مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۳، شماره ۴، تیر ۱۳۹۴
صفحه: ۲۱۰۸-۲۰۹۶

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 23, No.4, Jun-Jul 2015
Pages: 2096-2108

بررسی فراوانی سویه‌های استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از بیمارستان محب و میلاد به روش فنوتیپی و مولکولی

زهرا گماریان[*۱]، محمدحسن شاه حسینی[۲]، منصور بیات[۳]، محمد امین محمودی[۴]، تمنا نفریه[۵]، محمد رهبر[۶]

چکیده

مقدمه: استافیلوکوک اورئوس دومین علت شایع عفونت‌های بیمارستانی از عوامل مهم عفونت‌های شدید جامعه می‌باشد. سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین این باکتری یک پاتوژن مهم و عمده در ایجاد بیماری و مرگ و میر در ایران و جهان می‌باشد، از این رو به دلیل شیوع مقاومت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمان آن مشکل است. بنابراین سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین باید به دقت و سرعت شناسایی شوند. در این تحقیق شناسایی مقاومت به متی‌سیلین با روش دیسک دیفیوژن و PCR برای ژن mecA بررسی شد.

روش بررسی: مطالعه روی ۱۰۰ سویه استافیلوکوک اورئوس از نمونه‌های بالینی مختلف جمع‌آوری شده از بیمارستان‌های محب و میلاد تهران انجام گرفت. حساسیت آنتی‌بیوتیک با روش دیسک دیفیوژن تعیین شد. همچنین وجود ژن عامل مقاومت (mecA) با روش PCR و آغازگر اختصاصی بررسی و نتایج مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج: ۵۰٪ (۵۰ نفر) سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین با روش دیسک دیفیوژن و ۷۴٪ (۷۴ نفر) دارای ژن mecA با روش PCR بودند. از این ۱۰۰ نمونه، ۶۱ نمونه متعلق به بیمارستان محب بودند که ۴۷/۵۴٪ (۲۹ نفر) با روش دیسک دیفیوژن و ۶۰/۶۵٪ (۳۷ نفر) با PCR به متی‌سیلین مقاوم بوده و از ۳۹ نمونه دیگر متعلق به بیمارستان میلاد که از این تعداد ۵۳/۸۴٪(۲۱ نفر) با روش دیسک دیفیوژن و ۹۴/۸۷٪ (۳۷ نفر) با PCR مقاومت به متی‌سیلین را نشان دادند.

نتیجه‌گیری: با توجه به شیوع مقاومت به متی‌سیلین نیاز به یک روش شناسایی دقیق و سریع برای MRSA می‌باشد. با توجه به ارائه نتایج منفی کاذب، نسبتاً زیاد و وقت‌گیر بودن روش دیسک دیفیوژن، روش PCR بهترین روش برای شناسایی سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: مقاومت به متی‌سیلین، استافیلوکوک اورئوس، تشخیص مولکولی

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران
۲- دانشیار گروه بیوتکنولوژی، موسسه ایران ژن فن آور (IGF)، واحد شهر قدس، دانشگاه ازاد اسلامی، تهران، ایران
۳- دکترای تخصصی قارچ شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران
۵،۴- کارشناس ارشد میکروبیلوژی، موسسه ایرانیان ژن فن آور (IGF)، تهران، ایران
۶- دکترای تخصصی میکروبیولوژی، آزمایشگاه مرجع سلامت وزارت بهداشت و درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۲۱-۴۴۸۴۴۹۴۶، پست الکترونیکی: derakhshande.saeid@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۱۴

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

مقدمه

استافیلوکوک اورئوس باکتری گرم مثبتی است که در پوست کلونیزه می شود و در حدود ۲۵٪ تا ۳۰٪ افراد سالم حامل این ارگانیسم می‌باشند. استافیلوکوک اورئوس در طی چند دهه گذشته مبدل به شایع‌ترین عامل عفونت‌های بیمارستانی شده است(۱،۲). یکی از عوامل موفقیت این باکتری، کسب فاکتورهای مقاومت می‌باشد. بدین صورت که با ورود هر آنتی‌بیوتیک جدید، سویه‌های مقاوم باکتری، به سرعت ظهور یافته‌اند و درمان عفونت‌های حاصل از این باکتری را با دشواری مواجه کرده‌اند. به عنوان مثال با ورود پنی‌سیلین به بازار و استفاده از این دارو در درمان بیماران بستری، به سرعت سویه‌های مقاوم به پنی‌سیلین ظاهر گشتند(۱،۳). سپس در درمان عفونت‌های بیمارستانی ناشی از استافیلوکوک اورئوس از متی‌سیلین استفاده شد که متأسفانه با ظهور سریع سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین، این نوع آنتی‌بیوتیک نیز کارایی خود را از دست داده است(۵-۳). برای درمان استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین MRSA: Methicillin-resistant Staphylococcus aureus از آنتی‌بیوتیک دیگری به نام وانکومایسین استفاده می‌شود. همچنین از آنتی‌بیوتیک جدیدی به نام لینزولید نیز برای درمان MRSA استفاده شده است.

آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلوکوزیدی مانند جنتامایسین، استرپتومایسین و کانامایسین زمانی به خوبی علیه استافیلوکوک‌ها جواب می‌دادند اما استافیلوکوک به مرور زمان به این آنتی‌بیوتیک‌ها نیز مقاوم شد. این آنتی‌بیوتیک‌ها با اتصال به زیر واحد S۳۰ ریبوزومی منجر به مرگ باکتری می‌شوند(۶). بنابراین، برای مقابله با سویه‌های این باکتری، مطالعات اپیدمیولوژیک و درک نحوه انتشار و گسترش این باکتری مهم به نظر می‌رسد. استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین یکی از علل عمده عفونت‌های بیمارستانی معرفی شده است. طبق گزارش‌ها، بیمارانی که با MRSA عفونت پیدا می‌کنند، نسبت به آنهایی که با استافیلوکوک MSSA: Methicillin Sensitive Staphylococcus aureus عفونی می‌شوند، مدت طولانی‌تری در بیمارستان بستری می‌شوند، بنابراین علاوه بر هزینه درمان بیشتر، پیشرفت عفونت به باکتری یا آندوکاردیت بیشتر اتفاق می‌افتد، عوارضی نظیر نارسایی کلیوی نیز در بین بیماران عفونی با MRSA بیش از بیماران عفونی با MSSA است و حتی میزان مرگ و میر در بین بیماران MRSA به طور معنی‌داری بیش از بیماران MSSA است. تشخیص به موقع و جداسازی این بیماران می‌تواند از پخش سویه‌های MRSA در محیط بیمارستان و کادر پزشکی جلوگیری به عمل آورد.

درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک به خصوص استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) در سراسر جهان و ایران تبدیل به یک مشکل در تنظیمات بیمارستان و جامعه شده است و این در صورتی است که عفونت استافیلوکوک اورئوس در سراسر جهان در حال افزایش است. فراوانی سویه‌های MRSA در کشورهای آسیایی نظیر چین، کره و تایوان بیش از ۷۰٪، در آمریکای شمالی بیش از۵۰٪، در اروپا ۲۰٪ و در ایران حدود ۵۰٪ می‌باشد(۷).

بیش از ۲۰٪ ایزوله بالینی استافیلوکوک اورئوس در بیمارستان‌های آلمان به متی‌سیلین مقاوم‌اند، در کشورهای اسکاندیناوی و هلند با یک برنامه پیشگری‌کننده دقیق شیوع MRSA در یک سطح پایین قابل قبول (کمتر از ۱-۳٪) نگهداری می‌شود. همچنین از آنجا که استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین MRSA پاتوژن مکرر در (VAP: Ventilator Associated Pneumonia) می‌باشد شناسایی سریع آن اهمیت دارد، زیرا میزان مرگ و میر در حدود ۳۳٪ تا ۵۰٪ می‌باشد و بیشتر بیماران مبتلا به پنومونی تحت درمان با آنتی‌بیوتیک‌های وسیع الطیف اند و این درمان باعث افزایش هزینه بیمارستان و شیوع گونه های مقاوم می‌شود، برای به حداقل رساندن خطر مرگ و میر، به پزشکان توصیه می‌شود از آنتی‌بیوتیک مناسب استفاده کنند. نظارت عفونت بیمارستانی از سال ۲۰۰۳ میلادی مورد توجه قرار گرفت که استافیلوکوک اورئوس به عنوان شایع‌ترین پاتوژن مرتبط با VAP ۲۷/۸٪ در ایالات متحده آمریکا مطرح شد(۸). به همین دلیل تشخیص سریع و دقیق سویه‌های مقاوم به منزله یک هدف مهم میکروب شناسی بالینی می‌باشد، از آنجا که نتایج حاصل از یک کشت میکروبی فوراً

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

در دسترس قرار نمی‌گیرد درمان تجربی آنتی‌بیوتیکی می‌تواند منجر به درمان ناکافی شود، بنابراین روش‌های مبتنی بر تشخیص مولکولی مانند PCR تبدیل به یک ابزار ضروری برای تشخیص در آزمایشگاه‌ها شده است. مقاومت به متی‌سیلین از طرق ژن mecA که پروتئین متصل شونده به پنی‌سیلین (PBP2a) را کد می‌کند، ایجاد می‌شود و افتراق بین استافیلوکوک اورئوس حساس متی‌سیلین MSSA و مقاوم به متی‌سیلین MRSA با بررسی عدم وجود یا وجود ژن mecA با تکنیک PCR مشخص می‌شود. همچنین گزارش شده است که سرعت تشخیص حامل MRSA نقش مهمی را در جلوگیری از گسترش پاتوژن ایفا می‌کند زیرا کشت MRSA ۳-۲ روز به طول می‌انجامد اما استفاده از روش‌های تشخیص سریع PCR منجر به کوتاه شدن زمان تشخیص به ۵-۲ ساعت می‌شود(۹).

روش بررسی

این پژوهش از نوع توصیفی در سال ۱۳۹۲ بر روی ۱۰۰ ایزوله استافیلوکوک اورئوس که از دو بیمارستان میلاد و محب تهران، پس از توضیح طرح و اخذ رضایت شفاهی بیماران توسط رزیدنت عفونی پرسشنامه‌ای تکمیل شد و سپس نمونه‌برداری از زخم، کاتتر، ترشحات ریه، خون، مایع پلور، مایع کمر، مایع سینوویال و ادرار از بین بیماران بستری و سرپایی انجام شد.

با توجه به اینکه نمونه‌ها برای بیماران در بخش‌های مختلف بوده و به علت عدم اطلاع از نوع باکتری کلیه نمونه‌ها در پلیت‌های حاوی محیط‌های بلاد آگار، ائوزین متیلن بلو و لوله تایوگلیکولات(پرونادیسا)کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. پس از کشت نمونه‌ها در لوله تایو و محیط‌های کشت بلاد آگار، EMB نمونه‌ای که در محیط کشت بلاد آگار رشد کرده به عنوان گرم مثبت در نظر گرفته شد و پس از انجام تست کاتالاز و مثبت شدن این تست استافیلوکوک‌ها تشخیص داده شدند.

پس از تشخیص استافیلوکوک‌ها با انجام تست کواگولاز (Mast) و مانیتول(Merk)، استافیلوکوک اورئوس تشخیص داده شد که با ایجاد لخته در لوله مربوط به تست کواگولاز و تغییر رنگ لوله تست مانیتول از قرمز به رنگ زرد، استافیلوکوک اورئوس از سایر استافیلوکوک‌ها متمایز شد.

در صورتی که تست کواگولاز منفی می‌شد اما شک به استافیلوکوک اورئوس بود از تست DNase (Merk) استفاده می‌شد که با مشاهده هاله شفاف دور کلنی پس از ریختن، اسیدکلریدریک نرمال استافیلوکوک اورئوس تشخیص داده می‌شد.

با شناسایی استافیلوکوک اورئوس‌ها برای تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن با تهیه سوسپانسیون میکروبی با غلظت ۰/۵ مک فارلند (بهارافشان- ایران) بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار(Merk)، کشت داده و دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی ونکومایسین (Va)، جنتامایسین (GM)، اگزاسیلین (Ox)، سفوکسیتین (FOX)، ریفامپیسین (Rf)، کربنی سیلین (Ca)، سفتازیدیم (CAZ)، پیپراسیلین (PiP)، سیپروفلوکساسین (CP)، سفتریاکسون (CRO)، تیکوپلامین (TEC)، ایمی پنم (Imp)، سفوتاکسیم (CTM)، تی کارسیلین (TC)، آمیکاسین (AN)، کوتریموکسازول (SXT)، تتراسایکلین (T)، کلیندامایسین (CD)، در بیمارستان محب تهران با مارک مست (Mast) و دیسک‌های اگزاسیلین (Ox)، اریترومایسین (E)، کلرامفنیکل (C)، کیلینداماسین (CD)، ریفامپیسین (RF)، آزیترومایسین (AZ)، آمپیسیلین (AM)، نورفلوکساسین (NOR)، پنی‌سیلین (P)، نیتروفانتوئین (FM)، سیپروفلوکساسین (CP)، سفتریاکسون (CRO) در بیمارستان میلاد تهران با مارک‌های اسپین (Spin) و روسکو (Rosco) بر روی محیط کشت قرار داده و پلیت را در حرارت ۳۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد و با بررسی هاله عدم رشد، با توجه به جدول (NCCLS) استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین تشخیص داده شد. نمونه‌هایی که به آنتی‌بیوتیک‌های اگزاسیلین و یا سفوکسیتین مقاومت نشان می‌دادند به عنوان استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین تشخیص داده شدند. البته لازم به ذکر است که برای تمام نمونه‌های بیمارستان محب از هر دو دیسک اگزاسیلین و سفوکسیتین یا فقط سفوکسیتین استفاده شده است و برای بیمارستان میلاد تهران فقط دیسک اگزاسیلین استفاده شده است.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

در تحقیق حاضر استخراج DNA از نمونه‌های کشت داده شده در محیط کشت مولر هینتون آگار، توسط کیت DNP (DNG Plus) (ایرانیان ژن فناور- ایران) به طور دقیق و با زمان کوتاهی انجام گرفت. بررسی حساسیت آزمون گذاشته شده با DNA استخراجی با این کیت نشان‌دهنده میزان بالای DNA به دست آمده از نمونه‌های مقاوم به متی‌سیلین گرفته شده از دو بیمارستان میلاد و محب تهران می‌باشد که به عنوان کنترل مثبت مورد استفاده قرار می‌گرفت.

یک الی دو انس از نمونه مورد نظر کشت داده شده در محیط مولر هینتون آگار را داخل اپندورف ۱/۵ سی‌سی ریخته و به آن ۱۰۰ میکرولیتر DDW اضافه شد و پس از یک اسپین کوتاه به آن ۴۰۰ میکرولیتر DNG اضافه گردید و سپس ورتکس کرده و حدود یک دقیقه به آنها زمان داده شد و بعد داخل میکروفیوژ ۳۵۰ میکرولیتر ایزوپروپانول(باید سرد باشد زیرا واکنش قبلی گرماده است و باید ایزوپروپانول سرد باشد) اضافه نموده، سپس ۱۰ بار انورت شد و داخل سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت و محلول رویی را دکنته کرده و با دستمال خشک گردید و به رسوب موجود در میکروفیوژ ۱۰۰ میکرولیتر الکل ۷۰٪ اضافه و ۱۵ بار اینورت شد و داخل سانتریفیوژ بار دور ۱۲۰۰۰rpm به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت، دوباره محلول رویی را دکانته کرده و داخل هیتر بالک قرار داده تا بوی الکل بپرد، سپس DNA را ۱۰۰ میکرولیتر DDW حل کرده تا بتوان DNA را برای مدتی نگهداری کرد.

اگر رسوب (DNA) دارای ناخالصی بود آن را پس از ریختن DDW داخل سانتیرفیوژ با دور ۱۰۰۰۰rpm قرار داده و مایع رویی را برداشته و DNA استخراج شده را در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

از آزمایش PCR به عنوان روش استاندارد طلائی در ردیابی ژن mecA در DNA استخراج شده از نمونه‌ها استفاده گردیده است. پرایمرهای استفاده شده برای تکثیر ژن mecA شامل یک جفت پرایمر اختصاصی می‌باشد(جدول ۱).

طول قطعه حاصل از فعالیت این پرایمر ۳۲۰bp بود.

واکنش PCR شامل مواد و فاکتورهای ذکر شده در جدول ۲ می‌باشد که در دستگاه ترموسایکلر Majer Science انجام شد.

جدول ۱: سکانس پرایمرهای مورد استفاده جهت تکثیر ژن mecA در استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین(۱۰)

PF	MecA1 (5′-GAT GAA ATG ACT GAA CGT CCG ATA A-3′)
PR	MecA2(5′-CCA ATT CCA CAT TGT TTC GGT CAT A-3′)

جدول ۲: مواد و فاکتورهای PCR

حجم(غلظت)	مواد
۲/۵ µL	10x PCP Buffer
۰/۵ µL (۰/۲ µm)	Primer Forward
۰/۵ µL (۰/۲ µm)	Primer Revers
۰/۷۵ µL (۱/۵ mm)	Mgcl2 (50mm)
۰/۵ µL (۰/۲ mm)	dNTp Mix(10mm)
۰/۳ µL (۱/۵ unit)	Taq DNA Polymerase
۵ µL	DNA Template or POS. Control
۱۵ µL	D.D.W
۲۵ µL	Total Volum

سیکل حرارتی برای انجام آزمایش PCR شامل ۳۵ سیکل ۵ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد (Perimeri denaturation) ۶۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد (denaturation)، ۶۰ ثانیه در ۵۰ درجه سانتی‌گراد جهت اتصال پرایمر (annealing)، ۱۲۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای تکثیر قطعه هدف (extension) و ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای (Final extension) بود. پس

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

از انجام آزمایش PCR محصول PCR بر روی ژل ۱/۵٪ دستگاه الکتروفورز و در دستگاه ترانس لومیناتور تحت نور UV بررسی گردید. در این آزمایشات جهت اندازه‌گیری قطعات ژن حاصل از PCR در روی ژل از سایز مارکرهای(DNA Ladder (Frmantas 1kb و(Middl Range DNA Ladder (SM1118 استفاده شد

نتایج

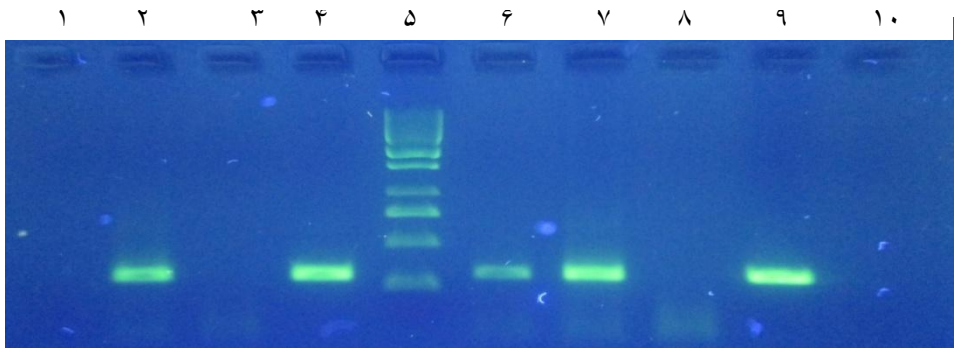
در این تحقیق روش PCR به عنوان روش استاندار طلایی در نظر گرفته شد و روش دیسک دیفیوژن با PCR مقایسه شد. اما تطابق میان نتایج تست PCR و دیسک دیفیوژن وجود نداشت، از ۱۰۰ نمونه گرفته شده از دو بیمارستان میلاد و محب تهران، ۵۰ نمونه تحت عنوان MRSA و ۵۰ نمونه تحت عنوان MSSA با روش دیسک دیفیوژن گزارش شده بودند. پس از اجرای روش PCR بر روی نمونه‌های مذکور نتایج زیر حاصل شد.از میان۵۰ نمونه MRSA گرفته شده از دو بیمارستان ۲۹ نمونه متعلق به بیمارستان محب می‌باشد که در واقع این ۲۹ استافیلوکوک اورئوس با تست آنتی‌بیوگرام نسبت به متی‌سیلن مقاوم گزارش شدند که این مقاومت نسبت به هر دو آنتی‌بیوتیک، اگزاسیلین و سفوکسیتین یا فقط نسبت به سفوکسیتین بوده است به غیر از دو نمونه که مقاوم‌تشان تنها با آنتی‌بیوتیک اگزاسیلین سنجیده شده است، اما پس از انجام تست PCR برای نمونه‌ها ۲۸ نمونه ۹۶/۵۵٪ مثبت گزارش شدند و تنها یک نمونه۳/۴۴٪ منفی یعنی حساس به متی‌سیلن تشخیص داده شد که این نمونه در روش دیسک دیفیوژن با هر دو آنتی‌بیوتیک اگزاسیلین و سفوکسیتین توسط بیمارستان مقاوم گزارش شده بود.

همچنین از ۲۱ نمونه دیگر متعلق به بیمارستان میلاد تهران با انجام تست دیسک دیفیوژن MRSA گزارش شدند، مقاومت این نمونه‌ها تنها با آنتی‌بیوتیک اگزاسیلین سنجیده شده بود و با انجام تست PCR این نتایج تأیید شدند و (۱۰۰٪) ۲۱ نمونه مقاومت به متی‌سیلین را نشان دادند.

از میان ۵۰ نمونه MSSA ۳۲ نمونه متعلق به بیمارستان محب تهران که با تست آنتی‌بیوگرام MSSA گزارش شدند، اما نتیجه تست PCR با روش دیسک دیفیوژن مطابقت نداشت و ۹ نمونه ۲۸/۱۲٪ مقاوم به متی‌سیلین MRSA که تمامی این نمونه‌ها در روش دیسک دیفیوژن نسبت به دیسک سفوکسیتین حساس بودند و ۲۳ نمونه ۷۱/۸۷٪ حساس به متی‌سیلین تشخیص داده شدند. لازم به ذکر است در نمونه‌های ذکر شده برای تعیین مقاومت از دیسک اگزاسیلن استفاده نشده است.

۱۸ نمونه دیگر متعلق به بیمارستان میلاد تهران که توسط روش دیسک دیفیوژن با دیسک آنتی‌بیوتیک اگزاسیلین حساس به متی‌سیلین گزارش شدند اما با روش مولکولی PCR، ۱۶ نمونه ۸۸/۸۸٪ عکس نتایج تست آنتی‌بیوگرام را نشان دادند و مقاوم به متی‌سیلین تشخیص داده شدند و تنها ۲ نمونه (۱۱/۱۱٪) حساس به متی‌سیلین مشابه تست دیسک آنتی‌بیوتیک تشخیص داده شدند.

به طورکلی می‌توان نتیجه گرفت از ۱۰۰ نمونه مورد مطالعه، ۷۴ نمونه با روش PCR مقاوم گزارش شدند در حالی که با روش دیسک دیفیوژن ۵۰ نمونه نسبت به متی‌سیلین مقاوم گزارش شدند. نتایج روش دیسک دیفیوژن در حالی است که نتایج حاصل از روش PCR (باندهای به دست آمده) به صورت واضح بیانگر MRSA بودن یا نبودن نمونه‌ها می‌باشد و جای هیچگونه ابهامی در نتایج تست PCR را نمی‌گذارد(تصویر ۱).



تصویر ۱: نتایج PCR مربوط به برخی از نمونه‌ها ۱.۳.۱۰ نمونه‌های منفی ۲.۶.۷.۹ نمونه‌های مثبت ۴کنترل مثبت ۵ (DNA Ladder (Frmantas 1kb ۸ کنترل منفی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

با توجه به اینکه نمونه‌های مورد استفاده در این تحقیق متعلق به بیماران مراجعه‌کننده به دو بیمارستان ذکر شده است برای این بیماران با توجه به نوع بیماری و درخواست پزشک الگو مقاومت این نمونه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های دیگر هم سنجیده شده و با توجه به این که MRSA باعث مقاومت به طیف وسیع‌تری از آنتی‌بیوتیک‌های دیگر نیز می‌شود، نتایج الگوی مقاومت و حساسیت سایر آنتی‌بیوتیک‌های بررسی شده در بیماران نیز مورد توجه قرار گرفت که در این مطالعه استافیلوکوک اورئوس علاوه بر مقاومت به متی‌سیلین که با دیسک‌های اگزاسیلین و سفوکسیتین سنجیده شد، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، ریفامپیسین، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، ایمی پنم، اریترومایسین، کلیندامایسین نیز مقاومت نشان داد که این الگوی مقاومت در MSSA کمتر مشاهده شده است(جداول ۳ و ۴).

جدول ۳: الگوی آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از بیمارستان محب و میلاد به روش دیسک دیفیوژن

آنتی بیوتیک	حساس	مقاوم	کل
ونکومایسین	۵۰	۰	۵۰
سفوکسیتین	-	۲۷	۵۰
اگزاسیلین	-	۳۲	۵۰
جنتامایسن	۶	۲۱	۵۰
ریفامپیسین	۱۰	۲۵	۵۰
کربنی سیلین	۳	۱۶	۵۰
سفتازیدیم	-	۲۸	۵۰
پیپراسیلین	-	۱۸	۵۰
سیپروفلوکساسین	-	۳۸	۵۰
سفتریاکسون	-	۱۷	۵۰
تیکوپلامین	۲۱	۱	۵۰
ایمی پنم	۱	۲۳	۵۰
سفوتاکسیم	-	۱۸	۵۰
تی کارسیلین	۳	۱۸	۵۰
کوتریموکسازول	۴	۲	۵۰
کیلیندامایسین	۱	۱۷	۵۰
کلرامفنیکل	۱۸	۲	۵۰
آمپی سیلین	-	۶	۵۰
اریترومایسین	۲	۱۹	۵۰
پنی سیلین	-	۲۰	۵۰
نورفلوکساسین	-	۳	۵۰
آزیترومایسین	۲	۱۴	۵۰

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

جدول ۴: الگوی آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از بیمارستان میلاد و محب به روش PCR

آنتی بیوتیک	حساس	مقاوم	کل
ونکومایسین	۷۴	۰	۷۴
اگزاسیلین	۱۶	۳۱	۷۴
سفوکسیتین	۸	۴۳	۷۴
جنتامایسین	۱۵	۲۲	۷۴
ریفامپیسین	۳۲	۲۷	۷۴
کربنی سیلین	۱۰	۱۳	۷۴
سفتازیدیم	۹	۲۸	۷۴
پیپراسیلین	۶	۲۰	۷۴
سیپروفلوکساسین	۱۸	۴۸	۷۴
سفتریاکسون	۷	۱۷	۷۴
تیکوپلامین	۲۹	۱	۷۴
ایمی پنم	۶	۲۱	۷۴
سفوتاکسیم	۴	۱۹	۷۴
تی کارسیلین	۶	۱۹	۷۴
آمیکاسین	۷	۳	۷۴
تتراسایکلین	۰	۲	۷۴
کوتریموکسازول	۱۰	۴	۷۴
کلیندامایسین	۱	۶	۷۴
اریترومایسین	۱۳	۲۱	۷۴
کلرامفنیکل	۳۲	۲	۷۴
کیلینداماسین	۱۳	۲۰	۷۴
آزیترومایسین	۱۱	۱۸	۷۴
پنی سیلین	۳۴	۲	۷۴
آمپی سیلین	۰	۱۱	۷۴
نورفلوکساین	۵	۶	۷۴
نیتروفورانتوئین	۲	۱	۷۴

بحث

نتایج بررسی‌ها حاکی از آن است که سویه MRSA از ۱۴/۳٪ در سال ۱۹۸۷ میلادی به ۳۹/۷٪ در سال ۱۹۹۷ میلادی افزایش پیدا کرده است(۱۱). همچنین طی ۴۰ سال گذشته، عفونت‌های MRSA در بیمارستان‌های کشورهای توسعه یافته نظیر ایالات متحده و اروپا و نیز کشورهای در حال توسعه به صورت آندمیک در آمده‌اند(۱۲). در ایالات متحده،

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

سالیانه از هر دو میلیون عفونت بیمارستانی، ۲۶۰۰۰۰ مورد مربوط به استافیلوکوک اورئوس است. متأسفانه در بین آنها درصد سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین رو به فزونی هستند، به طوری که سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین استافیلوکوک اورئوس از ۱۴/۸٪ در سال ۱۹۸۷ میلادی به ۳۹/۷٪ در سال ۱۹۹۸ افزایش یافته‌اند(۱۱). بررسی‌ها در سایر نقاط جهان نیز نشان از افزایش سال به سال این سویه دارد. برای مثال در تحقیقی که در سال ۲۰۰۱ میلادی در کانادا صورت گرفت، از ۳۰۹ ایزوله بالینی، ۲۱۳ مورد سویه MRSA(۶۸/۹٪) و بقیه سویه‌های استافیلوکوک اورئوس حساس به متی‌سیلین تشخیص داده شدند(۱۳). در انگلستان در سال ۱۹۹۹ میلادی با روش PCR، ۴۴ ایزوله استافیلوکوک اورئوس مورد بررسی قرار گرفتند که ۲۱ مورد ژن مقاوت به متی‌سیلین را نشان دادند(۱۴). بررسی‌ها در هنگ کنگ و استرالیا نیز روند مشابهی را نشان دادند(۱۵،۱۶) در کشور ترکیه نیز MRSA، ۵۱٪ گزارش شد(۱۷). مقاومت به متی‌سیلین در اروپا ۲۰٪ ولی در آمریکا بین ۲۳٪ تا ۵۵٪ گزارش شد(۱۸) همچنین شیوع MRSA در سال ۱۳۸۰ در بخش‌های مختلف بیمارستان امام خمینی تهران ۴۶/۵٪ و در سال ۱۳۸۶ در بیمارستان امام حسین تهران ۷۹٪ گزارش گردیده است(۱۹،۲۰).

در طی این مطالعه در کل از ۱۰۰ نمونه جمع‌آوری شده، با روش تست آنتی‌بیوگرام (دیسک دیفیوژن) ۵۰ نمونه مقاوم و ۵۰ نمونه دیگر حساس به متی‌سیلین گزارش شدند. اما با انجام تست PCR نتایج با نتایج به دست آمده از تست آنتی‌بیوگرام مطابقت نداشت.

پس از انجام تست PCR، ۷۴ نمونه مقاومت به متی‌سیلین و ۲۶ نمونه هم حساسیت به متی‌سیلین را نشان دادند.

با توجه به نتایج به دست آمده دقت در تست‌های فنوتیپی بیمارستان محب، نسبت به بیمارستان میلاد بیشتر می‌باشد زیرا نتایج منفی کاذب بیمارستان میلاد از ۱۸ نمونه، ۱۶ نمونه می‌باشد که تعداد قابل توجهی است ولی با توجه به اهمیت مقاومت این باکتری به متی‌سیلین و افزایش شیوع مقاومت به این آنتی‌بیوتیک در سطح جهان، (اروپا، آمریکا) و ایران درصد خطای تست فنوتیپی بیمارستان محب نیز قابل تأمل می‌باشد، که از ۳۲ نمونه MSSA گزارش شده به روش فنوتیپی ۹ نمونه با روش PCR، MRSA بودند. بر همین اساس نتایج تست PCR دقیق‌تر از تست آنتی‌بیوگرام می‌باشد. زیرا در تست آنتی‌بیوگرام ۵۰ استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین گزارش شد، اما در تست PCR، ۷۴ استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین گزارش شد. پس می‌توان نتیجه گرفت که تست مولکولی PCR علاوه بر تشخیص سریع‌تر دارای تشخیص دقیق‌تر و مطمئن‌تر از تست‌های فنوتیپی است. اما روش فنوتیپی به دلیل کم هزینه و ساده بودن کاربردی‌تر می‌باشد.

در مطالعات مختلف از روش‌های متفاوتی برای استخراج DNA، پروفایل حرارتی برای تکثیر DNA مورد نظر و روش‌های مختلف فنوتیپی برای تعیین استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین استفاده شده است. اما نکته قابل توجه در تمام این تحقیقات، تفاوت بین نتایج به دست آمده روش فنوتیپی و روش مولکولی PCR می‌باشد. همچنین با مشاهده نتایج این تست‌ها مشخص می‌شود که درصد گزارش MRSA توسط روش مولکولی PCR بیشتر از روش‌های فنوتیپی می‌باشد. اما همانطور که مطرح شد، نتایج تست PCR نسبت به نتایج فنوتیپی آمار بیشتری از MRSA را نشان می‌دهند. به طور مثال در مطالعه Hardy و همکاران از ۵۰۰۰ نمونه مورد مطالعه، ۱۲۵ نمونه با روش مولکولی و ۷۵ نمونه با روش فنوتیپی MSSA تشخیص داده شدند که ارزش پیشگویی مثبت روش PCR در این مطالعه ۹۰٪ گزارش شد(۲۱). همچنین در مطالعه Jog و همکاران از ۷۵۶ نمونه، ۱۹ نمونه با روش PCR و ۱۳ نمونه با روش فنوتیپی MRSA گزارش شد که ارزش پیشگویی مثبت روش مولکولی در این مطالعه ۱۰۰٪ اعلام گردید(۲۲). در مطالعه Andriesse و همکاران از ۴۰۴ نمونه، ۱۱۱ نمونه با روش PCR و ۱۰۹ نمونه با روش فنوتیپی MRSA اعلام شد که PCR دارای ارزش پیشگویی ۹۶/۳۵٪ بود(۲۳). در نهایت در مطالعه Olowe وهمکاران ۱۹/۲٪ (۴۰ مورد) از نمونه‌ها که با روش PCR، mecA مثبت بودند ۱۰۰٪ نسبت به سفوکسیتین، ۸۰٪ نسبت به اگزاسیلین و ۷۰٪ نسبت

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

به متی‌سیلین با روش K-B مقاومت نشان دادند و ۱۶۸ نمونه دیگر که با روش PCR، mecA منفی گزارش شدند، با روش K-B، ۲۱/۴٪ به سفوکسیتین ۳۰/۹٪ به اگزاسیلین و ۲۳/۸٪ به متی‌سیلین مقاومت نادرست نشان دادند(۲۴). در این تحقیق نیز نتایج تست PCR نسبت به روش فنوتیپی بیشتر بود به طوری که ۷۴٪، mecA مثبت بودند و این در حالی است که ۵۰٪ نمونه‌ها با روش انتشار از دیسک مقاومت به متی‌سیلین را نشان دادند.

با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که روش PCR پاسخ‌های مطمئن‌تر و دقیق‌تری برای تشخیص MRSA ارائه می‌کند و با توجه به اهمیت این روش، نیاز به روش شناسایی دقیق برای جلوگیری از گسترش این مقاومت در بیمارستان‌ها و جامعه می‌باشد. به علاوه MRSA باعث مقاومت به طیف وسیع‌تری از آنتی‌بیوتیک‌های دیگر نیز می‌شود که در این مطالعه استافیلوکوک اورئوس علاوه بر مقاومت به متی‌سیلین که با دیسک‌های اگزاسیلین و سفوکسیتین سنجیده شد، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، ریفامپیسین، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، ایمی‌پنم، اریترومایسین و کلیندامایسین نیز مقاومت نشان داد که در مطالعه Aligholi و همکاران مقاومت MRSA نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین(۸۰٪)، اریترومایسین(۸۴٪)، جنتامایسین(۸۵٪)، ریفامپیسین(۵٪)، ونکومایسین(۱٪) گزارش شده است(۲۵) و در مطالعه Zamani و همکاران مقاومت MRSA نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین(۱۰۰٪)، کلوگزاسیلین(۹۱/۴٪)، تتراسایکلین(۷۴/۲٪)، کوتریموکسازول(۶۸/۵٪)، اریترومایسین(۶۸/۵٪) و سفتازیدیم(۵۱/۴٪) گزارش شده است(۲۶) و در مطالعه Yadegar و همکاران میزان این مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامیسین(۴۹٪)، آمیکاسین(۴۵٪)، توبرامایسین(۵۱٪) بوده است(۲۷) و در مطالعه Najar Peerayeh و همکاران مقاومت MRSA نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین(۶۵/۴٪)، جنتامایسین(۶۵/۴٪)، تتراسایکلین (۷۱/۴٪)، داکسی سیکلین(۴۵/۲٪)، اریترومایسین(۶۷/۸٪)، کوترموکسازول(۶۶/۶٪)، آمیکاسین(۵۰٪) بوده است(۹) و در نهایت در مطالعه Olowe و همکاران میزان مقاومت MRSA به آنتی‌بیوتیک‌های متی‌سیلین(۳۲/۷٪)، اگزاسیلین(۳/۴۰٪)، سفوکسیتین (۴۶/۵٪)، پنی‌سیلین G (۸۲/۷٪) گزارش شده است(۲۴).

نتیجه‌گیری

با گسترش شیوع مقاومت تنها آنتی‌بیوتیک مؤثر برای درمان این بیماران ونکومایسین می‌باشد که به طور ۱۰۰٪ به وانکومایسین حساس می‌باشند(۲۸)، اما این خود باعث استفاده زیاد از این آنتی‌بیوتیک شده و در نتیجه باعث رواج مقاومت به این آنتی‌بیوتیک می‌شود که درمان این بیماران را با مشکل جدی روبه رو می‌کند. استفاده از روش‌های دقیق و حساس همانند PCR در شناسایی سویه MRSA در آزمایشگاه به عنوان روش روتین می‌تواند در تشخیص صحیح آنها از MSSA کمک شایانی کرده و در اتخاذ آنتی‌بیوتیک مؤثر برای درمان مفید باشد. در غیر این صورت استفاده از آنتی‌بیوتک‌های غیرضروری در درمان سویه حساس MSSA باعث افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی خواهد شد(۲۹). به علاوه بررسی الگوی آنتی‌بیوتیکی حاکی از آن است که سویه‌های MRSA نسبت به سویه‌های MSSA مقاومت چندداروی را نشان می‌دهند. نظر به اینکه سویه‌های MRSA تنها به آنتی‌بیوتیک وانکومایسین حساسیت دارند مصرف بی‌رویه این آنتی‌بیوتیک در درمان مبتلایان به عفونت ناشی از MRSA می‌تواند عواقب خطرناکی را به دنبال داشته باشد که شامل افزایش آنتروکوک‌های مقاوم به وانکومایسین و بالاتر از آن خطر ایجاد سویه‌های MRSA مقاوم به وانکوماسین می‌باشد که در چنین مواردی درمان بیماران واقعاً مشکل می‌گردد. آمارها نشان می‌دهند که سویه‌های MRSA مقاوم به وانکومایسین در حال افزایش هستند(۳۰). همچنین موپیروسین یکی از آنتی‌بیوتیک‌هایی است که هنوز در برابر MRSA فعال می‌باشد که از سودوموناس مشتق شده است(۳۱). متأسفانه دو سال پس از معرفی این دارو، مقاومت سطح بالا نسبت به موپیروسین ظاهر شد و به آرامی افزایش یافت(۳۲،۳۳) که این مقاومت به وسیله Conjugative از پلاسمید وابسته به ژن iles-2 ایجاد می‌گردد(۳۴).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

References:

1- Tenover FC, Arbiet RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. ***Iterpreting chromosalDNA restriction patterns produced by pulced – field gel electrophoresis:*** J Clin Microbiol 1996; 33(9): 2233-39.

2- DosSantosSoares MJ. Dalsilvas-carvalho MC. ***Spread of methicillin- resistant s.aureus be longing to the brazilian epidemic clone in ageneral hospital and emergence of heterogeneous resistant to antibiotics among these isolates.*** J Hosp Infect 2000;44: 301-8.

3- Kikuchi K. ***Overview and strategy for methicillin resistant bacteria.*** Jpn J Med Assoc 2002; 127: 347-53.

*4-*Wallin TR, Hern HG, Frazee BW. ***Community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus.*** Emerg Med Clin North Am 2008; 26(2): 431

5- Wallet F, Roussel-Devallez M, Courcol RJ. ***Choice of a routine method for detectingmethicillin-resistance in staphylococci.*** J Antimicrob Chemother 1996; 37(5): 901-9.

6- Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. ***Methicillin-resistant Staphylococcus aureus clinical strain with reduced vancomycin susceptibility***. J Antimicrob Chemother 1997; 40(1): 135-6.

7- Fridkin SK. ***Vancomycin - intermediate and resistant S.A. : what the infectious disease specialist need to know.*** Clin Infectious Dis 2001; 32(1): 108- 15.

8- Hiramatsu K, Suzuki E, Takayama H, Katayama Y, Yokota T. ***Role of Penicillinase plasmids in the stability of the mecA gene in methicillin-resistant Staphylococcus aureus.*** Antimicrob Agents Chemother 1990; 34(4): 600-4.

9- Najar Peerayeh Sh, Azimian A, Mostafaee M, Siadat D. ***Identification of methicillin-resistant Staphylococcus aureus by disk diffusion method, determination of MIC and PCR for mecA gene.*** Modares J Med Sci: Pathobiology 2009; 12(3): 61-69. [Persian]

10- Kwon SJ, Jeon T, Seo D, Na M, Choi EG, Son JW, et al. ***Quantitative PCR for etiologic diagnosis of methicillin-resistant staphylococcus aureus pneumonia in intensive care unit***. Tuberc Respir Dis (Seoul) 2012; 72(3): 293-301.

11- Al-Talib H, Yean CY, Al-Khateeb A, Hassan H, Singh KK, Al-Jashamy K, et al. ***A pentaplex PCR assay for the rapid detection of methicillin-resistant staphylococcus aureus and panton-valentine Leucocidin***. BMC Microbiol 2009; 9: 113.

12- Ryffel C, Tesch W, Birch- Machin I, Reynoids PE, Barberis– Maino L, Kayser FH, et al. ***Sequence comparison of mec a genes isolated from methicillin resistant staphylococcus aureus and staphy lococcus epidermidis.*** Gene 1990; 94(1): 137-38.

13- Sakoulas G, Gold HS, Venkataraman L, DeGirolami PC, Eliopoulos GM, Qian Q. ***Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: comparison of susceptibility testing methods and analysis of mecA-positive susceptible***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

strains. J Clin Microbiol 2001; 39(11): 3946-51.

14- Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN, et al. ***Survey of infections due to staphylococcus species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the united states, canada, latin america, europe, and the western pacific region for the sentry antimicrobial surveillance program 1997- 1999.*** Clin Infect Dis 2001; 32(Supll 2): S114-32.

15- Arbique J, Forward K, Haldane D. Davidson R***. Comparison of the velogene rapid MRSA identification assay, denka MRSA screen assay, and BBL crystal MRSA ID system for rapid identification of methicillinresistant Staphylococcus aureus.*** Diag Microbial Infect Dis 2001; 40(1-2):5-10.

16- Leibovici L, Soares-Weiser K, Paul M, Goldberg E, Herxheimer A, Garner P. ***Considering resistsnce in systemic reviews of antibiotic treatment.*** J Antimicrob Chemother 2003; 52(4): 564 571

17- Merlino J, Watson J, Rose B, Beard-Pegler M, Gottlieb T, Bradbury R, et al. ***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

18- Ho PL, Tse CWS, Mak GC, Chow KH, Ng TK. ***Community-acquired methicillin- resistant staphylococcus in Hon Kong.*** J Antimicrob Chemother 2004; 54(4): 845-46.

19- Mohraz M, Jonaidi N, Rasoulinejad M, Broum MA, Aligholi M, Shahsavan Sh. ***Determination of prevalence of Methicillin resistant staphylococous infections through measurment of MICs of S. Aureus Isolates Imam hospital.*** Tehran Unive Med J 2005; 61(5): 182-192. [Persian]

20- Razin B, Shabani M, Nabavi M, Taghavi N, Haghighi M, Foroumand M. ***Prevalence of methicilin resistance staphylococcus aureus in different wards of Imam Hospital in Tehran in 2007-8.*** Pajoohandeh J 2010; 14(5): 263-67. [Persian]

21- Hardy K, Szczepura A, Davies R, Brandbury A, Stallard N, Gossain S, et al. ***Study of the efficacy and cost-effectiveness of MRSA screening and monitoring on surgical wards using a new, rapid molecular test.*** BMC Health Serv Res 2007; 7: 160.

22- Jog S, Cunningham R, Cooper S, Wallis M, Marchbank A, Vasco-Knight P,Jenks PJ. ***Impact of preoperative screening for meticillin-resistant staphylococcus aureus by real time PCR in patient undergoing cardiac surgery.*** Hosp Infect2008; 69: 124-130.

23- Andriesse G, Rijen M, Bogaers D, Bergmans J, Kluytmans W. 2009. ***Comparsion of Two PCR-based methods and conventional culture for detection of nasal carriage of staphylococcus aureus in pre-operative Patients.*** Eur J Clin Microbiol Infect Dis; 28: 1223-6.

24- Olowe OA, Kukoyi OO, Taiwo SS, Ojurongbe O, Opaleye OO, Balaji OS, et al. ***Phenotypic and molecular characteristics of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates from Ekiti State, Nigeria.*** Infect Drug Resist 2013: 6: 87-92.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

25- Aligholi M, Emaneini M, Hashemi FB, Shasavan Sh, Jebelameli F, kazemi B. ***Determination of antimicrobial resistance pattern of Staphylococcus aureus isolated from clinical specimens.*** Tehran Univ Med J 2006; 64(9): 26-32. [Persian]

26- Zamani AR, Sadeghian S, Najafi Mosleh M, Goodarzi MT, Yousefi Mashouf R, Ghaderkhani J. ***Detection of Methicillin-Resistance Gene (mec-A) in Staphylococcus aureus Strains by PCR and Determination of Antibiotic Sensitivity.*** J Hamadan Univ Med Sci 2007; 14(3): 54-58. [Persian]

27- Yadegar A, Sattari M, Mozaffari NA, Godarzi GR. ***Prevalence of ant(4')-Ia gene among clinical isolates of methicillin-resistant Staphylococcus aureus using Multiplex-PCR Method***. Modares J Med Sci: Pathobiology 2009; 12(1): 59-68. [Persian]

28- Harbarth S, Fankhauser C, Schrenzel J, Christenson J, Gervaz P, Bandiera-Clerc C, et al. ***Staphylococcus aureus at Hospital admission and nosocomial infection in surgical patients universal screening for methicillin-resistant.*** JAMA 2008; 299(10): 1149-57.

29- Naimi TS, Anderson D, Boxrud DJ, Johnson SK, Tenover FC, Lynfield R. ***Vancomycin- intermediate staphylococcus aurues with phenotypic susceptibility to methicillin in a patient with reccurent bactremia.*** Clin Infect Dis 2003; 36(12): 1609-12.

30- Alarcón T, Sanz JC, Blanco F, Domingo D, López-Brea M. ***High-level mupirocin resistance among Spanish methicillin-resistant Staphylococcus aureus.*** Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1998; 17(112): 877-79.

31- Nunes EL, dos Santos KR, Mondino PJ, Bastos MD, Giambiagi-de Marval M. ***Detection+ of ileS-2 gene encoding mupirocin resistance in methicillin-resistant Staphylococcus aureus by multiplex PCR.*** Diagn Microbiol Infect Dis 1999; 34(2): 77-81.

32- Chambers HF. ***Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical bass and clinical implications.*** Clin Microbiol Rev 1997; 10(4): 781-91.

33- Anthony RM, Connor AM, Power EG, French GL. ***Use of the polymerase chain reaction for rapid detection of high-level mupirocin resistance in staphylococci.*** Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1999; 18(1): 30-34.

34- Dyke KG, Curnock SP, Golding M, Noble WC. ***Cloning of the gene conferring resistance to mupirocin in Staphylococcus aureus.*** FEMS Microbiol Lett 1991; 61(2-3): 195-98.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]

Prevalence of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Isolated from Moheb and Milad Hospitals via Phenotypic and Molecular Methods

Gomarian Z(MSc)[*1], Shahhosseiny MH(PHD)[2], Bayat M(PHD)[3], Mahmoudi MA(MSc)[4], Nafarieh T(MSc)[5], Rahbar M(PhD)[6]

[1]*Department of Biology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran*
[2]*Department of Microbiology, Iranian Gene Fanavar Institute (IGF), Islamic Azad University, Shahr-e- Qods Branch, Tehran, Iran*
[3]*Department of Veterinary Mycology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran*
[4,5]*Department of Microbiology, Iranian Gene Fanavar Institute (IGF), Tehran, Iran*
[6]*Department of Microbiology, Iranian Reference Health Laboratory, Ministry of Health & Medical Education, Tehran, Iran*

Received: 15 Nov 2014 ***Accepted:*** 5 Mar 2015

Abstract

Introduction: S. aureus, the second most common cause of nosocomial infections, is regarded as an important factor in the severe infections of the community. Methicillin-resistant strains of this bacterium involve a major pathogen which can cause disease and mortality in Iran and the world. Its treatment seems to be difficult due to the prevalence of resistance to most commonly-used antibiotics. In fact, methicillin - resistant strains need to be identified precisely and rapidly. Therefore, this study intended to assess the resistance to methicillin via the disk diffusion method and PCR for mecA gene.

Methods: This study was conducted on 100 strains of Staphylococcus aureus collected from clinical various samples of Moheb and Milad hospitals in Tehran. Sensitivity to antibiotics was determined by the disk diffusion method and gene resistance (mecA) was examined by PCR method. Moreover, specific primers were explored and the results were compared.

Results: The prevalence of methicillin-resistant strains by the disk diffusion method was 50% (n=50), whereas 74% (n=74) were determined to have mecA gene via PCR analysis. Out of these 100 samples, 61 samples belonged to Moheb hospital, among which 47.54% (n=29) were observed to be methicillin-resistant by disk diffusion method and 60.65% (n=37) via PCR method. Other 39 samples were obtained from Milad Hospital, of which 84/53% (n=21) demonstrated resistance to methicillin via disk diffusion and 87/94% (n=37) via PCR method.

Conclusions: The study findings revealed that due to high prevalence of methicillin resistance, a quick and detailed identification method of MRSA is required. Since disk diffusion method proposes relatively high false-negative results and is observed to have a time-consuming nature, PCR can be taken in to consideration as the best method in order to identify methicillin-resistant strains.

Keywords: Methicillin Resistance; Molecular Diagnosis; Staphylococcus aureus

This paper should be cited as:

Gomarian Z, Shahhosseiny MH, Bayat M, Mahmoudi MA, Nafarieh T, Rahbar M. ***Prevalence of methicillin-resistant staphylococcus aureus isolated from moheb and milad hospitals via phenotypic and molecular methods***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2015; 23(4): 2096-2108.

Corresponding author: Tel: +98 21 44844946, Email: derakhshande.saeid@yahoo.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-08]