] Professor, Department of Microbiology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
[3] Associate Professor, Department of Microbiology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Email: hamomtaz@yahoo.com

Abstract

Introduction: *Staphylococcus aureus* are the most common cause of infection in hospital. This study was performed to determine the frequency of *Staphylococcus aureus* isolated from patients' infections and to determine the pattern of antibiotic susceptibility in patients referred to Shahrekord hospitals.

Materials and Methods: This descriptive cross-sectional study was performed on 166 patients with infections referred to Shahrekord hospitals during 1400. Sterile swabs were used to collect samples of infections. Isolation of *Staphylococcus aureus* was confirmed using biochemical tests such as gram staining, catalase, coagulase, mannitol DNase tests and glucose fermentation. Antibiotic susceptibility model was performed by disk diffusion method based on CLSI model. Isolated isolates were analyzed by PCR for the presence of mecA target gene and confirmation of SCCmec typing.

Results: 45 patients (27.10%) out of 166 patients had a positive culture of *Staphylococcus aureus*. In this study, no significant difference was observed between age and sex (P> 0.05). 40 isolates of *Staphylococcus aureus* (88.8%) were resistant to oxacillin and 36 isolates (80%) were resistant to cefoxitin and 45 isolates (100%) were phenotypically MRSA. These isolates were by molecular method (presence of mecA gene carrying Molecular method (PCR) was confirmed.100% of patients with *Staphylococcus aureus* infection were methicillin resistant and 95.5% were MDR. Patients who had taken antibiotics in the past year had twice as many infections as *Staphylococcus aureus*. Of 100 methicillin-resistant isolates (isolates containing mecA gene), type V was detected in 53.33% of isolates. Also, TypeIII and Typr IVa were detected in 26.66% and 17.77% of isolates, respectively.

Conclusion: More than half of the staphylococcal infections in this study were caused by *Staphylococcus aureus* and more than 48% of the isolates were resistant to methicillin. The highest resistance to penicillin was observed. The high prevalence of *Staphylococcus aureus* is a serious danger to society.

Keywords: *Staphylococcus aureus,* Genotyping, Resistance genes
Acknowledgement: There is no conflict of interest