مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۷، شماره ۲/ خرداد و تیر ۱۳۹۴/ ۱۰۴-۹۳

مقاله پژوهشی

بررسی مولکولی مقاومت به متی سیلین در *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* ایزوله شده از بیمارستان های آموزشی شهرکرد

علیرضا دهقان[۱]، ابوالفضل قلی پور[۲*]، راضیه نظری[۱]، فاطمه هیبتی[۲]

[۱] گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران؛ [۲] مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۷

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:47 +0330 on Friday December 15th 2017

چکیده:

زمینه و هدف: **استافیلوکوکوس های کوآگولاز منفی یکی از مهم ترین عوامل عفونت های بیمارستانی هستند. مقاومت به متی- سیلین در این گروه از باکتری ها مشاهده شده است. این مطالعه با هدف بررسی و مقایسه مقاومت به متی سیلین به دو روش فنوتیپی و ژنوتیپی در باکتری های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس جدا شده از نمونه های بیمارستان های آموزشی شهرکرد طراحی و اجرا گردید.**

روش بررسی: **در این مطالعه توصیفی- تحلیلی تعداد ۲۹۰۰ نمونه مختلف شامل خون، ادرار و غیره از بیماران بستری در بیمارستان های هاجر (س) و آیت الله کاشانی شهرکرد از آذر ماه سال ۱۳۹۱ تا مهر ماه سال ۱۳۹۲ جمع آوری شد؛ سپس با انجام آزمایشات میکروبیولوژی، تعداد ۱۵۰ ایزوله استافیلوکوکوس های کوآگولاز منفی انتخاب شد. در مرحله بعد به طور همزمان مقاومت فنوتیپی به روش انتشار از دیسک (Disk diffusion) و مقاومت ژنوتیپی (ژن مقاومت به متی سیلین) با روش واکنش زنجیره ای پلیمراز بررسی گردید.**

یافته ها: **از بین ۱۵۰ ایزوله مورد بررسی، در بررسی فنوتیپی ۷۰ ایزوله (٤٦/٦٦ درصد با فاصله اطمینان ۹۵ درصد برابر با ٥٤/٩٨-٣٨/٤٩ درصد) و در بررسی ژنوتیپی ٦٤ ایزوله (٤٢/٦٦ درصد با فاصله اطمینان ۹۵ درصد برابر با ٥١-٣٤/٦٣ درصد) به متی سیلین مقاوم بودند. توزیع مقاومت فنوتیپی و مقاومت ژنوتیپی در دو بیمارستان مورد مطالعه برابر بود (P>۰/۰۵).**

نتیجه گیری: **نتایج ژنوتیپی نشانگر حضور ژن مقاومت به متی سیلین می‌باشد. بررسی ژنوتیپی به کمک واکنش زنجیره پلیمراز مرکب، ابزاری مطمئن برای نشان دادن میزان مقاومت به متی سیلین در استافیلوکوکوس های اپیدرمیدیس و ساپروفیتیکوس می باشد.**

واژه‌های کلیدی: **بیمارستان های آموزشی، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس*، مقاومت ژنوتیپی.**

مقدمه:

در طی دهه گذشته استافیلوکوکوس های کوآگولاز منفی (Coagulase Negative Staphylococci=CNS یا CoNS) یکی از مهمترین عوامل عفونت های بیمارستانی، باکتریمی، اندوکاردیت، عفونت زخم، عفونت ادراری، پنومونی، عفونت پوست و بافت نرم بوده اند؛ همچنین در سال های اخیر بروز اپیدمی استافیلوکوکوسی از چندین بیمارستان در دنیا گزارش شده است. در بسیاری اوقات این باکتری ها به عنوان سومین عامل عفونت بیمارستانی مطرح شده اند (۲،۱). استافیلوکوکوس های کوآگولاز منفی به طور

***نویسنده مسئول:** شهرکرد- رحمتیه- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد- گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی- تلفن: ۰۹۱۳۷۰٤٦٦٥٦،*
E-mail: gholipour_abolfazl@yahoo.com

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:47 +0330 on Friday December 15th 2017

برجسته ای در طی دهه‌های گذشته بیماریزا شده اند و دلیل آن استفاده گسترده از آنتی بیوتیک ها برای درمان یا پیشگیری بوده است؛ از طرفی، آن دسته از سویه‌های CoNS که از بیمارستان ها کسب شده اند، به عوامل ضد میکروبی مختلف، مقاوم بوده اند (۳). CNS ها جزو فلور طبیعی پوست هستند که می‌توانند در مخاط بینی و مجاری تنفسی و همچنین در تجهیزات پزشکی مستقر شوند. چسبیدن این باکتری ها به سطح کاتترها و سایر تجهیزات مثل دریچه های مصنوعی قلب و ایمپلنت های ارتوپدیک و توانایی بقای آن ها بر روی مواد بیولوژیک، به عنوان اولین مرحله در عفونت های خون ناشی از کاتترها مطرح می شود (۲).

استافیلوکوکوس های کوآگولاز منفی به خصوص استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس می‌توانند عامل عفونت مفاصل مصنوعی (خصوصاً مفصل ران) باشند. در طی این عفونت علائم سیستمیک مانند تب و لکوسیتوز مشاهده نمی شود؛ علاوه بر این، نتیجه کشت خون بیمار، معمولاً منفی است و فرد مبتلا، به طور معمول فقط درد موضعی و نارسایی مکانیکی مفصل را تجربه می‌کند. درمان در چنین مواردی، مشتمل بر تعویض مفصل و درمان آنتی بیوتیکی است (۵،۴). تقریباً ۷۵ درصد از این عفونت ها توسط استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ایجاد می‌شوند که اغلب عامل عفونت های بیمارستانی و مخصوصاً عفونت وسایل درمانی و پزشکی بکار رفته در بدن است (۶،۴). استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس نیز یکی دیگر از گونه‌های شایع CoNS است. بر خلاف سایر CoNS، مقاومت به آنتی بیوتیک های مؤثر بر کوکسی‌های گرم مثبت از جمله متی سیلین در این باکتری کمتر دیده شده است. این باکتری یکی از عوامل نسبتاً رایج عفونت دستگاه ادراری در زنان جوان می‌باشد. احساس درد هنگام دفع ادرار، وجود چرک و تعداد زیادی ارگانیسم در ادرار خانم‌های مبتلا از نشانه های عفونت دستگاه ادراری می باشد. بعلاوه این گونه در بیماران بستری در بیمارستان نیز عفونت ایجاد می‌کند (۷). پنی سیلین‌های نیمه سنتتیک مقاوم به بتالاکتاماز (مانند متی سیلین، نفسیلین، اگزاسیلین و دی کلوگزاسیلین) برای مقابله با باکتری‌های مقاوم به پنی سیلین ساخته شدند. متی سیلین اولین دارو از این دسته است که در سال ۱۹۶۰ جهت رفع سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به پنی سیلین معرفی شد. پس از معرفی متی سیلین به سرعت گزارشاتی مبنی بر ایجاد مقاومت اعلام شد. اولین بار وجود سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (Methicilline Resistant *Staphylococcus aureus*= MRSA) در انگلستان گزارش شد و سویه‌های مذکور به سرعت در سراسر دنیا گسترش یافتند (۸). در طی دهه ی ۱۹۷۰ پنداشته می شد که مقاومت به متی سیلین در استافیلوکوکوس های کوآگولاز منفی مقاوم به متی سیلین (Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci= MRCNS)، در مقایسه با استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA)، شیوع بیشتری دارد. این تفکر تا به امروز نیز به قوت خود باقی مانده است (۳).

مقاومت به متی سیلین در CoNS شایع است، این مقاومت اساساً مربوط به بیان ژن mecA می باشد که یک پروتئین متصل شونده به پنی سیلین (Penicillin Binding Protein 2a=PBP2a) را کد می‌کند که یک ترانس پپتیداز با میل ترکیبی پایین برای بتالاکتام ها است. ژن mecA بر روی کاست کروموزومی استافیلوکوکوسی (Staphylococcal Cassette Chromosome mec=SCCmec) قرار دارد که این کاست جزو عناصر ژنتیکی متحرک (Mobile Genetic Elements=MGE) بوده و بررسی خصوصیت این اجزاء ژنتیکی می تواند از نظر اپیدمیولوژیکی مفید باشد (۱۰،۹).

طبق آمار سیستم ملی نظارت بر عفونت‌های بیمارستانی ایالات متحده، میزان MRSA از سال ۱۹۹۷ تا ۲۰۰۱، ۱۳٪ افزایش یافته است. در کشورهای اروپایی، این میزان بسیار متغیر و از کمتر از یک درصد در کشورهای شمال اروپا (از قبیل دانمارک و هلند) تا بیش از ۴۰٪ در کشورهایی نظیر انگلستان و یونان و ایتالیا گزارش شده است. از بین

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:47 +0330 on Friday December 15th 2017

کشورهای آسیایی، بالاترین شیوع MRSA را کشور ژاپن (۷۱/۶٪) به خود اختصاص داده است (۱۱).

متغیر بودن شیوع MRSA در کشورهای مختلف، می تواند ناشی از مشکل عدم تشخیص صحیح مقاومت به متی سیلین در باکتری های مذکور باشد. روش های شناسایی مقاومت به متی سیلین شامل روش های فنوتیپی و ژنوتیپی می باشند؛ ولی روش های فنوتیپی مرسوم دارای مشکلاتی می باشند که قادر به تشخیص صحیح این مقاومت نمی باشند. از آنجایی که عدم شناسایی بموقع استافیلوکوکوس های مقاوم به متی سیلین می تواند از نظر بالینی مشکلاتی را ایجاد نماید؛ لذا بکارگیری روش های سریع، دقیق و حساس ژنوتیپی می تواند بسیار کمک کننده باشد (۱۳،۱۲)؛ بنابراین تشخیص صحیح و سریع ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی در درمان عفونت های استافیلوکوکوسی و همچنین در جلوگیری از گسترش عفونت ها بسیار مهم است. در این میان روش های مولکولی مبتنی بر PCR برای مشخص کردن ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی ارجح تر هستند (۱۴).

استافیلوکوکوس اورئوس مهمترین عامل بیماریزای این گروه است و اهمیت بالینی بالایی دارد. به دلیل توجه بیشتر به استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، انواع کوآگولاز منفی کمتر مورد توجه قرار گرفته اند (۱۵). بدین منظور این مطالعه برای اولین بار در شهرستان شهرکرد و با هدف تعیین مقاومت به متی سیلین در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس به دو روش فنوتیپی و ژنوتیپی، طراحی و اجرا گردید تا با آگاهی یافتن از الگوی مقاومت در این منطقه، جهت درمان عفونت های متعاقب ناشی از این میکرواورگانیسم ها، تصمیم گیری های بهتری اتخاذ شود.

روش بررسی:

در این مطالعه توصیفی- تحلیلی، از آذر ماه سال ۱۳۹۱ تا مهر ماه سال ۱۳۹۲ تعداد ۲۹۰۰ نمونه مختلف از بیماران بستری در بیمارستان های هاجر (س) و آیت الله کاشانی شهرکرد با رعایت اصول نمونه گیری استریل، وارد مطالعه شدند.

با فرض این که شیوع استافیلوکوکوس های اپیدرمیدیس و ساپروفیتیکوس در جامعه برابر با ۵ درصد باشد و با در نظر گرفتن اطمینان حداقل ۹۸ درصد و دقت یک درصد، حجم نمونه تعیین شد. نمونه ها شامل نمونه خون، ادرار، مایعات و ترشحات بدن (مایع مغزی نخاعی، مایع سینوویال، مایع پلور، مایع دیالیز صفاقی و ترشحات زخم) بودند. کشت ترشحات و مایعات بدن در محیط (Trypticase Soy Broth= TSB) و بلاد آگار، کشت خون در محیط دو فازی و بلاد آگار و کشت ادرار مستقیماً در محیط بلاد آگار انجام گرفت (۱۶،۳).

از کلنی‌های صاف و گرد با رنگ سفید یا کرمی گسترش تهیه شد و رنگ آمیزی گرم صورت گرفت. در همه نمونه ها کوکسی های گرم مثبت تک، دوتایی و خوشه ای مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا تست کاتالاز انجام شد که نتیجه مثبت نشانه استافیلوکوکوس بودن میکروارگانیسم بود؛ سپس تست کوآگولاز به دو روش اسلایدی و لوله ای انجام گرفت و برای کلنی‌های کوآگولاز منفی، تست های اکسیداز و بررسی حساسیت به باسیتراسین انجام شد. کلنی‌های اکسیداز منفی و مقاوم به باسیتراسین از میکروکوک ها تفکیک و به عنوان استافیلوکوکوس های کوآگولاز منفی در نظر گرفته شدند؛ پس از آن، تست حساسیت به نووبیوسین انجام گرفت. لازم به ذکر است که استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به نووبیوسین حساس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس مقاوم است (۱۷،۱۶). به این ترتیب تعداد ۱۵۰ ایزوله استافیلوکوکوس کوآگولاز منفی به دست آمد. نمونه‌های حاوی باکتری های غیر از استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس از مطالعه خارج شدند.

از هر یک از ۱۵۰ ایزوله به دست آمده یک کلنی تک برداشته و در میکروتیوب های ۱/۵ میلی لیتری حاوی ۰/۷ سی سی محیط TSB وارد و ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد شیکر دار قرار داده

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:47 +0330 on Friday December 15th 2017

شدند. سپس ۰/۳ میلی لیتر گلیسرول استریل افزوده و به فریزر ۷۰ـ درجه سانتیگراد منتقل شدند (۱۸،۶).

ابتدا مقاومت فنوتیپی به روش انتشار از دیسک (Disk diffusion) بررسی شد. روش انتشار از دیسک که به روش کربی بایر (Kirby_Bauer) نیز شناخته می‌شود، یک روش در دسترس، نسبتاً ارزان و رایج در آزمایشگاه های تشخیص طبی است که جهت انجام آنتی بیوگرام و همچنین بررسی مقاومت به متی سیلین مورد استفاده قرار می گیرد. نتایج حاصله در تصمیم گیری پزشکان برای انتخاب صحیح دارو در روند درمان به طور روزمره استفاده می شود (۱۹،۱۸).

جهت تلقیح باکتری ها به محیط کشت، سوسپانسیون باکتریایی با کدورت استاندارد (کدورت ۰/۵ مک فارلند) آماده شد و به طریق استریک بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. در ادامه دیسک ۱ میکروگرمی اگزاسیلین (همراه با دیسک ۲۰ میکروگرمی ونکومایسین، دیسک ۳۰ میکروگرمی نوبیوسین و دیسک ۰/۴ واحدی باسیتراسین) (های مدیا، هندوستان)، در سطح محیط کشت قرار داده شد. سپس محیط کشت مزبور به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. نتایج طبق راهنمای CLSI مورد بررسی قرار گرفت و در صورتی که قطر هاله مورد نظر در اطراف دیسک اگزاسیلین از ۱۰ میلی متر کمتر بود، به عنوان سویه مقاوم به متی سیلین در نظر گرفته می‌شد (۱۹).

مقاومت ژنوتیپی به روش Multiplex PCR [ژن مقاومت به متی سیلین (mecA) به همراه ژن 16SrDNA] بررسی شد. بدین منظور، ابتدا DNA باکتریایی به روش جوشاندن (Boiling) استخراج شد (۲۱،۲۰). بررسی غلظت خلوص و کیفیت رشته‌های DNA استخراج شده با روش نورسنجی انجام شد. در این تحقیق از دو جفت پرایمر شامل: mecA جهت ردیابی ژن مقاومت به متی سیلین و 16SrDNA جهت ردیابی ژن 16SrDNA در سویه‌های استافیلوکوکوس استفاده شد (جدول شماره ۱) (۱۴).

جدول شماره ۱: پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام Multiplex PCR

پرایمرها	توالی	درصد GC	اندازه
F_16SrDNA	۵_ CAGCTCGTGTCGTGAGATGT _۳	۵۵	٤٢٠ جفت باز
R_16SrDNA	۳_ AATCATTTGTCCCACCTTCG _۵	٤٥	
F_mec A	۵_ CCTAGTAAAGCTCCGGAA _۳	۵۰	۳۱٤ جفت باز
R_mec A	۳_ CTAGTCCATTCGGTCCA _۵	۵۲/۹	

پرایمرها به صورت پودر لیوفیلیزه از شرکت ژن فن آوران خریداری و طبق دستورالعمل، غلظت ۱۰۰ میکرومولار تهیه شد. جهت جلوگیری از آلودگی تا زمان استفاده، به صورت جداگانه در میکروتیوب‌های استریل تقسیم و در فریزر ۲۰ـ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. تکثیر DNA به روش Multiplex PCR با رعایت نکات استاندارد انجام شد.

هر نمونه واکنش PCR شامل: بافر ۱۰X PCR (۱ میلی مول) ۲/۵µl، ۰/۳µl (۲۰ پیکومول) از هر ۴ پرایمر، Mixed dNTP (۱۰ میلی مول) ۰/۵µl، $MgCl_2$ (۵۰ میلی مول) ۲µl، آنزیم DNA Taq polymerase (۱/۵ واحد) ۰/۳µl و DNA ۳µl که با ddH_2O به حجم ۲۵µl رسانده شد.

شرایط تکثیر شامل: واسرشت اولیه (Pre denaturation) در ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۰ سیکل، واسرشت شدن (Denaturation) در ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲ دقیقه، اتصال (Annealing) در درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، طویل شدن (Extension) در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه و طویل شدن

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:47 +0330 on Friday December 15th 2017

نهایی (Terminal extension) در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه بود.

سپس میکروتیوب‌ها برای انجام الکتروفورز و قرائت نتایج از دستگاه خارج شدند. جهت انجام الکتروفورز محصولات PCR نیز از ژل پلی اکریل آمید استفاده شد. نتایج به کمک نرم افزار SPSS و آزمون آماری کای اسکوئر تجزیه و تحلیل گردید.

یافته ها:

از ۲۹۰۰ نمونه مورد بررسی ۱۵۰ ایزوله استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس به دست آمد که از این تعداد ۵۰ نفر مرد و ۱۰۰ نفر زن بودند. سن آن ها در دامنه ۱ تا ۸۸ سال با میانگین ۲۴/۸۷±۳۶/۱۵ سال بود. از ۸۷ ایزوله به دست آمده از بیمارستان هاجر(س) ۵۰ نفر زن و ۳۷ نفر مرد و از مجموع ۶۳ ایزوله به دست آمده از بیمارستان آیت الله کاشانی ۵۰ نفر زن و ۱۳ نفر مرد بودند. یافته ها نشان می دهد که از بین ۱۵۰ ایزوله مورد بررسی، ۱۲۴ ایزوله (۸۲/۶ درصد) استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و ۲۶ ایزوله (۱۷/۴ درصد) استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس بودند. آزمون کای اسکوئر نشان داد توزیع استافیلوکوکوس های اپیدرمیدیس و ساپروفیتیکوس در بیمارستان هاجر(س) و آیت الله کاشانی شهرکرد برابر می باشد (P>۰/۰۵، جدول شماره۲).

جدول شماره ۲: فراوانی استافیلوکوکوس های اپیدرمیدیس و ساپروفیتیکوس در بیمارستان هاجر(س) و آیت الله کاشانی شهرکرد

بیمارستان های آموزشی	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس		استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس		جمع کل
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
بیمارستان هاجر (س)	۷۳	۸۳/۹	۱٤	۱٦/۱	۸۷
بیمارستان آیت الله کاشانی	۵۱	۸۰/۱	۱۲	۱۹/۹	٦۳
جمع کل	۱۲٤	۸۲/٦	۲٦	۱۷/٤	۱۵۰

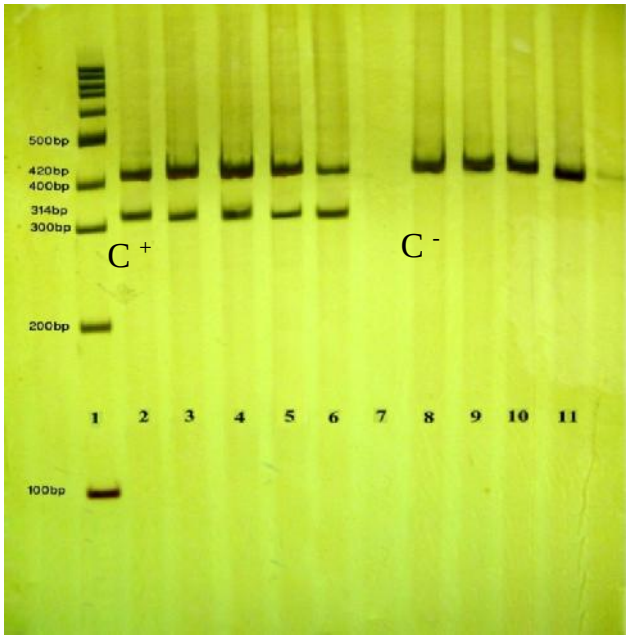
بیشترین تعداد ایزوله های به دست آمده مربوط به نمونه‌های ادرار به میزان ۷۵ (۵۰٪) و کمترین تعداد مربوط به نمونه‌های گوش و ریه، هرکدام ۱ مورد (۰/۶۶٪) بوده است. سایر نمونه ها شامل ۳۱ نمونه خون، ۲۰ نمونه کاتتر، ۱۱ نمونه ترشحات زخم، ۴ نمونه ترشحات چشم، ۳ نمونه ترشحات بینی، ۲ نمونه مایع دیالیز و ۲ نمونه تراشه بود.

از بین ۱۵۰ ایزوله مورد بررسی، ۷۰ ایزوله (۴۶/۶۶ درصد با فاصله اطمینان ۹۵ درصد برابر با ۵۴/۹۸-۳۸/۴۹ درصد) در بررسی فنوتیپی به متی سیلین مقاوم بودند که از این تعداد ۴۸ ایزوله مربوط به بیمارستان هاجر(س) و ۲۲ ایزوله مربوط به بیمارستان آیت الله کاشانی بود (P>۰/۰۵). همچنین در بررسی ژنوتیپی ۶۴ ایزوله (۴۲/۶۶ درصد با فاصله اطمینان ۹۵ درصد برابر با ۵۱-۳۴/۶۳ درصد) مقاومت ژنوتیپی داشتند یعنی دارای ژن mecA بودند که ۴۴ ایزوله مربوط به بیمارستان هاجر(س) و ۲۰ ایزوله مربوط به بیمارستان آیت الله کاشانی بود (P>۰/۰۵). بر اساس آزمون آماری کای اسکوئر توزیع مقاومت فنوتیپی و مقاومت ژنوتیپی (شیوع ژن mecA) در دو بیمارستان مورد مطالعه برابر بود (P>۰/۰۵).

علاوه بر ردیابی ژن mecA، همزمان ژن ۱۶SrDNA ردیابی شد و از سوش استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 33591 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (تصویر شماره ۱)؛ همچنین نتایج آنتی بیوگرام نشان داد از بین ۱۵۰ ایزوله، مقاومت به ونکومایسین تنها در دو مورد (۱/۳٪) مشاهده شد؛ در حالی که در ۷۰ ایزوله (۴۶/۶۶٪)، مقاومت به اگزاسیلین

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:47 +0330 on Friday December 15th 2017

دیده شد. پس از انجام تعیین توالی محصول PCR خالص شده، مقایسه توالی بدست آمده در نمونه تعیین توالی شده با توالی های موجود در پایگاه اطلاعاتی موجود در Gene Bank به کمک نرم افزار Blast انجام شد. این مقایسه نشان داد که میزان تطبیق بین توالی ۱۶SrDNA مربوط و باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ۱۰۰٪ می باشد و همچنین سویه مورد بررسی متعلق به سویه های استافیلوکوکوس می باشد.



تصویر شماره ۱: ژل رنگ آمیزی شده پلی اکریل آمید حاوی ژن‌های mecA و 16SrDNA

*به ترتیب از چپ به راست: ستون ۱ مارکر وزنی (**100bp**)، ستون ۲ کنترل مثبت (**Staphylococcus aureus ATCC 33591**)، ستون‌های ۳ تا ٦ نمونه‌های مثبت از نظر وجود هر دو ژن **mecA** و **16SrDNA**، ستون ۷ کنترل منفی، ستون ۸ تا ۱۱ نمونه مثبت از نظر وجود ژن **16SrDNA** و منفی از نظر وجود ژن **mecA**.*

بحث:

این مطالعه با هدف بررسی و مقایسه مقاومت به متی سیلین به دو روش فنوتیپی و ژنوتیپی در باکتری های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس جدا شده از نمونه های بیمارستان های آموزشی شهرکرد طراحی و اجرا گردید.

از همان زمان شروع استفاده از پنی سیلین های نیمه صناعی مقاوم به بتالاکتاماز در دهه ۱۹۶۰، به سرعت مقاومت به این داروها از جمله متی سیلین گسترش پیدا کرد و با توجه به قابلیت انتقال ژن مربوطه (mecA) از استافیلوکوکوس اورئوس به انواع کوآگولاز منفی استافیلوکوکوس ها و بالعکس و همچنین اثبات قابلیت بیماریزا بودن استافیلوکوکوس های اپیدرمیدیس و ساپروفیتیکوس به خصوص در ایجاد عفونت های بیمارستانی و بیماران با ضعف سیستم ایمنی، بررسی میزان مقاومت به متی سیلین جهت درمان صحیح بیماران اهمیت پیدا کرد (۹،۱۰). تعیین مقاومت به متی سیلین در استافیلوکوکوس های کوآگولاز منفی در آزمایشگاه های بالینی همواره یکی از مشکلات اساسی بوده است. جهت تعیین حساسیت به متی سیلین به روش فنوتیپی در مطالعات مختلف از آزمایشات Disk diffusion، MIC، Broth microdiluation و Agar screen استفاده می‌شود (۸). در این مطالعه از روش Disk diffusion

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:47 +0330 on Friday December 15th 2017

استفاده شد که از بین ۱۵۰ ایزوله مورد بررسی، ۷۰ ایزوله در بررسی فنوتیپی به متی سیلین مقاوم بودند. در بررسی ژنوتیپی با روش Multiplex PCR نیز ۶۴ ایزوله دارای ژن mecA تشخیص داده شد.

میزان مقاومت به متی سیلین در مناطق مختلف دنیا متفاوت است. به عنوان مثال، مطالعات گسترده ای که در آمریکا بین سال های ۱۹۹۷ـ۱۹۹۵ بر روی ۴۳۷۸۹ کشت خون انجام شد، میزان مقاومت به متی سیلین در استافیلوکوکوس های کوآگولاز منفی را ۵۸٪ گزارش نمدند (۲۲)؛ همچنین طبق گزارش پایگاه داده SENTRY، میزان مقاومت به متی سیلین بین سال های ۱۹۹۹ـ۱۹۹۷ در بین کشورهای اروپایی متفاوت بوده و به طور کلی در نقاط مختلف دنیا از جمله کانادا، ایالات متحده آمریکا، آمریکای لاتین، اروپا و غرب اقیانوس آرام حدود ۷۰٪ گزارش شده است (۲۳). در مطالعه ای در کشور تونس بر روی استافیلوکوکوس های کوآگولاز منفی مشخص شد مقاومت به پنی سیلین G و متی سلین ۶۰٪ بوده است. میزان ژن mecA نیز ۶۵٪ گزارش شده است (۱۵). در تحقیق مشابه در بیمارستان شریعتی و مرکز طبی کودکان تهران، از تعداد ۸۵ سویه استافیلوکوکوس کواگولاز منفی و ۷۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شده با روش فنوتیپی ۶۲ سویه استافیلوکوکوس کواگولاز منفی و ۲۷ سویه استافیلوکوکوس اورئوس به اگزاسیلین مقاوم بودند؛ اما در روش PCR، ۶۳ سویه استافیلوکوک کواگولاز منفی و ۲۸ سویه استافیلوکوکوس اورئوس دارای ژن mecA بودند (۲۴). بر اساس مطالعه ای که بر روی ۲۰۴ نفر از پرسنل بیمارستان هاجر شهرکرد انجام شد، ۲۳ سویه از ۵۲ سویه (۴۴٪) استافیلوکوکوس اورئوس و ۷۰ سویه از ۱۵۲ سویه (۴۶٪) استافیلوکوکوس کواگولاز منفی با روش Agar screen نسبت به اگزاسیلین مقاوم بودند. با روش PCR ۲۷ سویه از ۵۲ سویه (۵۲٪) استافیلوکوکوس اورئوس و ۸۰ سویه از ۱۵۲ سویه (۵۲/۵٪) استافیلوکوکوس کواگولاز منفی دارای ژن mecA بودند (۲۵). در پژوهشی دیگر که به منظور بررسی شیوع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین انجام شد، نتایج روش PCR حاکی از آن بود که از ۷۳ نمونه بالینی، ۸۹ درصد ایزوله‌ها دارای ژن مقاومت به متی‌سیلین بودند؛ ولی در بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن آگار، فقط ۷۴ درصد ایزوله‌ها مقاومت را نشان دادند (۲۶).

درصد مقاومت و حضور ژن mecA در ترکیه کمی متفاوت گزارش شده است. طی مطالعه ای که در ترکیه توسط Duran و همکارانش انجام شد، از ۱۳۹ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شده ۱۶/۵٪ مقاوم به متی سیلین بوده و میزان ژن مقاومت mecA هم ۲۵/۹٪ بوده است. این درحالی است که تعداد نمونه‌های CoNS ۱۵۹ مورد و میزان مقاومت به متی سیلین و حضور ژن mecA به ترتیب ۱۸/۹ و ۲۹/۶ درصد بوده است. در این مطالعه، همزمان مقاومت های چندگانه به سایر آنتی بیوتیک ها با روش Multiplex PCR هم بررسی شده است و در نهایت به این نتیجه رسیده اند که الگوهای حساسیت آنتی بیوتیکی با نتایج به دست آمده به روش ژنوتایپینگ بوسیله Multiplex PCR مشابه نمی باشد (۱۴).

همانطور که در اغلب تحقیقات ذکر شده مشخص است، میزان شیوع ژن mecA (مقاومت ژنوتیپی) بیشتر از میزان مقاومت به روش های فنوتیپی گزارش شده است. دلیل این امر این است که اغلب موارد مقاومت به متی سیلین به صورت هتروژنوس است، به این مفهوم که در هر جمعیت سلولی تنها تعداد کمی از سلول‌ها (10^{-8}ـ10^{-4})، ژن مقاومت به متی سیلین (mecA) را بیان می کنند و طی بررسی های فنوتیپی مشخص شده است که بقیه جمعیت حتی در حضور غلظت بالایی از دارو (۵۰g/mlμ اگزاسیلین) هم رشد می‌کنند (اکثریت سلول‌های حساس با مقاومت نسبتاً پایین ظاهر می‌شوند)؛ بنابراین همه سویه های مقاوم به متی سیلین ممکن است با روش های فنوتیپی قابل تشخیص نباشند و به صورت منفی کاذب گزارش شوند و همین امر باعث اختلاف در نتایج روشهای ژنوتیپی و

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:47 +0330 on Friday December 15th 2017

فنوتیپی سنجش مقاومت به متی سیلین می شود (۸،۱۴). در بعضی تحقیقات چه در ایران و چه در کشورهای دیگر نیز بر عکس این نتایج گزارش شده و میزان مقاومت به متی سیلین به روش فنوتیپی، بالاتر گزارش شده است (۲۹-۲۷).

نکته ای که در مطالعات ذکر شده و در دیگر منابع عیان است، درصد بالاتر میزان مقاومت به متی سیلین و ژن mecA در استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی در مقایسه با استافیلوکوکوس اورئوس است. مقاومت به متی سیلین اساسا مربوط به بیان ژن mecA می باشد. ژن mecA بر روی کاست کروموزومی استافیلوکوکوسی (SCCmec) قرار دارد. استافیلوکوکوس های کوآگولاز منفی مقاوم به متی سیلین ممکن است به عنوان یک ذخیره بزرگ SCCmec برای استافیلوکوکوس اورئوس نیز عمل نموده و باعث انتقال ژن مقاومت به آن شوند (۹،۱۰). پس علاوه بر مشکلات ایجاد شده توسط خود استافیلوکوکوس های کوآگولاز منفی، مسئله انتقال ژن مقاومت و تشدید بحران در مورد مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس به متی سیلین، اهمیت پرداختن به تحقیق در مورد استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس را دو چندان می‌کند. نمونه‌هایی از افزایش مقاومت به متی سیلین در استافیلوکوکوس اورئوس ذکر شده است.

در تحقیقی که در سه بیمارستان در ایران انجام شد، میزان مقاومت به متی سیلین را با سه روش، مورد سنجش قرار گرفت. نتایج کار به این صورت بوده که فراوانی مقاومت به متی سیلین با روش انتشار از دیسک، رقیق سازی در آگار و PCR به ترتیب ۵۰٪، ۴۷/۷٪ و ۴۸/۲٪ بوده است؛ همچنین سویه‌های mec مثبت نسبت به آنتی بیوتیک‌های آزمایش شده بسیار مقاوم تر از سویه‌های mec منفی بوده اند. در این مطالعه، میزان مقاومت به وانکومایسین، صفر گزارش شده است (۲۷). نتایج تحقیق مذکور که مشابه نتایج تحقیق حاضر است و حاکی از بیشتر بودن میزان مقاومت در روش فنوتیپی می‌باشد، مشخص می کند که آزمایش انتشار دیسک یا آنتی بیوگرام که به طور گسترده در آزمایشگاه‌های تشخیصی انجام می‌شود، می‌تواند نتایج مثبت کاذب هم در برداشته باشد. مقدار باکتری تلقیحی، قطر محیط کشت و دیسک‌های مورد استفاده همه می‌توانند در نتایج این آزمایش تأثیرگذار باشند (۲۷)؛ بنابراین برای دستیابی به نتایج دقیق، ردیابی ژن mecA بوسیله Multiplex PCR مطمئن تر است.

در تحقیق مشابهی که توسط Choi و همکاران در کره انجام شده میزان مقاومت به متی سیلین در روش فنوتیپی ۶۶٪ و در روش ژنوتیپی ژنوتیپی (حضور ژن mecA)، ۵۸/۶۹٪ اعلام شده است. علت کمتر بودن در صد بیان ژن mecA به نسبت وجود مقاومت فنوتیپی مکانیسم های غیر وابسته به PBP2a از جمله تولید بیش از حد بتا لاکتاماز و همچنین تغییر نوع پروتئین های متصل شونده به پنی سیلین (PBP) ذکر شده که ممکن است در بیان مقاومت نقش داشته باشند (۲۹). در همین راستا Secchi و همکارانش بیان کردند که تست های حساسیت فنوتیپی برای تعیین مقاومت به متی سیلین در CoNS مشکلاتی را دارند که می تواند به دلیل بیان متفاوت ژن در تعدادی از سویه‌ها باشد که متأثر از شرایط رشد و خصوصیات عوامل بتا لاکتام مورداستفاده می‌باشد (۲۸).

میزان بالاتر مقاومت به متی سیلین در بین بیماران بیمارستان هاجر(س) نسبت به بیمارستان آیت الله کاشانی، می‌تواند به عواملی چون قدمت طولانی تر بیمارستان هاجر(س) و در نتیجه فرسایش بیشتر ساختمان و وسایل این مرکز به نسبت بیمارستان آیت الله کاشانی باشد که بواسطه تجدید بنا و تجهیزات مربوطه، عمر جوان تری دارد. از طرفی بیمارستان هاجر(س) دارای بخش‌های عفونی، همودیالیز، دیالیز صفاقی، پلاسمافرزیس، تالاسمی، شیمی درمانی، زنان و زایمان، نوزادن و اطفال می‌باشد که بیماران دچار ضعف ایمنی، خطر پذیر و مستعد انواع عفونت‌ها در این بخش‌ها به وفور حضور دارند. عوامل ذکر شده و

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:47 +0330 on Friday December 15th 2017

شاید عوامل ناشناخته دیگری، احتمال ابتلا به عفونت های بیمارستانی و احتمال افزایش شیوع مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها و از جمله متی سیلین را افزایش می‌دهد.

بررسی مقاومت به وانکومایسین نشان از حساسیت بالای این دارو برای استافیلوکوکوس‌های اپیدرمیدیس و ساپروفیتیکوس بود. در تحقیق پیرایه و همکاران نیز میزان مقاومت به وانکومایسین صفر گزارش شد (۲۷). در مطالعه عبدالهی و همکاران از میان ۱۶۴ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شده تعداد ۷۸ مورد به متی سیلین مقاوم بودند. در این مطالعه هیچ موردی از مقاومت به ونکومایسین شناسایی نشد، در حالی که نسبت به سایر آنتی بیوتیک های مورد بررسی مقاومت وجود داشت (۳۰).

در تحقیق انجام شده در ترکیه نیز میزان مقاومت به وانکومایسین هم در CoNS و هم در استافیلوکوکوس اورئوس صفر گزارش شد (۱۴). در مطالعه ی مشابه در تبریز با بررسی ۱۰۰ نمونه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، میزان مقاومت به متی سیلین ۸۵٪ و حضور ژن mecA، ۸۹٪ اعلام شد و نتایج نشان داد که همه ۱۰۰ نمونه به وانکومایسین حساس بوده اند (۳۱). در تحقیق حاضر نیز فقط دو مورد مقاومت نسبت به وانکومایسن مشاهده شد. بنابر این می‌توان داروی وانکومایسین را یک داروی بسیار مؤثر در مقابله با استافیلوکوکوس ها بخصوص انواع کوآگولاز منفی محسوب کرد.

چنانچه وانکومایسین به همراه ریفامپین یا جنتامایسین مصرف شود اثربخشی آن بیشتر می‌شود. با این حال نباید در مصرف وانکومایسین افراط نمود؛ چرا که مصرف بی رویه آن سبب افزایش جمعیت انتروکوک‌های واجد پلاسمید حاوی ژن مقاومت به وانکومایسین خواهد شد و احتمال این که این پلاسمیدها از طریق کونژوگاسیون به سویه‌های استافیلوکوکوس انتقال یابد افزایش می‌یابد. به منظور پیشگیری و کنترل عفونت‌های بیمارستانی ناشی از سویه‌های مقاوم استافیلوکوکوس، شستشوی صحیح و دقیق دست‌ها، عملی‌ترین و ساده‌ترین راه می‌باشد (۱۶).

نتیجه گیری:

در بررسی مقاومت به متی سیلین استافیلوکوکوس های کواگولاز منفی به روش انتشار از دیسک مقدار باکتری تلقیحی، قطر محیط کشت و دیسک‌های مورد استفاده همه می‌توانند در نتایج این آزمایش تأثیر گذار باشند؛ بنابراین برای بررسی دقیق میزان مقاومت به متی سیلین در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، ردیابی ژن mecA بوسیله Multiplex PCR مطمئن تر است. سنجش مقاومت فنوتیپی به روش انتشار از دیسک ممکن است بخاطر موارد مثبت و منفی کاذب دقیق نباشد. در این مطالعه میزان سمقاومت به متی سیلین در CoNS نسبت به متوسط مطالعات صورت گرفته در ایران که حدود ۵۰ درصد می باشد، کمتر بود که نشان می دهد رعایت شاخص‌های کنترل عفونت در این مراکز، از میانگین کشوری بالاتر است؛ همچنین استافیلوکوکوس های مورد مطالعه به خوبی به داروی وانکومایسین حساسیت نشان دادند؛ بنابراین استفاده بجا و محتاطانه از این دارو در درمان عفونت های ناشی از این باکتری‌ها پیشنهاد می گردد.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از تمام کسانی که در طراحی و اجرای این مطالعه همکاری نمودند، تقدیر و تشکر به عمل می آید لازم به ذکر است این مقاله مستخرج از پایان نامه شماره ۱۵۴۳۰۵۰۷۹۲۱۰۰۲ مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم می باشد.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:47 +0330 on Friday December 15th 2017

منابع:

1. John JF, Harvin AM. History and evolution of antibiotic resistance in coagulase-negative staphylococci: Susceptibility profiles of new anti-staphylococcal agents. Ther Clin Risk Manag. 2007; 3(6): 1143-52.
2. Razavi Sh, Rastegar lari A, Ghazi F. Molecular subtyping of coagulase negative staphylococcus by pulse field gel electrophoresis: First report. Med J Tabriz Uni Med Sci. 2006; 28(3): 53-7.
3. Javadpour S, Karimi E, Karmostaji A. Frequency and anti-biogram pattern of coagulase negative Staphylococcus in clinical specimens of Shahid Mohammadi Hospital in patients, Bandar-Abbas, Iran. African J Microbiol Res. 2010; 4(14): 1581-3.
4. Otto M. Staphylococcus epidermidis--the 'accidental' pathogen. Nat Rev Microbiol. 2009; 7(8): 555-67.
5. Tufariello J, Lowy F. Coagulase-negative staphylococci: antimicrobial resistance and treatment. Sexton DJ, Kaplan SL, Baron EL (eds). 2012. Available from: http://cursoenarm.net/UPTODATE/contents/mobipreview.htm.
6. McCann MT, Gilmore BF, Gorman SP. Staphylococcus epidermidis device-related infections: pathogenesis and clinical management. J Pharm Pharmacol. 2008; 60(12): 1551-71.
7. Soderquist B, Berglund C. Methicillin-resistant Staphylococcus saprophyticus in Sweden carries various types of staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec). Clin Microbiol Infect. 2009; 15(12): 1176-8.
8. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS, Scott EG, Bailley WR. Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 13th ed. Philadelphia: Mosby; 2002.
9. Zong Z, Peng C, Lu X. Diversity of SCCmec elements in methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci clinical isolates. PLoS One. 2011; 6(5): e20191.
10. Rosenthal ME, Dever LL, Moucha CS, Chavda KD, Otto M, Kreiswirth BN. Molecular characterization of an early invasive Staphylococcus epidermidis prosthetic joint infection. Microb Drug Resist. 2011; 17(3): 345-50.
11. Balkhy HH, Memish ZA, Almuneef MA, Cunningham GC, Francis C, Fong KC, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: a 5-year review of surveillance data in a tertiary care hospital in Saudi Arabia. Infect Control Hosp Epidemiol. 2007; 28(8): 976-82.
12. Bhutia KO, Singh TS, Biswas S, Adhikari L. Evaluation of phenotypic with genotypic methods for species identification and detection of methicillin resistant in Staphylococcus aureus. Int J Appl Basic Med Res. 2012; 2(2): 84-91.
13. Pishva E, Havaei SA, Arsalani F, Narimani T, Azimian A, Akbari M. Detection of methicillin-resistance gene in Staphylococcus epidermidis strains isolated from patients in Al-Zahra Hospital using polymerase chain reaction and minimum inhibitory concentration methods. Adv Biomed Res. 2013; 2: 23.
14. Duran N, Ozer B, Duran GG, Onlen Y, Demir C. Antibiotic resistance genes & susceptibility patterns in staphylococci. Indian J Med Res. 2012; 135: 389-96.
15. Bouchami O, Achour W, Ben Hassen A. Species distribution and antibiotic sensitivity pattern of coagulase-negative Staphylococci other than Staphylococcus epidermidis isolated from various clinical specimens. African J Microbiol Res. 2011; 5(11): 1298-305.
16. Mack D. Molecular mechanisms of Staphylococcus epidermidis biofilm formation. J Hosp Infect. 1999; 43(Suppl): 113-25.
17. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Jawetz, Melnick, & Adelberg's medical microbiology. 26th ed. New York: McGraw_Hill; 2007. pp: 224-230.
18. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Review of medical microbiology Murray. Translated to Persian by: Bahador A. Tehran: Khosravi Pub; 2010. p:135-136.
19. Zamanzad B, Karimi A. Medical bacteriology laboratory. 1st ed. Shahrekord: Zagros Pub; 2008.
20. Millar BC, Jiru X, Moore JE, Earle JA. A simple and sensitive method to extract bacterial, yeast and fungal DNA from blood culture material. J Microbiol Methods. 2000; 42(2): 139-47.
21. Noroozi J. Molecular biology methods in Bacteria. 1st ed. Tehran: Andisheh Rafie Pub; 2004.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:47 +0330 on Friday December 15th 2017

22. Sahm DF, Marsilio MK, Piazza G. Antimicrobial resistance in key bloodstream bacterial isolates: electronic surveillance with the Surveillance Network Database--USA. Clin Infect Dis. 1999; 29(2): 259-63.
23. 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(Suppl 2): 114-32.
24. Mirsalehian A, JabalAmeli F, Kazemi B, Alizadeh SA. Comparison of disk diffusion method with polymerase chain reaction for detecting methicillin resistance in clinical isolates of Staphylococci. Tehran Univ Med J. 2003; 61(6): 420-5.
25. Nafisi M, Kalhor H, Zamanzad B, Karimi A, Farokhi A, Validi M. Comparison of agar screen and duplex-PCR in determination of methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) strains isolated from nose of personnel in Hajar hospital of Shahre-kord. Arak Univ Med Sci J. 2008; 11: 94-101.
26. Ghorbani Tazhandare S, Imani Fooladi A, Nourani M. Prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus by disk diffusion and molecular methods in icu and emergency sections in one of educational hospital, Tehran. Urmia Med J. 2013; 24(2): 110-120.
27. Najar Peerayeh S, Azimian A, Mostafaee M, Siadat SD. Identification of methicillin-resistant Staphylococcus aureus by disk diffusion method, determination of MIC and PCR for mecA gene. Modares J Med Sci. 2009; 12(3): 61-9.
28. Secchi C, Antunes AL, Perez LR, Cantarelli VV, d'Azevedo PA. Identification and detection of methicillin resistance in non-epidermidis coagulase-negative staphylococci. Braz J Infect Dis. 2008; 12(4): 316-20.
29. Choi SM, Kim SH, Kim HJ, Lee DG, Choi JH, Yoo JH, et al. Multiplex PCR for the detection of genes encoding aminoglycoside modifying enzymes and methicillin resistance among Staphylococcus species. J Korean Med Sci. 2003; 18(5): 631-6.
30. Abdollahi A, Koohpayeh S, Najafipoor S, Mansoori Y, Abdollahi S, Jaafari S. Evaluation of drug Resistance and Staphylococcal cassette chromosome (SCCmec) types among methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA). J Alborz Health. 2012; 1(1): 47-52.
31. Shoja S, Nahaei MR, Nahaei M, Farajnia S, Ahangarzadeh Rezaei M, Nikvash S. Study of methicillin- resistance by oxacillin disc diffusion and pcr methods in Staphylococcus epidermidis isalates collected from blood cultures and their antibiotic susceptibility. Med J Tabriz Uni Med Sci. 2009; 31(1): 39-44.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2015 Jun, Jul; 17(2): 93-104. **Original article**

Molecular investigation of methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* isolated in Shahrekord training hospitals

Dehghan AR[1], Gholipour A[2*], Nazari R[1], Heibati F[2]
[1]Microbiology Dept., Islamic Azad University of Qom, Qom Branch, I.R. Iran; [2]Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.
Received: 7/Jun/2014 Accepted: 29/Sep/2014

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 17:47 +0330 on Friday December 15th 2017

Background and aims: Coagulase-negative Staphylococci is one of the most important factors for nosocomial infections. Resistance to methicillin has been observed in this group of bacteria. This study was aimed to investigate and compare resistance to methicillin using two phenotypic and genotypic methods in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* bacteria isolated from samples in training hospitals of Shahrekord.
Methods: In this analytic descriptive study, 2900 various samples including blood, urine, and etc. were collected from patients hospitalized in Hajar (PBUH) and Ayatollah Kashani hospitals of Shahrekord. Then, 150 isolates of coagulase-negative Staphylococci were selected using microbiological experiments. In the next step, phenotypic resistance was simultaneously assessed by disk diffusion and genotypic resistance [methicillin-resistant gene (mecA)] by multiplex PCR.
Results: Of isolated 150 cases under study, findings showed that 46.66% of the samples (70 isolates with confidence interval of 95% equal to 38.49-54.98%) were resistant to methicillin in phenotypic analysis. Besides, in genotypic analysis 42.66% of the samples (64 isolates with confidence interval of 95% equal to 34.63-51%) had methicillin-resistant gene (mecA). Distribution of phenotypic and genotypic resistance in two hospitals under study was equal, and had no significant difference (P>0.05).
Conclusion: The genotypic results indicate the presence of methicillin-resistance gene. Genotyping through PCR is a reliable tool to show the rate of methicillin-resistance in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus.*

Keywords: **Genotypic resistance, *Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saprophyticus,* Training hospitals.**

Cite this article as: Dehghan AR, Gholipour A, Nazari R, Heibati F. Molecular investigation of methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* isolated in Shahrekord training hospitals. J Shahrekord Univ Med Sci. 2015; 17(2): 93-104.

[*]Corresponding author:
Microbiology and Immunology Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran, Tel: 00989137046656, E-mail: gholipour_abolfazl@yahoo.com.