DOI: 10.22122/jims.v39i645.14495 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و نهم/شماره‌ی ۶۴۵/هفته‌ی اول دی ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۶/۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۸/۲۳ تاریخ چاپ: ۱۴۰۰/۱۰/۷

فراوانی مقاومت به متی‌سیلین و حضور ژن‌های mecA و pvl در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان ولی‌عصر (عج) تبریز

سارا نائبی[۱]، مهدی قیامی راد[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin-resistant Staphylococcus aureus یا MRSA)، به دلیل مقاومت در برابر بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها، از مشکلات بهداشتی در جهان محسوب می‌شود. پنتون والنتین لکوسیدین (Panton-Valentine leucocidin یا PVL) از جمله سموم مهم استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد. پژوهش حاضر با هدف تعیین فراوانی مقاومت به متی‌سیلین و جستجوی ژن‌های mecA و pvl در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان ولی‌عصر (عج) تبریز انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی توصیفی- مقطعی که طی سال ۹۹-۱۳۹۸ صورت گرفت، ۱۴۲ جدایه‌ی استافیلوکوکوس اورئوس از بیماران بستری شده در بیمارستان ولی‌عصر (عج) تبریز انتخاب و با استفاده از تست‌های استاندارد آزمایشگاهی تعیین هویت شد. مقاومت جدایه‌ها به آنتی بیوتیک‌های متداول در درمان عفونت‌های استافیلوکوکی به کمک روش انتشار از دیسک و مقاومت نسبت به متی‌سیلین با استفاده از دیسک سفوکسیتین اندازه‌گیری گردید. وجود ژن‌های mecA و pvl در جدایه‌ها با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase chain reaction یا PCR) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: از جدایه‌های مورد بررسی، ۹۸ جدایه به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس شناخته شد. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به پنی‌سیلین با ۹۶/۲ درصد و کمترین مقاومت به کوتریماکسازول با ۱۶/۰ درصد مشاهده شد. در ۶۳ درصد از جدایه‌ها، مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی گزارش گردید. ۲۶ جدایه به روش فنوتیپی، مقاوم به متی‌سیلین تشخیص داده شد. ژن mecA در ۱۳ جدایه شناسایی گردید که ۱۱ جدایه در بررسی فنوتیپی، مقاوم به متی‌سیلین و ۲ جدایه، حساس به متی‌سیلین تشخیص داده شدند. ژن pvl در هیچ کدام از جدایه‌ها شناسایی نگردید.

نتیجه‌گیری: وجود مقاومت بالا و چندگانه جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج و وجود جدایه‌های مقاوم به متی‌سیلین در بخش‌های مختلف بیمارستان، باید به عنوان یک موضوع جدی، مورد توجه و چاره‌اندیشی قرار گیرد.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس؛ مقاومت به متی‌سیلین؛ عفونت بیمارستانی

ارجاع: نائبی سارا، قیامی راد مهدی. **فراوانی مقاومت به متی‌سیلین و حضور ژن‌های mecA و pvl در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان ولی‌عصر (عج) تبریز.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۰؛ ۳۹ (۶۴۵): ۷۸۵-۷۷۸.

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس (Staphyloccocus aureus)، در ایجاد انواع مختلفی از عفونت‌ها مانند سپتی‌سمی، پنومونی، عفونت پوست، بافت نرم و استخوان، در انسان و حیوانات نقش دارد. این باکتری از عوامل اصلی ایجادکننده‌ی عفونت‌های بیمارستانی و مسمومیت غذایی در انسان به شمار می‌رود (۱). بیماری‌زایی استافیلوکوکوس‌ها ناشی از فعالیت عوامل تهاجمی همچون آنزیم‌ها، توکسین‌های موضعی مانند توکسین شوک توکسیک و آنتی‌ژن‌های سطحی سلولی می‌باشد (۲).

لکوسیدین پنتون والنتین (Panton-Valentine leucocidin یا PVL) از جمله توکسین‌های تولید شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس و از مهم‌ترین شاخص‌های حدت این باکتری می‌باشد که برای اولین بار در سال ۱۹۳۲ توسط Panton و Valentine در سویه‌ی استافیلوکوکوس اورئوس V8 جدا شده از یک بیمار مبتلا به

۱- گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

۲- استادیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: مهدی قیامی راد: استادیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

Email: m-ghiamirad@iau-ahar.ac.ir

فرونکلوزیس شناسایی گردید (۴-۳). این سم، یک گاماتوکسین است که از دو جزء پروتئینی S (Slow-eluting) با وزن ۳۸ کیلودالتون و F (Fast-eluting) با وزن ۳۲ کیلودالتون تشکیل شده است و تحت کنترل ژن‌های pvl شامل lukS و lukF می‌باشد (۶-۵).

جزء S به گانگلیوزیدهای GM1 و فسفاتیدیل کولین متصل می‌شود و با فعال کردن آنزیم فسفولیپاز A_2 غشایی، محصولات مشتق از فسفولیپیدها را تولید می‌کند که در اثر اتصال به جزء F کانال یونی اختصاصی پتاسیم، منجر به لیز سلول می‌گردد (۷). این توکسین، علیه غشای خارجی سلول‌های پلی‌مورفونوکلئر (Polymorphonuclear یا PMN)، مونوسیت‌ها و ماکروفاژها عمل می‌نماید و باعث افزایش قدرت نفوذپذیری غشای سلولی و در نتیجه، تخریب لکوسیت‌ها و نکروز بافت می‌شود (۸).

اگرچه به دنبال تولید آنتی‌بیوتیک‌ها، ارتقای قابل توجهی در پیش‌آگهی عفونت‌های استافیلوکوکوسی به وجود آمد، اما با مصرف غلط و بی‌رویه‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها، درصد قابل توجهی از استافیلوکوکوس‌ها در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند و باکتری‌هایی با مقاومت چندگانه دارویی (Multidrug resistance یا MDR) ایجاد گردیده که امروزه به چالش بزرگی در درمان عفونت‌های باکتریایی تبدیل شده است.

متی‌سیلین (Methicillin)، اولین پنی‌سیلین نیمه صناعی مقاوم در برابر بتالاکتامازها است که در سال ۱۹۵۹ جهت درمان عفونت‌های استافیلوکوکوسی به بازار عرضه شد، اما پس از گذشت مدت کوتاهی، سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin-resistant Staphylococcus aureus یا MRSA) نیز گزارش گردید. مقاومت به متی‌سیلین، نوعی مقاومت کروموزومی است و در آن، ژن mecA موجب ایجاد تغییراتی در پروتئین متصل شونده به پنی‌سیلین (Penicillin-binding protein یا PBPa) و در نتیجه، کاهش میل ترکیبی این پروتئین به بتالاکتام‌ها می‌شود (۹). ژن mecA قطعه‌ای به اندازه‌ی ۲/۱ کیلو باز است که در ناحیه‌ی متحرک ژنومیک به نام Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) وجود دارد و باعث مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف می‌شود (۲).

نتایج مطالعات مختلف، حاکی از نقش مهم ژن pvl در ایجاد مقاومت به متی‌سیلین در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس به خصوص سویه‌های اکتسابی از جامعه (Community associated-MRSA یا CA-MRSA) می‌باشد (۱۰).

پژوهش حاضر با هدف تعیین فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به متی‌سیلین و همچنین، شناسایی ژن‌های کدکننده‌ی مقاومت آنتی‌بیوتیکی mecA و ژن دخیل در حدت pvl در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان ولی‌عصر (عج) تبریز انجام گردید.

روش‌ها

در این مطالعه، طی سال‌های ۹۹-۱۳۹۸، ۱۴۲ جدایه‌ی باکتری از نمونه‌های چرک، خون و ادرار بیماران بستری شده در بیمارستان ولی‌عصر (عج) تبریز با تشخیص اولیه‌ی استافیلوکوکوس، انتخاب شد و مورد بررسی قرار گرفت. هیچ یک از بیماران قبل از انجام آزمایش آنتی‌بیوگرام، سابقه‌ی مصرف آنتی‌بیوتیک نداشتند.

به منظور تعیین هویت و تشخیص فنوتیپی جدایه‌ها، از رنگ‌آمیزی گرم، آزمایش‌های کاتالاز، اکسیداز، کواگولاز روی لام و لوله‌ای،کشت در محیط Mannitol Salt Agar (MSA)، کشت در محیط Blood Agar و تست Voges-Proskauer (VP) طبق روش‌های توصیه شده در منابع میکروب‌شناسی استفاده گردید (۱۱). کلیه‌ی محیط‌های کشت و معرف‌های مصرفی در تحقیق حاضر از محصولات شرکت Merck (آلمان) بودند.

تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی: به منظور تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها، از روش انتشار از دیسک آنتی‌بیوتیک (Kirby-Bauer) طبق دستورالعمل Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) استفاده گردید (۱۲). در پژوهش حاضر، از دیسک آنتی‌بیوتیک‌های موجود در ۸ خانواده‌ی مهم آنتی‌بیوتیکی متداول در درمان عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس استفاده شد (جدول ۱).

جدول ۱. آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر

دسته‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها	نام آنتی‌بیوتیک	غلظت (میکروگرم)	نام اختصاری
پنی‌سیلین‌ها	آمپی‌سیلین	۱۰	AM
	آموکسی‌سیلین	۱۰	AMC
	پنی‌سیلین	۱۰	P
سفالوسپورین‌ها	سفتریاکسون	۳۰	CRO
آمینوگلیکوزیدها	جنتامایسین	۱۰	GM
کینولون‌ها	سیپروفلوکساسین	۵	CP
سولفانامید (تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول)	کوتریموکسازول	۲۳، ۲۵، ۷۵/۱	SXT
کلرامفنیکل	کلرامفنیکل	۳۰	c
لینکوزومایدها	کلیندامایسین		cc
تتراسایکلین‌ها	تتراسایکلین	۳۰	TE

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی ژن‌های pvl و mecA

ژن	اندازه‌ی قطعات تکثیر شده (جفت بازی)	پرایمر (′3 → ′5)	شماره‌ی منبع
pvl	۵۰۲	F: GGAAACATTTATTCTGGCTATAC R: CTGGATTGAAGTTACCTCTGG	۸،۱۴
mecA	۱۶۲	F: TCCAGATTACAACTTCACCAGG R: CCACTTCATATCTTGTAACG	۸

جدایه‌هایی که حداقل به یک آنتی‌بیوتیک در سه یا تعداد بیشتری از گروه‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی، مقاومت نشان دادند، به عنوان جدایه‌ی دارای الگوی مقاومت دارویی چندگانه در نظر گرفته شدند (۱۳).

تعیین مقاومت به متی‌سیلین: جهت تعیین جدایه‌های مقاوم به متی‌سیلین، از روش دیسک دیفیوژن با استفاده از دیسک سفوکستین ۳۰ میکروگرمی (HiMedia، هند) استفاده گردید. بدین ترتیب، جدایه‌های با هاله‌ی عدم رشد بیشتر یا مساوی ۱۸ میلی‌متر به عنوان جدایه‌ی حساس به سفوکستین، جدایه‌های بین ۱۷–۱۵ میلی‌متر دارای مقاومت متوسط و با قطر هاله‌ی عدم رشد ۱۴ میلی‌متر و کمتر از آن، به عنوان جدایه‌ی مقاوم به سفوکسیتین در نظر گرفته شدند (۱۲).

تشخیص مولکولی و انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase chain reaction یا PCR): استخراج DNA به روش جوشاندن (Boiling) انجام گردید. غلظت و خلوص DNA استخراج شده به وسیله‌ی دستگاه NanoDrop تعیین شد. به منظور تعیین وجود ژن‌های mecA و pvl، تمام جدایه‌ها با استفاده از واکنش PCR بررسی شدند. پرایمرهای اختصاصی طبق جدول ۲، از مقالات معتبر استخراج و پس از اطمینان از صحت آن‌ها، با استفاده از نرم‌افزار Praimer Blast (شرکت سیناکلون) خریداری گردید.

واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر (۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر، ۱ میکرولیتر DNA الگو و ۱۰/۵ میکرولیتر dH_2O) و برنامه‌ی دمایی ذکر شده در جدول ۳، برای هر کدام از ژن‌های مورد بررسی در ۴۰ سیکل PCR با استفاده از دستگاه ترمال سایکلر (Bio Rad، آمریکا) انجام گرفت.

به منظور بررسی نتیجه‌ی PCR و مشاهده‌ی قطعات تکثیر شده، از روش الکتروفورز با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد حاوی رنگ Safe stain استفاده شد. از نشانگر DNA (۱۰۰ bp + ۳K) جهت تعیین وزن مولکولی و بررسی وجود ژن در الکتروفورز استفاده گردید. استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۳۳۵۹۱ به عنوان شاهد مثبت (مقاوم به متی‌سیلین) و استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۲۹۲۳۱ نیز به عنوان شاهد منفی (حساس به متی‌سیلین) مورد استفاده قرار گرفت. همچنین، جدایه‌های pvl مثبت از مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی سینای تبریز تهیه و به عنوان شاهد مثبت استفاده شد.

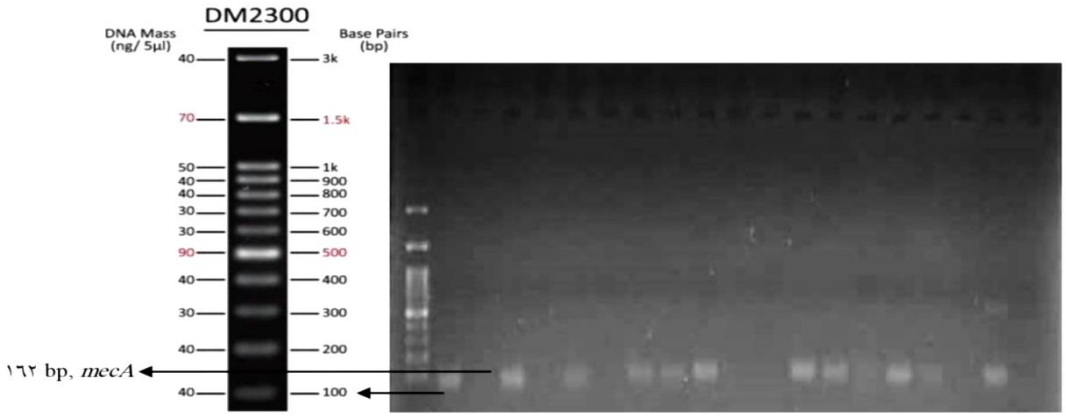
یافته‌ها

از بین جدایه‌های مورد بررسی، ۹۸ جدایه به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس تعیین هویت شد. بیشترین مقاومت جدایه‌های مورد بررسی به پنی‌سیلین با ۹۶/۲ درصد و کمترین مقاومت به کوتریموکسازول با ۱۶ درصد اختصاص داشت. میزان مقاومت نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی به ترتیب نسبت به آموکسی‌سیلین (۹۲/۴ درصد)، آمپی‌سیلین (۸۵/۰ درصد)، سفتریاکسون (۶۴/۱ درصد)، کلیندامایسین (۵۶/۰ درصد)، تتراسایکلین (۴۱/۵ درصد)، سیپروفلوکساسین (۳۴/۰ درصد)، (کلرامفنیکل ۲۰/۰ درصد و جنتامایسین (۱۸/۰ درصد) بود.

نتایج نشان داد که ۶۳ درصد از جدایه‌های مورد بررسی دارای MDR بودند؛ به طوری که ۶۲ درصد جدایه‌ها به سه گروه آنتی‌بیوتیکی، ۵۳ درصد به چهار گروه آنتی‌بیوتیکی، ۵۱ درصد به پنج گروه آنتی‌بیوتیکی و ۲۰ درصد جدایه‌ها به شش گروه آنتی‌بیوتیکی به طور هم‌زمان مقاوم بودند. ۲۶ سویه (۲۵/۵ درصد) از جدایه‌های مورد بررسی با استفاده از دیسک سفوکسیتین، مقاوم به متی‌سیلین تشخیص داده شدند.

جدول ۳. شرایط دمایی Polymerase chain reaction (PCR) ژن‌های mecA و pvl

ژن	مرحله‌ی واسرشت‌سازی اولیه	مرحله‌ی واسرشت‌سازی	مرحله‌ی اتصال	مرحله‌ی طویل شدن زنجیره	مرحله‌ی طویل شدن نهایی
mecA	۹۴ درجه‌ی سانتی گراد، ۵ دقیقه	۹۴ درجه‌ی سانتی گراد، ۳۰ ثانیه	۵۵ درجه‌ی سانتی گراد، ۳۰ ثانیه	۷۲ درجه‌ی سانتی گراد، ۱ دقیقه	۷۲ درجه‌ی سانتی گراد، ۵ دقیقه
pvl	۹۴ درجه‌ی سانتی گراد، ۵ دقیقه	۹۴ درجه‌ی سانتی گراد، ۴۰ ثانیه	۵۵ درجه‌ی سانتی گراد، ۳۰ ثانیه	۷۲ درجه‌ی سانتی گراد، ۵ دقیقه	۷۲ درجه‌ی سانتی گراد، ۱ دقیقه



شکل ۱. نتایج الکتروفورز تکثیر ژن mecA با روش Polymerase chain reaction (PCR)

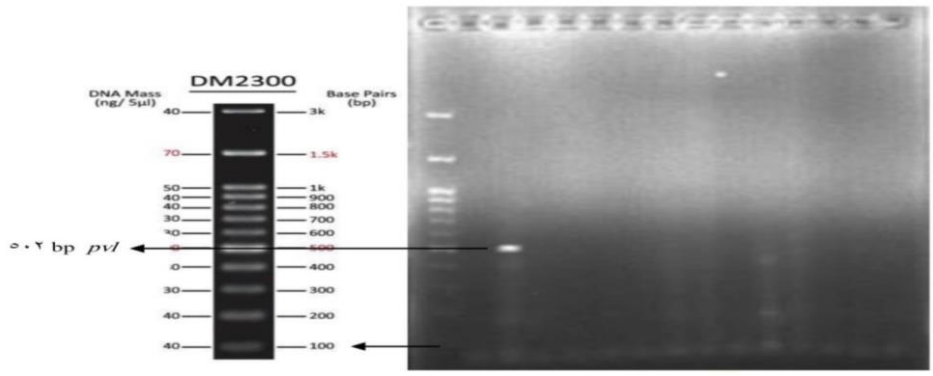
ستون ۱: نشانگر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۲: سویه‌ی استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۳۳۵۹۱ (شاهد مثبت برای ژن mecA)، ستون ۳: سویه‌ی استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۲۹۲۱۳ (شاهد منفی برای ژن mecA)، ستون‌های ۴ تا ۱۵: ایزوله‌های بالینی

نتایج آزمون مولکولی: با استفاده از روش PCR، ۱۳ جدایه (۱۳/۳ درصد) واجد ژن mecA شناسایی شدند. از این ۱۳ جدایه، ۱۱ جدایه در روش فنوتیپی مقاوم به متی‌سیلین و ۲ جدایه حساس به متی‌سیلین تشخیص داده شدند (شکل ۱). نتایج واکنش PCR برای تعیین حضور ژن pvl در جدایه‌های مورد بررسی، نشان دهنده‌ی عدم حضور این ژن در جدایه‌ها بود (شکل ۲).

بحث

مقاومت آنتی‌بیوتیکی، از جمله مشکلات عمده در درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد که باعث بروز مشکلاتی همچون افزایش میزان جراحات وارد شده به بیماران، هزینه‌های درمان، مدت زمان بستری بیماران و از همه مهم‌تر، سبب افزایش میزان مرگ و میر ناشی از این باکتری می‌گردد (۱۵-۱۴).

در مطالعه‌ی حاضر، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی به پنی‌سیلین با ۹۶/۲ درصد و کمترین مقاومت به کوتریموکسازول با ۱۶/۰ درصد در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده گردید. تحقیقات مشابه انجام گرفته در سایر مناطق جهت تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، در برخی موارد نتایج مشابه و در برخی، نتایج متفاوت با پژوهش حاضر را نشان داده‌اند. از جمله در مطالعه‌ی احمدی و همکاران در شهر کرمانشاه، بیشترین مقاومت به پنی‌سیلین (۹۰ درصد) و کمترین مقاومت به ونکومایسین (۱۴ درصد) گزارش شد (۱۶). در تحقیق شکری و همکاران در زنجان نیز بیشترین مقاومت نسبت به پنی‌سیلین با ۱۰۰ درصد، تتراسایکلین با ۶۵ درصد و کمترین مقاومت نسبت به ونکومایسین با ۷/۶ درصد بود (۱۷).



شکل ۲. نتایج الکتروفورز بررسی حضور ژن pvl با روش Polymerase chain reaction (PCR)

ستون ۱: نشانگر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۲: آب مقطر به عنوان شاهد منفی، ستون ۳: سویه‌ی استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس تعیین هویت شده به عنوان شاهد مثبت برای ژن pvl، ستون ۴ به بعد: جدایه‌های مورد بررسی

رضازاده و همکاران در اراک، مقاومت جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس به پنی‌سیلین را ۱۰۰ درصد، به لووفلوکساسین را ۷۰ درصد، به سیپروفلوکساسین را ۷۰ درصد، به کلرامفنیکل را ۰/۷ درصد و به موپیروسین را صفر درصد گزارش کردند (۱۸). در پژوهش Vall و همکاران در فیلیپین، بیشترین مقاومت به پنی‌سیلین و متی‌سیلین عنوان شد و مقاومت به ونکومایسین و تتراسایکلین در جدایه‌ها تشخیص داده نشد (۱۹). در مطالعه‌ی Islam و Shamsuzzaman در بنگلادش نیز ۹۳ درصد از جدایه‌ها به سیپروفلوکساسین و ۸۶ درصد به سفتریاکسون مقاوم بودند و لینزولید به عنوان مؤثرترین دارو بر علیه جدایه‌های مورد بررسی شناخته شد (۲۰).

اختلاف موجود در الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در تحقیقات مختلف، می‌تواند وابسته به حجم نمونه‌ی مورد بررسی، جامعه‌ی آماری تحت مطالعه، منبع اخذ نمونه، کیفیت دیسک‌های آنتی‌بیوتیک مورد استفاده و از همه مهم‌تر، فشار انتخابی آنتی‌بیوتیک مصرفی در منطقه‌ی مورد نظر باشد. نقطه‌ی اشتراک اغلب گزارش‌های موجود، مقاومت بسیار بالای جدایه‌های مورد بررسی به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده‌ی پنی‌سیلین می‌باشد که می‌توان گفت تا حدودی کارایی خود را در درمان عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس‌ها از دست داده‌اند.

در پژوهش حاضر، بررسی مقاومت چندگانه‌ی باکتری‌های مورد بررسی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی نشان داد که ۶۲ درصد از جدایه‌ها به بیش از سه خانواده‌ی آنتی‌بیوتیکی مقاوم بودند. در مطالعه‌ی رحیمی و همکاران، ۴۶ درصد از جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس دارای الگوی MDR بودند (۲۱). نتایج تحقیق نوربخش و ممتاز نشان داد که ۱۰۰ درصد جدایه‌های مورد بررسی، MDR داشتند (۲۲).

با توجه به شیوع سویه‌های MDR، بررسی مستمر جهت بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های استافیلوکوکوس در بیمارستان‌ها امری ضروری به نظر می‌رسد تا با مصرف منطقی و به‌موقع آنتی‌بیوتیک‌ها، از ایجاد مقاومت بیشتر و چند دارویی و انتشار آن در بیمارستان‌ها و جامعه جلوگیری نمود.

در پژوهش حاضر، ۲۵/۵ درصد از جدایه‌های مورد بررسی با استفاده از روش فنوتیپی، مقاوم به متی‌سیلین تشخیص داده شدند. این میزان در مطالعه‌ی رحیمی و همکاران در تهران ۳۰ درصد (۲۱) و در تحقیق رضازاده و همکاران در اراک، ۸۰ درصد گزارش شده است (۱۸). در پژوهش قاسمیان و همکاران در شهر تهران، ۲۹ درصد از جدایه‌های استافیلوکوکوس مورد بررسی، مقاوم به متی‌سیلین بودند (۲۳). این میزان در مطالعات علیزاده و امینی در تهران ۵۰ درصد (۶)، هوایی و همکاران در اصفهان ۴۶/۹ درصد (۸) و شریعتی و همکاران در تهران، ۴۹ درصد (۲۴) عنوان گردید. در تحقیق Islam و Shamsuzzaman در بنگلادش نیز میزان شیوع این سویه‌ها ۴۰ درصد به دست آمد (۲۰). Rengaraj و همکاران در مطالعه‌ی خود، ۴۹/۵ درصد جدایه‌ها را مقاوم به متی‌سیلین گزارش کردند (۲۵). تحقیق Saheb Naher و Al Sa'ady در عربستان سعودی نیز حاکی از مقاومت ۷۱ درصد از جدایه‌های مورد بررسی به متی‌سیلین بود (۲۶).

MRSA می‌توانند مقاومت بالایی نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نشان دهند و روند درمان عفونت‌های ناشی از آن را با مشکل مواجه سازند. بنابراین، تشخیص زودهنگام و درمان به‌موقع، می‌تواند در پیشگیری و کاهش خطر مرگ و میر ناشی از این سویه‌ها مؤثر باشد (۲۷–۲۸). تفاوت‌های موجود بین نتایج پژوهش‌های مختلف، می‌تواند با حجم نمونه‌ی مورد مطالعه، استرس انتخابی آنتی‌بیوتیک در منطقه‌ی مورد بررسی، منشأ باکتری‌های مورد نظر و همچنین، روش تعیین مقاومت به متی‌سیلین مرتبط باشد.

در تحقیق حاضر، ژن mecA در ۱۳ درصد از کل جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی و ۵۰ درصد از جدایه‌ها MRSA یافت شد. در پژوهش‌های احمدی و همکاران در کرمانشاه، ۵۸ درصد (۱۶)، شکری و همکاران در زنجان، ۵۷ درصد (۱۷) و هوایی و همکاران در اصفهان، ۴۷ درصد (۸) جدایه‌ها واجد ژن mecA بودند که تا حدودی با نتایج مطالعه‌ی حاضر همخوانی دارد. در تحقیق Rengaraj و همکاران بر روی ۱۰۹ ایزوله‌ی استافیلوکوکوس اورئوس، ۱۵ ایزوله دارای ژن mecA بودند (۲۵). در پژوهش Vall و همکاران در فیلیپین، ۱۰۰ درصد (۱۹) و در مطالعه‌ی Saheb Naher و Al Sa'ady در عربستان، ۹۱ درصد MRSAها (۲۶) حاوی ژن mecA بودند.

از ۱۳ جدایه‌ی واجد ژن mecA در تحقیق حاضر، ۱۱ جدایه در روش فنوتیپی مقاوم به متی‌سیلین و ۲ جدایه حساس به متی‌سیلین تشخیص داده شدند. تشخیص فنوتیپی MRSA و عدم حضور mecA نشان دهنده‌ی این موضوع است که علاوه بر ژن mecA، سایر ژن‌های سکانس کروموزومی SCCmec یا ژن blaZ می‌تواند عامل مقاومت باشد که نیازمند بررسی مولکولی است. همچنین، حضور ژن mecA در دو جدایه‌ی حساس به متی‌سیلین به روش فنوتیپی، می‌تواند بیان‌کننده‌ی عدم بیان این ژن با وجود حضور آن باشد.

از دیگر اهداف پژوهش حاضر، بررسی حضور ژن pvl در جدایه‌های مورد بررسی بود. مطالعات مختلف حاکی از نقش مهم این ژن در ایجاد مقاومت به متی‌سیلین در استافیلوکوکوس اورئوس است. در مطالعه‌ی حاضر، ژن pvl در هیچ یک از جدایه‌ها یافت نشد. در تحقیق عظیمیان و همکاران در شمال ایران نیز با وجود مقاومت به

متی‌سیلین در سویه‌های مورد بررسی، ژن pvl شناسایی نشد (۱۴).

در پژوهش علیزاده و امینی، ۲/۵ درصد جدایه‌های MRSA واجد ژن pvl بودند (۶). این میزان در مطالعه‌ی ملاعباس‌زاده و همکاران، ۱۱ درصد گزارش شد که ۹۴ درصد آن‌ها، جدایه‌های MRSA بودند (۳). در تحقیق هوایی و همکاران، ۲۳ درصد جدایه‌ها حاوی ژن pvl بودند که ۱۱ جدایه مقاوم به متی‌سیلین و ۱۹ جدایه نیز حساس به متی‌سیلین بودند (۸). در پژوهش Brown و همکاران نیز ۳۵ درصد جدایه‌ها واجد ژن pvl بودند که از این میان، ۸۹ درصد MRSA بودند (۲۹). در مطالعه‌ای که در عربستان سعودی انجام گرفت، از بین ۱۳۵ جدایه‌ی مورد بررسی، ۱۲۷ جدایه به عنوان MRSA تشخیص داده شدند که ۱۸ جدایه دارای ژن pvl بودند (۳۰).

تمامی جدایه‌های مورد بررسی در تحقیق حاضر، جدایه‌های بالینی بودند و نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داده است که ژن pvl اغلب در جدایه‌های اکتسابی از جامعه شناسایی می‌شود و در نمونه‌های بیمارستانی به ندرت مشاهده می‌گردد (۱۰) که این امر می‌تواند توجیهی بر عدم حضور ژن pvl در نمونه‌های مطالعه‌ی حاضر باشد. در تحقیق Bhatta و همکاران در نپال نیز ژن pvl در ۹۰/۴ درصد از جدایه‌های MRSA جدا شده از سطح جامعه شناسایی گردید و فقط در ۷/۱ درصد MRSAهای به دست آمده از بیمارستان‌ها تشخیص داده شده بود (۳۱).

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده‌ی مقاومت بالا و چندگانه آنتی بیوتیکی در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی بود. این مسأله و حضور جدایه‌های MRSA که ۵۰ درصد آن‌ها واجد ژن mecA بودند، باید به عنوان یک موضوع جدی مورد توجه قرار گیرد تا ضمن درمان مؤثر و به‌موقع، از بروز سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و انتشار آن‌ها در بیمارستان‌ها و جامعه جلوگیری به عمل آید.

تشکر و قدردانی

مطالعه‌ی حاضر برگرفته از پایان‌نامه‌ی مقطع کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی با شماره‌ی ۲۲۰۳۰۵۰۷۹۳۲۰۱۱، مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر می‌باشد.

References

1. Brooks G, Carroll KC, Butel J, Morse S. Jawetz, Melnick and Adelbergs medical microbiology. 26th ed. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2012. p. 203-13.
2. Agostino JW, Ferguson JK, Eastwood K, Kirk MD. The increasing importance of community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections. Med J Aust 2017; 207(9): 388-93.
3. Molla-abbaszadeh H, Mobayen H, Mirzaei H. Identification of PantonValentine Leukocidin (PVL) genes in Staphylococcus aureusisolated from In-patients of Emam Reza and Shohada Hospitals of Tabriz by real-time PCR. Iran J Med Microbiol 2013; 6(4): 72-80.
4. Rossney AS, Shore AC, Morgan PM, Fitzgibbon MM, O'Connell B, Coleman DC. The emergence and importation of diverse genotypes of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) harboring the Panton-Valentine leukocidin gene (PVL) reveal that PVL is a poor marker for community-acquired MRSA strains in Ireland. J Clin Microbiol 2007; 45(8): 2554-63.
5. John JF, Lindsay JA. Clones and drones: do variants of Panton-Valentine leukocidin extend the reach of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus? J Infect Dis 2008; 197(2): 175-8.
6. Alizadeh S, Amini K. Determining the presence of virulence genes Panton Valentine leukocidin PVL and methicillin gene mecA in Staphylococcus aureus. Journal of Food Microbiology 2015; 2(1): 49-58. [In Persian].
7. Cupane L, Pugacova N, Berzina D, Cauce V, Gardovska D, Miklasevics E. Patients with Panton-Valentine leukocidin positive Staphylococcus aureus infections run an increased risk of longer hospitalisation. Int J Mol Epidemiol Genet 2012; 3(1): 48-55.
8. Havaei S, 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(315): 2217-25. [In Persian].
9. 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 Pathol 2009; 12(3): 61-9. [In Persian].
10. Sola C, Paganini H, Egea AL, Moyano AJ, Garnero A, Kevric I, et al. Spread of epidemic MRSA-ST5-IV clone encoding PVL as a major cause of community onset staphylococcal infections in Argentinean children. PLoS One 2012; 7(1): e30487.
11. Barrow GI, R. Feltham R. Cowan and Steel's manual for the Identification of Medical Bacteria. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2021.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI supplement M100. 30th ed. Wayne, PA: CLSI; 2020.
13. Naderi Nasab M, Tavakol Afshari J, Nazem M, Fatehmanesh P, Faramarzi H, Khodadost Ma. Determination of methicillin resistant Staphylococcus aureus via phenotypic methods and meca gene study by multiplex PCR. Med J Mashad Univ Med Sci

2005; 48(87): 7-16. [In Persian.[
14. Azimian A, Havaei SA, Fazeli H, Naderi M, Ghazvini K, Samiee SM, et al. Genetic characterization of a vancomycin-resistant Staphylococcus aureus isolate from the respiratory tract of a patient in a university hospital in northeastern Iran. J Clin Microbiol 2012; 50(11): 3581-5.
15. Rasmussen RV, Fowler VG, Skov R, Bruun NE. Future challenges and treatment of Staphylococcus aureus bacteremia with emphasis on MRSA. Future Microbiol 2011; 6(1): 43-56.
16. Ahmadi Z, Tajbakhsh E, Momtaz H. Detection of the antibiotic resistance pattern in Staphylococcus aureus isolated from clinical samples obtained from patients hospitalised in Imam Reza Hospital, Kermanshah. Journal of Microbial World 2014; 6(4): 209-311. [In Persian].
17. Shokri R, Salouti M, Sorouri Zanjani R, Heidari Z. Frequency of meticillin resistant Staphylococcus aureus strains isolated from clinical samples in Mousavi Hospital, Zanjan, and recognition mec A gene using PCR. Journal of Microbial World 2014; 7(1): 58-65. [In Persian].
18. Rezazadeh M, Yousefi Mashouf R, Sarmadyan H, Ghaznavi-Rad E. Comparison of disk diffusionand. Iran South Med J 2014; 17(3): 280-9. [In Persian].
19. Valle DL, Paclibare PA, Cabrera EC, Rivera WL. Molecular and phenotypic characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates from a tertiary hospital in the Philippines. Trop Med Health 2016; 44: 3.
20. Islam T, Shamsuzzaman SM. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of methicillin-resistant, vancomycin-resistant, and Panton-Valentine leukocidin positive Staphylococcus aureus in a tertiary care hospital Dhaka, Bangladesh. Tzu Chi Medical Journal 2015; 27(1): 10-4.
21. Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie M R. Antibiotic resistance pattern of methicillin resistant and methicillin sensitive Staphylococcus aureus isolates in Tehran, Iran. Jundishapur J Microbiol 2013; 6(2): 144-9.
22. Nourbakhsh F, Momtaz H. Detection of antibiotic resistance patterns in Staphylococcus aureus strains isolated from patients admitted to Isfahan hospitals during 2014-2015. Feyz 2015; 19(4): 356-63. [In Persian].
23. Ghasemian A, Peerayeh S, Mirzaee M. Several virulence factors of multidrug-resistant Staphylococcus aureus Isolates from hospitalized patients in Tehran. Int J Enteric Pathog 2015; 3(2): e25196 .
24. 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 .
25. Rengaraj R, Mariappan S, Sekar U, Kamalanadhan A. Detection of vancomycin resistance among Enterococcus faecalis and Staphylococcus aureus. J Clin Diagn Res 2016; 10(2): DC04-DC06.
26. Saheb Naher H, Al Sa'ady A. Genetic study of methicillin resistant S. aureus (MRSA) isolated from neonatal infections. International Journal of Medicine and Pharmaceutical Sciences 2014; 4(5): 41-8.
27. Morrison MA, Hageman JC, Klevens RM. Case definition for community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus. J Hosp Infect 2006; 62(2): 241.
28. Tajik S, Najar Peerayeh S. Clinical significance and characteristics of Community-Acquired Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (CA_MRSA). Lab Diag 2015; 7(27): 56-68. [In Persian].
29. Brown ML, O'Hara FP, Close NM, Mera RM, Miller LA, Suaya JA, et al. Prevalence and sequence variation of panton-valentine leukocidin in methicillin-resistant and methicillin-susceptible staphylococcus aureus strains in the United States. J Clin Microbiol 2012; 50(1): 86-90.
30. Al Yousef SA, Taha EM. Rapid detection of community acquired- methicillin resistance Staphylococcus aureus recovered from King Saudi Arabia. Afr J Microbiol Res 2021; 4(24): 2804-10.
31. Bhatta DR, Cavaco LM, Nath G, Kumar K, Gaur A, Gokhale S, et al. Association of Panton Valentine leukocidin (PVL) genes with methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in Western Nepal: A matter of concern for community infections (a hospital based prospective study). BMC Infect Dis 2016; 16: 199.

DOI: *10.22122/jims.v39i645.14495* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 39, No. 645, 1st Week, January 2022**

Received: 30.08.2021 Accepted: 14.11.2021 Published: 05.01.2022

The Prevalence of Methicillin Resistance and the Presence of mecA and pvl Genes in Staphylococcus aureus Isolated from Valiasr Hospital, Tabriz, Iran

Sara Naebi[1], Mehdi Ghiamirad[2]

Original Article

Abstract

Background: Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) strains are known as a health problem in the world due to their resistance to most antibiotics. Pantone-valentine leucocidin (PVL) is one of the important toxins of this bacterium. The aim of this study was to determine the frequency of methicillin resistance, and to investigate mecA and pvl genes in Staphylococcus aureus isolates from Valiasr hospital in Tabriz, Iran.

Methods: In this cross-sectional study during 2009-2010, 142 Staphylococcus isolates were collected from hospitalized patients and identified using standard laboratory tests. Isolate resistance to common antibiotics in the treatment of staphylococcal infections was evaluated by disk diffusion method, and resistance to methicillin was investigated by cefoxitin disk method. The presence of mecA and pvl genes in the isolates was evaluated using specific primers and polymerase chain reaction (PCR) method.

Findings: Of the studied isolates, 98 isolates were identified as Staphylococcus aureus. The highest antibiotic resistance level was observed against penicillin with 96.2%, and the lowest was determined against cotrimaxazole with 16.0%. Multidrug resistance (MDR) was observed in 63% of isolates. 26 isolates were identified as methicillin-resistance by phenotypic method. The mecA gene was detected in 13 isolates, of which 11 isolates were detected resistant and 2 isolates were sensitive to methicillin in the phenotypic tests. The pvl gene was not detected in any of the isolates.

Conclusion: The presence of high and multidrug-resistance to common antibiotics and the presence of methicillin-resistant isolates of Staphylococcus aureus in different wards of the hospital should be considered as a serious issue.

Keywords: Staphylococcus aureus; Methicillin resistance; Nosocomial infections

Citation: Naebi S, Ghiamirad M. **The Prevalence of Methicillin Resistance and the Presence of mecA and pvl Genes in Staphylococcus aureus Isolated from Valiasr Hospital, Tabriz, Iran.** J Isfahan Med Sch 2022; 39(645): 778-85.

1- Department of Microbiology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Ahar Branch, Ahar, Iran
2- Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Ahar Branch, Ahar, Iran
Corresponding Author: Mehdi Ghiamirad, Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Science, Islamic Azad University, Ahar Branch, Ahar, Iran; Email: ramaghroori@yahoo.com