

Molecular Analysis and Typing of Methicillin Resistance Staphylococcus Aureus Strains Isolated from Hospitalized Patients

Parnaz Abiri¹, Abbas Akhavan sepahi¹, Mehdi Goudarzi^{2*}

1. Department of Microbiology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

2. Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, Iran

(Received: 2018/07/22

Accept: 2018/08/5)

Abstract

Background: The prevalence of *Staphylococcus aureus*, as one of the most common nosocomial pathogens, is increasing annually and is becoming a major public health concern. One of the serious threats associated with clinical isolates of MRSA is lack of data regarding the molecular characterization of these isolates. The aim of the present study was to identify resistance encoding genes and molecular characteristics of methicillin-resistant *S. aureus* strains isolated from hospitalized patients in 2017.

Materials and Methods: During a 10-month period, 112 MRSA strains isolated from hospitalized patients were investigated. *In vitro* antimicrobial susceptibility of the isolates was assessed using the disk diffusion and micro-broth dilution methods. Conventional PCR was performed to detect resistance encoding genes. Different types of SCCmec were analyzed using multiplex PCR.

Results: The results of antibiotic susceptibility testing showed that 91.1% of isolates were resistant to penicillin, 65.2% to ceftriaxon, 63.4% to erythromycin, 56.3% to kanamycin, 52.7% to Clindamycin, 50% to amikacin, 45.5% to gentamicin, 26.8% to tobramycin, 18.8% to quinupristin/dalfopristin, and 11.6% were resistant to trimetoprim-sulfamethoxazole. The most prevalent resistance gene belonged to *ant(4')-Ia* (73.2%) followed by *aac(6')-Ie/aph(2'')* (59.8%), *tet(M)* (57.1%), *msr(A)* (36.7%), *aph(3')-IIIa* (35.7%), *erm(A)* (33.9%), *msr(B)* (24.1%), *erm(B)* (17%), *erm(C)* (15.2%), and *mupA* (10.7%). Our findings revealed that the most common SCCmec type was III (53.6%) followed by types I (23.3%), IV (14.3%), and II (8.9%). High-level mupirocin-resistant strains belonged to SCCmec types III (5.4%), IV (4.4%), and I (0.9%), while all the low-level mupirocin resistant strains belonged to SCCmec type III (15.2%).

Conclusions: It seems that there is a genetic diversity among MRSA circulating in studied hospitals that highlights the need to implement appropriate infection control policies in order to decrease dissemination of multi-drug resistance MRSA types in our hospitals.

Keywords: *S. aureus*; SCCmec; MRSA

* Corresponding: Mehdi Goudarzi*
Email:gudarzim@yahoo.com

آنالیز مولکولی و تایپینگ سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان

برناز عبیری^۱، عباس اخوان سپهری^۱، مهدی گودرزی^{۲*}

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران
۲- گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۵/۱۴

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۴/۳۱

چکیده:

سابقه و هدف: شیوع استافیلوکوک اورئوس به عنوان یکی از شایع‌ترین پاتوژن‌های بیمارستانی سالانه در حال افزایش بوده و در حال تبدیل شدن به یک نگرانی عمده سلامت عمومی است. یکی از تهدیدهای جدی مرتبط با جدایی‌های بالینی *MRSA*، نبود اطلاعات در مورد ویژگی‌های مولکولی این جدایه‌هاست. هدف از این مطالعه، شناسایی ژن‌های کدکننده مقاومت و خصوصیات مولکولی سویه‌های *MRSA* جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان در سال ۱۳۹۷ بود. مواد و روش‌ها: در طول یک مطالعه ۱۰ ماهه، تعداد ۱۱۲ سویه *MRSA* جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان بررسی شدند. مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها به روش دیسک‌دیفیوژن و میکروبراث دایلوژن بررسی شد. تکنیک *PCR* برای شناسایی ژن‌های کدکننده مقاومت انجام شد. تایپ‌های مختلف *SCCmec* به وسیله *multiplex PCR* آنالیز شد.

یافته‌ها: نتایج تست حساسیت میکروبی نشان داد که ۹۱/۱ درصد از ایزوله به پنی‌سیلین، ۶۵/۲ درصد به سفتریاکسون، ۶۳/۴ درصد به اریترومايسين، ۵۶/۳ درصد به کانامایسین، ۵۲/۷ درصد به کلیندامایسین، ۵۰ درصد به آمیکاسین، ۴۵/۵ درصد به جنتامایسین، ۲۶/۸ درصد به توبرامایسین، ۱۸/۸ درصد به کوئینوپریستین-دالفوپریستین، ۱۱/۶ درصد به تریموتریم سولفاموتوکسازول مقاومت داشتند. بیشترین ژن مقاومت متعلق به *ant (Ia-4')* (۷۳/۲ درصد) و پس از آن *aac (6)-IeI aph (6)* (۲۳/۲ درصد)، *erm(C)* (۵۹/۸ درصد)، *tet(M)* (۵۷/۶ درصد)، *msr(A)* (۳۶/۷ درصد)، *aph (IIIa-3')* (۳۵/۷ درصد)، *erm(A)* (۳۳/۹ درصد)، *(msr)B* (۲۴/۱ درصد)، *erm(B)* (۱۷ درصد)، *erm(C)* (۱۵/۲ درصد) و *mupA* (۱۰/۷ درصد) بود. شایعترین تایپ *SCCmec* تایپ سه (۵۳/۶ درصد) و سپس تایپ یک (۲۳/۲ درصد)، تایپ چهار (۱۴/۳ درصد) و تایپ دو (۸/۹ درصد) بود. سویه‌های با مقاومت سطح بالا نسبت به موپروسین متعلق به *SCCmec* تایپ سه (۵/۴ درصد)، تایپ چهار (۴/۴ درصد) و تایپ یک (۰/۹ درصد) بودند در حالی که تمامی ایزوله‌های با مقاومت سطح پایین نسبت به موپروسین متعلق به *SCCmec* تایپ سه بودند. نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد یک تنوع ژنتیکی در بین سویه‌های در حال چرخش در بیمارستان‌های مورد مطالعه بود که نیاز برای اجرای سیاست کنترل عفونت مناسب برای کاهش انتشار تایپ‌های *MRSA* مقاوم به چند دارو تاکید می‌کند.

واژگان کلیدی: استافیلوکوک اورئوس، استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، *SCCmec*

مقدمه:

نفر در جهان به عفونت‌های بیمارستانی مبتلا می‌شوند که از این تعداد حدود ۱۰۰ هزار نفر در اثر این عفونت‌ها از بین می‌روند. آمار ابتلا به عفونت‌های بیمارستانی در کشورهای صنعتی و توسعه یافته حدود ۵ تا ۱۰ درصد است در حالی که در کشورهای در حال توسعه این میزان به ۲۰ تا ۲۵ درصد افزایش می‌یابد. به طور کلی میزان عفونت بیمارستانی در جهان بین ۴ تا ۴۷ درصد گزارش شده است (۱، ۲). هر چند عوامل میکروبی متعددی در بروز عفونت‌های بیمارستانی نقش داشته و

عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان که به دنبال پذیرش بیمار در بیمارستان رخ می‌دهند، به عنوان یک معضل جهانی رو به افزایش در بسیاری از مراکز بهداشتی-درمانی مطرح بوده و ارتباط معناداری با افزایش مدت زمان بستری، شکست درمان و حتی افزایش میزان مرگ‌ومیر در بیماران بستری در بیمارستان‌ها دارند (۱). بر اساس آخرین اطلاعات ارائه شده توسط مرکز کنترل بیماری‌ها (CDC)، سالانه ۲ میلیون

نویسنده مسئول: مهدی گودرزی

پست الکترونیک: gudarzim@yahoo.com

سازنده استخراج و پس از تایید خلوص DNA با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری، از تکنیک PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی nuc شرکت Takara Shuzo (Co., Ltd., Shiga, Japan) برای تکثیر ژن nuc استفاده شد (۱۳، ۱۴). محصول PCR ژن‌های فوق پس از الکتروفورز روی ژل آگارز با غلظت ۱/۲ درصد در شرایط اختلاف پتانسیل ۸۰ ولت، به مدت دو ساعت و رنگ آمیزی با محلول اتیدیوم بروماید، به صورت قطعه‌هایی به طول ۲۷۰ جفت باز قابل مشاهده بود. این تحقیق از سوی کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی به شماره (IR.SBMU.MSP.REC.1396.148) تایید شد.

شناسایی سویه‌های MRSA:

برای شناسایی سویه‌های MRSA از دو روش فوتیپی و ژنوتیپی استفاده شد. در روش فوتیپی بر اساس کربی بائر دیسک دیفیوژن از دو دیسک سفوکسیستین (۳۰ میکروگرم) و اگزاسیلین (یک میکروگرم) روی پلیت‌های مولر هینتون آگار حاوی ۴ درصد NaCl بر اساس دستورالعمل موسسه استاندارد آزمایشگاه و بالین (CLSI) استفاده شد (۱۵). پس از تایید فوتیپی، تمامی سویه‌ها به روش ژنوتیپی و با استفاده از تکنیک PCR برای وجود ژن *mecA* بررسی شدند (۱۶). محصول PCR ژن *mecA* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی، قطعه‌ای به طول ۵۸۳ جفت باز بود. سویه‌های تایید شده به عنوان MRSA در محیط تریپتیکس سوی برات (TSB; Merck, Germany) حاوی ۲۰ درصد گلیسرول در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد برای انجام سایر آزمایش‌ها و تست‌های مولکولی ذخیره شدند.

تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی:

مقاومت دارویی ایزوله‌های MRSA نسبت به ۱۴ آنتی‌بیوتیک سپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، سفتریکسون (۳۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، کانامایسین (۳۰ میکروگرم)، تتراسیکلین (۳۰ میکروگرم)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، لینزولید (۳۰ میکروگرم)، تیکوپلان (۳۰ میکروگرم)، کوئینپروستین-دالفوپریستین (۱۵ میکروگرم)، توبرامایسین (۱۰ امی‌گرم)، نامایسین (۱۰ میکروگرم) و تریموتریم سولفامتوکسازول (۵، ۲ میکروگرم) خریداری شده از شرکت روسکو دانمارک به روش دیسک دیفیوژن و بر اساس رهنمودهای CLSI بررسی شد (۱۵). به این منظور تعدادی از کلنی باکتری در سرم فیزیولوژی استریل حل شد تا کدورتی برابر با کدورت استاندارد نیم مک فارلند حاصل شود. سپس از سوسپانسیون ذکر شده روی محیط مولر هینتون آگار به روش کشت انبوه کشت داده و دیسک‌های آنتی‌بیوتیک با فاصله استاندارد روی محیط کشت قرار گرفتند و سپس نتایج بر اساس دستورالعمل CLSI پس از ۲۴-۱۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرائت شد (۱۵). حداقل غلظت مهارکنندگی (minimum inhibitory concentration; MIC) برای آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین و مویروسین با استفاده از روش میکرو برات دایلوژن و مطابق با روش شرح داده شده توسط گودرزی و همکاران تعیین شد (۷). برای تعیین مقاومت القایی و ساختاری در بین سویه‌های بررسی شده از تست D و با استفاده از دیسک‌های کلیندامایسین (۲ میکروگرم) و اریترومایسین (۱۵ میکروگرم) با فاصله ۱۵-۲۶ میلی‌متر از همدیگر استفاده شد. بر اساس رهنمودهای CLSI، وجود یک ناحیه مهار رشد به شکل حرف D به طوری که سطح مسطح آن رو به اریترومایسین باشد یا وجود هر گونه رشد در چاهک حاوی ۴ میکروگرم در میلی‌لیتر اریترومایسین و ۰/۵ میکروگرم در لیتر کلیندامایسین بیانگر مقاومت القایی است (۹، ۱۵). سویه‌هایی با مقاومت همزمان به ۳ یا بیشتر از سه کلاس مختلف آنتی‌بیوتیک (علاوه بر آنتی‌بیوتیک‌های بتا-لاکتام‌ها) به عنوان سویه‌های با مقاومت چندگانه دارویی (Multi-drug resistance; MDR) در نظر گرفته شدند (۱۴، ۱۷). برای اطمینان از صحت انجام کار و همچنین بررسی کنترل کیفی دیسک‌ها و پودرهای آنتی‌بیوتیک از سویه استاندارد استافیلوکوک اورئوس ATCC25923 و ATCC29213 به عنوان سویه‌های استاندارد در هر بار انجام آزمایش استفاده شد.

شناسایی ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی:

تمامی سویه‌های MRSA از نظر ژن‌های کدکننده مقاومت شامل (*mecA*, *vanA*, *vanB*, *mupB*, *mupA*, *erm(A)*, *erm(B)*, *erm(C)*, *msr(A)*, *msr(B)*, *tet(M)*, *ant* (4'), *Ia*, *aac* (6')-*Ie/aph* (2''), *aph* (3')-*IIIa*)

سالانه در حال تغییر هستند ولی از دهه ۱۹۵۰ استافیلوکوک اورئوس به عنوان یکی از شایع‌ترین عوامل ایجادکننده عفونت بیمارستانی مطرح بوده است (۳). به دلیل افزایش میزان مقاومت در بین سویه‌های استافیلوکوک اورئوس، آمار عفونت‌های بیمارستانی ناشی از این باکتری در سال‌های اخیر نسبت به گذشته، افزایش قابل توجهی پیدا کرده است. یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین الگوی مقاومت در بین سویه‌های استافیلوکوک اورئوس، مقاومت به متی‌سیلین *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) است که به دلیل حضور ژن کروموزومی *mecA* رخ می‌دهد (۳). ژن *mec* در ناحیه *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* (SCC*mec*) وجود دارد. این کاست متشکل از سه قسمت *mec complex*، *ccr complex* و *J.region* است. بر اساس خصوصیات این منطقه ژنی، پنج تیپ اصلی از SCC*mec* (تیپ I-V) وجود دارد. تیپ‌های I و IV و V بیشتر سبب مقاومت به متی‌سیلین و سایر بتا-لاکتام‌ها می‌شوند، در حالی که تیپ‌های II و III اغلب سبب ایجاد مقاومت‌های چندگانه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود (۴-۶).

ونکومایسین به عنوان یکی از داروهای مهم و کارآمد در درمان بیماران آلوده با سویه‌های MRSA محسوب می‌شود ولی ظهور سویه‌های مقاوم به ونکومایسین در نقاط مختلف جهان گزارش شده است (۷). از دیگر آنتی‌بیوتیک‌های پرکاربرد در درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط MRSA و همچنین در بیماران دارای آلرژی به پنی‌سیلین‌ها، آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولیدها، لینکوزامیدها و استرپتوگرامین B است (۸). مقاومت به ماکرولیدها به دلیل پمپ‌های افلاکس (ژن‌های *msrA*, *msrB*) یا آنزیم ژن‌های کدکننده متیلاز (*ermA*, *ermB*, *ermC*) انجام می‌شود (۱۰). امروزه به دلیل استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک مویروسین، مقاومت به آن در سرتاسر دنیا و بخصوص ایران در حال افزایش است. سطح پایین مقاومت با جهش در ژن کروموزومی *ileS*، سطح بالای مقاومت به کمک ژن *mupA* پلاسמידی و سطح بسیار بالای مقاومت به کمک ژن *mupB* پلاسמידی کد می‌شود (۱۱). از دیگر مقاومت‌های شایع در بین ایزوله‌های بالینی استافیلوکوک‌ها، مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزید است که بیشتر توسط ژن‌های *ant* (4')-*Ia*, *aph* (3')-*IIIa*, *aac* (6')-*Ie/aph* (2'') کد می‌شوند (۹، ۱۲).

امروزه درمان و پیشگیری از عفونت‌های ناشی از سویه‌های MRSA به دلیل وجود مقاومت همزمان به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با مشکل مواجه شده است، به طوری که روز به روز تعداد آنتی‌بیوتیک‌های در دسترس برای درمان این عفونت‌ها کاهش می‌یابد (۱، ۷). با توجه به اهمیت سویه‌های MRSA در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی، بررسی الگوی مقاومت دارویی و همچنین تعیین فراوانی تایپ‌های مختلف SCC*mec* به صورت روتین و تعیین الگوی توکسینی خاصی از این باکتری در انتخاب موثر روش‌های پیشگیری و درمانی عفونت‌های بیمارستانی ناشی از این باکتری بسیار حیاتی است. بنابراین هدف از این پژوهش مولکولار، تایپینگ سویه‌های MRSA جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های تهران بر اساس آنالیز کاست کروموزومی *mec* و همچنین تعیین الگوی ژنتیکی مقاومت در بین این سویه است.

مواد و روش‌ها:

جمع‌آوری نمونه:

در این مطالعه مقطعی که در یک دوره ۱۰ ماهه از فروردین تا دی ۹۶ انجام شد، ۱۱۲ ایزوله استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین ایجادکننده عفونت در بیماران بستری که از نمونه‌های مختلف بالینی نظیر زخم (۶۱ نمونه: ۵۴/۵ درصد)، خون (۲۲ نمونه: ۱۹/۶ درصد)، چرک (۱۲ نمونه: ۱۰/۷ درصد)، کاتتر (۹ نمونه: ۸ درصد) و مایعات بدن (۸ نمونه: ۷/۱ درصد) جداسازی شد بود، بررسی شدند. نمونه‌هایی که پس از ۷۲ ساعت از پذیرش در بخش‌های مختلف، از بیمار جداسازی شد به شرطی که هنگام پذیرش بیمار فاقد عفونت مذکور بود، به عنوان عفونت بیمارستانی قلمداد شد (۱۴). نمونه‌ها در کوتاه‌ترین زمان ممکن و در عرض کمتر از ۴ ساعت به آزمایشگاه منتقل شدند. برای شناسایی فوتیپی سویه‌های استافیلوکوک اورئوس از روش‌های استاندارد میکروپشناسی شامل رنگ‌آمیزی گرم، کشت در محیط مانیتول سالت آگار (MSA; Merck, Germany)، تست کوآگولاز، تست کاتالاز، تست DNase، استفاده شد. برای تعیین هویت قطعی سویه‌ها، ابتدا DNA باکتری با استفاده از کیت استخراج کیازن QIAamp (Qiagen, Hilden, Germany) و طبق دستورالعمل شرکت

تجزیه و تحلیل داده‌ها:

در این مطالعه اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار SPSS (version 18.0) (SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده شد.

یافته‌ها:**جمع‌آوری نمونه‌ها:**

در این مطالعه مقطعی تعداد ۱۱۲ سویه MRSA جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان مورد بررسی قرار گرفتند. همه سویه‌ها از نظر وجود ژن *mecA* مثبت بودند و به لحاظ فنوتیپی نیز به متی‌سیلین مقاومت نشان دادند. شکل شماره ۱ نتیجه محصول PCR ژن *mecA* بعد از انجام الکتروفورز را نشان می‌دهد. وجود باند ۵۸۳ جفت بازی نشان دهنده مثبت بودن از نظر وجود ژن *mecA* بود. در این مطالعه، ۷۳

پرایمرها و طول قطعه‌های شرح داده شده در جدول شماره یک بررسی شدند.

شناسایی SCCmec تایپ‌های مختلف با روش Multiplex PCR:

تایپ‌های مختلف SCCmec با استفاده از پرایمرهای اختصاصی اشاره شده در جدول زیر و روش شرح داده شده از سوی Boy و همکاران (۵) تعیین شد. از سویه ATCC ۱۰۴۴۲ به عنوان سویه استاندارد SCCmec تیپ I، از سویه N315 به عنوان سویه استاندارد SCCmec تیپ II، از سویه ۲۰۸۲/۸۵ به عنوان سویه استاندارد SCCmec تیپ III، از سویه MW2 به عنوان سویه استاندارد SCCmec تیپ IV و از سویه WIS به عنوان سویه استاندارد SCCmec تیپ V استفاده شد.

توالی پرایمرهای استفاده شده در این تحقیق

ژن	پرایمر	توالی الیگونوکلوئیدی پرایمر	سایز محصول (جفت باز)	رفرانس
<i>nucA</i>	F R	GCGATTGATGGTGATACGGTT AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC	270	(14)
<i>mecA</i>	F R	AGAAGATGGTATGTGGAAGTTAG ATGTATGTGCGATTGTATTGC	583	(13)
<i>ant(4')-Ia</i>	F R	AATCGGTAGAAGCCCAA GCACCTGCCATTGCTA	135	(9)
<i>aac(6')-Ie/aph(2'')</i>	F R	CCAAGAGCAATAAGGGCATAACC CACACTATCATAACCACT	222	(9)
<i>aph(3')-IIIa</i>	F R	CTTGATCGAAAAATACCGCTGC TCATACTCTCCGAGCAAAA	269	(9)
<i>ermA</i>	F R	TATCTTATCGTTGAGAAGGGATT CTACACTTGGCTGATGAAA	139	(18)
<i>ermB</i>	F R	CTATCTGATTGTTGAAGAAGCATT GTTTACTCTTGGTTTAGGATCAAAA	141	(18)
<i>ermC</i>	F R	AATCGTCAATTCTGCATGT TAATCGTGGAATACGGGTTTG	299	(19)
<i>msrA</i>	F R	GGCACAATAAGAGTG TTTAAAGG AAGTTATATCATGAATAGATTGTCCTGTT	940	(20)
<i>msrB</i>	F R	TATGATATCCATAATAATTATCCAATC AAGTTATATCATGAATAGATTGTCCTGTT	595	(20)
<i>mupA</i>	F R	CCCATGGCTTACCAGTTGA CCATGGAGCACTATCCGA	1158	(21)
<i>tetM</i>	F R	AGTGGAGCGATTACAGAA CATATGTCTTGGCGTGTCTA	158	(9)

سویه مورد بررسی (۶۵/۲ درصد) از بیماران مرد و ۳۹ سویه از بیماران زن (۳۴/۸ درصد) جداسازی گردید. میانگین سنی بیماران ۳۷/۲ سال و رنج سنی بیماران بین ۱ تا ۶۹ سال برآورد شد. بیماران در چهار گروه سنی زیر ۲۰ سال (۹/۸ درصد)، بین ۲۱-۴۵ سال (۲۰/۵ درصد)، بین ۴۶-۶۰ سال (۵۴/۵ درصد) و گروه سنی بیماران بالای ۶۰ سال (۱۵/۲ درصد) طبقه بندی شدند.

جدول شماره یک. توزیع الگوی فنوتیپی مقاومت در ایزوله‌های MRSA جدا شده از نمونه‌های بالینی مختلف

مقاومت دارویی همزمان	الگوی فنوتیپی مقاومت	تعداد ایزوله‌ها (درصد)	نوع نمونه (تعداد: درصد)
۹ دارو	پنی‌سیلین، سفتریاکسون، اریترومايسين، تتراسایکلین، جنتامایسین، موپیروسین، کانامایسین، آمیکاسین، کوئینوپریستین-دالفوپریستین	۱۲ (۱۰/۷)	زخم (۸: ۶۶/۷)، خون (۳: ۲۵)، چرک (۱: ۸/۳)
۷ دارو	پنی‌سیلین، سفتریاکسون، اریترومايسين، کلیندامایسین، تتراسایکلین، کانامایسین، آمیکاسین	(۳۱: ۲۷/۷)	زخم (۱۲: ۳۸/۷)، خون (۸: ۲۵/۸)، چرک (۱۹/۴: ۶: کاتتر (۱۶/۱: ۵))
۶ دارو	پنی‌سیلین، سفتریاکسون، کلیندامایسین، اریترومايسين، جنتامایسین، توبرامایسین	۲۸ (۲۵)	زخم (۱۶: ۵۷/۱)، خون (۳: ۱۰/۷)، کاتتر (۱۴/۳: ۴: مایعات (۱۷/۹: ۵))
۵ دارو	پنی‌سیلین، آمیکاسین، تتراسایکلین، کانامایسین، تریموتریم سولفامتوکسازول	۱۳ (۱۱/۶)	زخم (۳: ۲۳/۱)، مایعات (۳: ۲۳/۱)، چرک (۳۳/۱: ۴: خون (۳۰/۷: ۴))
۴ دارو	پنی‌سیلین، تتراسایکلین، جنتامایسین، موپیروسین	۱۰ (۸/۹)	زخم (۴: ۴۰)، چرک (۲: ۲۰)، خون (۴: ۴۰)
۴ دارو	پنی‌سیلین، کانامایسین، کوئینوپریستین-دالفوپریستین، موپیروسین	۷	زخم (۷: ۱۰۰)
۲ دارو	کوئینوپریستین-دالفوپریستین، تتراسایکلین	۲	زخم (۲: ۱۰۰)

تعیین حساسیت میکروبی:

تست تعیین حساسیت میکروبی روی ۱۱۲ نمونه MRSA به روش دیسک دیفیوژن نشان داد که از ۱۱۲ سویه بررسی شده، ۹۱/۱ درصد به پنی‌سیلین، ۶۵/۲ درصد به سفتریاکسون، ۴۳/۴ درصد به اریترومايسين، ۵۶/۳ درصد به کانامایسین، ۵۲/۷ درصد به کلیندامایسین، ۵۰ درصد به آمیکاسین، ۴۵/۵ درصد به جنتامایسین، ۲۶/۸ درصد به توبرامایسین، ۱۸/۸ درصد به کوئینوپریستین-دالفوپریستین، ۱۱/۶ درصد به تریموتریم سولفامتوکسازول مقاومت نشان دادند. نتایج نشان داد که ۱۰۱ سویه MRSA (۹۰/۲ درصد) دارای مقاومت چندگانه دارویی بوده و به عنوان سویه‌های MDR در نظر گرفته شدند. همه ایزوله‌ها به ونکومايسين، تیکوپلانیل و لینزولید حساس بودند. بیشترین مقاومت همزمان دارویی در بین سویه‌های بررسی شده به ترتیب شامل مقاومت همزمان به هفت دارو (۲۷/۷ درصد)، شش دارو (۲۵ درصد)، پنج دارو (۱۱/۶ درصد)، چهار دارو (۱۵/۲ درصد)، ۹ دارو (۱۰/۷ درصد) و دو دارو (۱/۸ درصد) بود. تعداد ۸ ایزوله (۷/۱ درصد) فقط به یک آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند و یک ایزوله (۹ درصد) فاقد هر گونه مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بررسی شده بود. نتایج تست MIC برای ونکومايسين نشان داد که رشد ۳۳/۹ درصد از سویه‌ها در غلظت ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر ونکومايسين، ۴۳/۸ درصد در غلظت یک میکروگرم در میلی‌لیتر ونکومايسين و ۲۲/۳ درصد در غلظت دو میکروگرم در میلی‌لیتر ونکومايسين مهار شدند. بر اساس نتایج میکروبراث دایلوژن، از ۲۹ ایزوله مقاوم به موپیروسین، ۱۲ ایزوله (۱۰/۷ درصد) دارای مقاومت سطح بالا نسبت به موپیروسین (HLMUPR) و ۱۷ ایزوله (۱۵/۲ درصد) دارای مقاومت سطح پایین نسبت به موپیروسین بودند. بر اساس نتایج حاصل از دیسک دیفیوژن و میکروبراث دایلوژن، ۵۹ ایزوله (۵۲/۷ درصد) دارای مقاومت ساختاری و ۱۲ ایزوله (۱۰/۷ درصد) دارای مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین بودند. توزیع الگوهای مختلف فنوتیپی مقاومت در بین ایزوله‌های مختلف بالینی در جدول شماره یک قابل مشاهده است.

توزیع ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی:

نتایج حاصل از PCR ژن‌های کدکننده توکسین نشان داد که به ترتیب بیشترین میزان فراوانی ژن‌های کد مقاومت متعلق به 2/73 *ant(4')-Ia* (۸۲ درصد)، 67% *tet(M)* (8/59%)، 6' *-Ie/aph(2'')* (۵۷/۱ درصد)، 64% *msr(A)* (۳۶/۷ درصد)، ۴۱% *aph(3')-IIIa* (۳۵/۷ درصد)، ۴۰% *erm(A)* (۳۳/۹ درصد)، 38% *msr(B)* (۲۴/۱ درصد)، 27% *erm(B)* (۱۷ درصد)، ۱۹% *erm(C)* (۱۵/۲ درصد) و ۱۷% *mupA* (۱۰/۷ درصد) گزارش شد. حضور همزمان ژن‌های *ant(4')-Ia* و *ant(6')-Ie/aph(2'')* در ۴۲ ایزوله (۳۷/۵ درصد)، ژن‌های *ant(4')-Ia*، *aph(3')-IIIa* و *ant(6')-Ie/aph(2'')* در ۲۵ ایزوله

(۲۲/۳ درصد) و ژن‌های *ant(4')-Ia* و *aph(3')-IIIa* در ۱۵ نمونه (۱۳/۴ درصد) به دست آمد.

تیپ‌بندی SCCmec در باکتری‌های MRSA:

آنالیز نتایج حاصل از Multiplex PCR نشان داد که توزیع تیپ‌های مختلف SCCmec در مطالعه حاضر به ترتیب فراوانی شامل تیپ سه (۵۳/۶ درصد)، ۶۰ تیپ یک (۲۳/۲ درصد)، ۲۶ تیپ چهار (۱۴/۳ درصد) و تیپ دو (۸/۹ درصد) ۱۰ بود. تمامی ایزوله‌های با مقاومت القایی به کلیندامایسین متعلق به SCCmec تایپ سه بودند در حالی که از ۵۹ ایزوله (۵۲/۷ درصد) با مقاومت ساختاری، تعداد ۳۱ ایزوله متعلق به SCCmec تایپ سه (۵۲/۵ درصد)، ۱۸ ایزوله متعلق به تیپ یک (۳۰/۶ درصد) و ۱۰ ایزوله متعلق به تیپ چهار (۱۶/۹ درصد) بودند. از ۱۲ ایزوله (۱۰/۷ درصد) که دارای مقاومت سطح بالا نسبت به موپیروسین بودند تعداد ۶ ایزوله (۵/۴ درصد) متعلق به SCCmec تایپ سه، ۵ ایزوله متعلق به SCCmec تایپ چهار (۴/۴ درصد) و یک ایزوله متعلق به SCCmec تایپ یک (۰/۹ درصد) بودند. همه ۱۷ ایزوله (۱۵/۲ درصد) دارای مقاومت سطح پایین نسبت به موپیروسین متعلق به SCCmec تایپ سه بودند. لازم به ذکر است که از ۱۱۲ ایزوله بررسی شده، تعداد ۲۷ ایزوله (۲۴/۱ درصد) هیچ کدام از ژن‌های مقاومت را با خود حمل نمی‌کردند که از این تعداد ۱۹ ایزوله (۷۰/۴ درصد) متعلق به SCCmec تایپ سه و ۸ ایزوله (۳۹/۶ درصد) SCCmec تایپ یک بود. توزیع الگوی ژنتیکی مقاومت در بین تیپ‌های مختلف SCCmec در جدول شماره ۲ قابل مشاهده است.

بحث و نتیجه‌گیری:

تحقیق حاضر نشان داد که ۱۱۲ ایزوله MRSA بررسی شده در این مطالعه بیشتر از نمونه‌های کلینیکی زخم (۵۴/۵ درصد)، خون (۱۹/۶ درصد) جداسازی شده بودند که این نتیجه با نتایج سایر مطالعه‌های پیشین مبنی بر این نقش MRSA در ایجاد عفونت‌های خون و زخم در بیماران بستری در بیمارستان مطابقت داشتند (۸، ۱۴). در سال‌های اخیر به دلیل استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها و انتشار ژن‌های مقاوم در بین

جدول ۲. توزیع تیپ‌های SCCmec بر حسب الگوی ژنتیکی مقاومت به آنتی‌بیوتیک در ایزوله‌های MRSA جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان

تعداد (درصد)	چهار تعداد (درصد)	سه تعداد (درصد)	دو تعداد (درصد)	یک تعداد (درصد)	تیپ های مختلف SCCmec الگوی ژنتیکی مقاومت
۲۵ (۲۲/۳)	۷ (۲۸)	۱۱ (۴۴)	۲ (۸)	۵ (۲۰)	<i>ant (4')-Ia, aac (6')-Ie/aph (2''), aph (3')-IIIa, tet(M)</i>
۱۵ (۱۳/۴)		۸ (۵۳/۴)	۵ (۳۳/۳)	۲ (۱۳/۳)	<i>Ant (4')-Ia, aac (6')-Ie/aph (2''), erm(A), erm(B), msr(A), msr(B)</i>
۱۲ (۱۰/۷)		۷ (۵۸/۳)		۵ (۴۱/۷)	<i>ant (4')-Ia, aph (3')-IIIa, tet(M), erm(A), erm(C), msr(A)</i>
۱۱ (۹/۸)	۴ (۳۶/۳)	۵ (۴۵/۵)	۱ (۹/۱)	۱ (۹/۱)	<i>ant (4')-Ia, aac (6')-Ie/aph (2''), tet(M), erm(A), msr(A)</i>
۱۰ (۸/۹)	۵ (۵۰)	۴ (۴۰)	۱ (۱۰)		<i>ant (4')-Ia, aac (6')-Ie/aph (2''), tet(M), msr(B), mupA</i>
۶		۱ (۱۶/۶)	۱ (۱۶/۶)	۴ (۶۶/۸)	<i>ant (4')-Ia, aac (6')-Ie/aph (2''), tet(M)</i>
۳		۳ (۱۰۰)			<i>ant (4')-Ia, aph (3')-IIIa, erm(B), erm(C), msr(A)</i>
۲		۲ (۱۰۰)			<i>msr(B), erm(C), mupA</i>
۱				۱ (۱۰۰)	<i>erm(B)</i>
۲۷ (۲۴/۱)		۱۹ (۷۰/۴)		۸ (۲۹/۶)	بدون ژن مقاومت

پیشین انجام گرفته در نقاط مختلف جهان حاکی از روند رو به رشد میزان مقاومت به ونکومايسين در بين سوبه‌های استافیلوکوکوس اورئوس است، ولی در مطالعه حاضر همه ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به ونکومايسين حساس بودند. این یافته با مطالعه اخیر انجام گرفته در ایران از سوی گودرزی و همکاران (۷) که در یک دوره سه ساله روی ۱۷۸۹ ایزوله استافیلوکوک اورئوس برای بررسی مقاومت به ونکومايسين انجام شد، مغایرت دارد. آن‌ها چهار ایزوله مقاوم به ونکومايسين که همگی از نظر وجود ژن *vanA* مثبت ارزیابی شده بودند را گزارش کردند. گودرزی و همکاران همچنین دو ایزوله با مقاومت حدواسط به ونکومايسين را گزارش کردند که فاقد ژن *vanA* بودند.

مویروسین به‌عنوان یک داروی مهم برای درمان انواع عفونت‌های پوستی استافیلوکوکی و همچنین کنترل عفونت‌های ناشی از سوبه‌های MRSA استفاده می‌شود. فراوانی مقاومت به مویروسین در نقاط مختلف جغرافیایی، متفاوت گزارش شده است. در مطالعه پیشین انجام شده در ایران ۱۷/۵ درصد (۸)، ایالات متحده ۳/۳ درصد (۲۷)، هند ۵ درصد (۲۸)، یونان ۱/۶ درصد (۲۹) و اردن ۲/۶ درصد (۳۰) گزارش شد. در مطالعه حاضر، میزان مقاومت به مویروسین ۲۵/۹ درصد به دست آمد که ۱۰/۷ درصد دارای مقاومت سطح بالا و ۱۵/۲ درصد دارای مقاومت سطح پایین نسبت به مویروسین بودند. این یافته مشابه نتایج حاصل از مطالعه شاهسون و همکاران مبنی بر گزارش ۲۵ درصدی مقاومت به مویروسین در سوبه‌های MRSA های جدا شده از بیماران سوختگی بود (۳۱). میزان مقاومت سطح بالا به مویروسین در مطالعه ما بالاتر از میزان گزارش شده در کشورهای کانادا و چین (۷ درصد) (۱۱، ۳۲) بود. این افزایش در میزان مقاومت سطح بالا به مویروسین در مقایسه با سایر مطالعه‌ها را می‌توان به سیاست‌های تجویزی نادرست، استفاده طولانی‌مدت از این آنتی‌بیوتیک در بیمارستان‌ها و نوع نمونه بررسی شده نسبت داد.

آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولیدی به عنوان عوامل مهارکننده سنتز پروتئین به طور گسترده‌ای در درمان عفونت‌های استافیلوکوکی استفاده می‌شوند. مشابه با نتایج سایر مطالعه‌های انجام شده، در مطالعه حاضر، میزان مقاومت ساختاری (۵۲/۷ درصد) بیشتر از مقاومت القایی (۱۰/۷ درصد) نسبت به کلیندامایسین بود (۸، ۹). در یک

سوبه‌های MRSA درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری با چالش مواجه شده است (۸). بر اساس نتایج مطالعه‌های پیشین روند مقاومت آنتی‌بیوتیکی سوبه‌های MRSA نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده ماکرولیدها، آمینوگلیکوزیدها، لینکوزامیدها در حال افزایش است و به طور تقریبی به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مانند پنی‌سیلین و سفالوسپورین مقاومت دیده می‌شود (۹، ۱۳، ۱۶، ۲۲). در مطالعه حاضر بیشترین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین سوبه‌های MRSA به ترتیب شامل مقاومت به پنی‌سیلین (۹۱/۱ درصد)، سفتریاکسون (۶۵/۲ درصد)، اریترومايسين (۶۳/۴ درصد)، کانامایسین (۵۶/۳ درصد)، کلیندامایسین (۵۲/۷ درصد)، آمیکاسین (۵۰ درصد)، جنتامایسین (۴۵/۵ درصد)، توبرامایسین (۲۶/۸ درصد)، کوئینوپریستین-دالفوپریستین (۱۸/۸ درصد) و تریموتریم سولفامتوکسازول (۱۱/۶ درصد) گزارش شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیش از نیمی از ایزوله‌های بررسی شده به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام و آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر اریترومايسين، کانامایسین، کلیندامایسین و آمیکاسین از خود مقاومت نشان دادند. این نتیجه با مطالعه‌های پیشین انجام شده توسط گودرزی و همکاران در ایران (۱۴) و همچنین کو و همکاران (۲۳) که برای بررسی و تعیین ژنوتیپ سوبه‌های MRSA جدا شده از ۱۲ کشور آسیایی انجام شد، مطابقت داشت.

میزان مقاومت سوبه‌های MRSA به جنتامایسین در این مطالعه ۴۵/۵ درصد به دست آمد که بسیار بیشتر از میزان گزارش شده در برزیل (۳/۱ درصد) بود (۲۴). این در حالی است که در مطالعه انجام شده در چین از سوی Yali و همکاران میزان مقاومت به جنتامایسین در بین سوبه‌های MRSA ۸/۴ درصد گزارش شده است (۲۵). در مطالعه حاضر میزان مقاومت به کوئینوپریستین-دالفوپریستین در سوبه‌های MRSA بررسی شده به نسبت پایین (۱۸/۸ درصد) گزارش شد که این یافته با مطالعه انجام شده در عراق از سوی Ronat و همکاران (۲۶) که میزان مقاومت به این آنتی‌بیوتیک را در بین سوبه‌های MRSA ۱۲ درصد گزارش کردند، مشابه بود. به طور کلی وجود تفاوت‌ها در الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین سوبه‌های MRSA نشان‌دهنده اعمال سیاست‌های مختلف کنترل عفونت در بیمارستان‌ها، جوامع و همچنین تجویز پروتکل‌های متفاوت در درمان بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان‌هاست. اگرچه مطالعه‌های

تایپ سه را به عنوان شایع‌ترین تایپ در بین سویه‌های MRSA جدا شده از نمونه‌های کلینیکی گزارش کرده‌اند. در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۱۷ در ایران از سوی گودرزی و همکاران که روی ۱۰۶ نمونه استافیلوکوک اورئوس جدا شده بیماران سوختگی انجام شد، بیشترین فراوانی متعلق به SCCmec تایپ سه (۷۴/۷ درصد) و سپس SCCmec تایپ چهار (۲۸/۳ درصد) بود (۱۶). شیوع بالای SCCmec تایپ سه در این مطالعه نشان می‌دهد که به احتمال سویه‌های MRSA عامل عفونت دارای منشأ بیمارستانی هستند. البته در مطالعات مختلف شیوع متفاوتی از SCCmec تایپ‌های مختلف گزارش شده است. در مطالعه‌ای که از سوی رشیدی و همکاران (۹) در سال ۲۰۱۶ در یک دوره ۱۱ ماهه روی ۱۰۶ ایزوله استافیلوکوک اورئوس جدا شده از بخش ICU هفت بیمارستان در شهر تهران انجام شد، نتایج متفاوت با یافته‌های مطالعه حاضر را نشان داد. رشیدی و همکاران گزارش کردند که SCCmec تایپ چهار دارای بیشترین فراوانی (۵۷/۹ درصد) بود و فراوانی سایر تایپ‌ها به ترتیب شامل تایپ سه (۲۲/۱ درصد)، تایپ پنج (۱۲/۶ درصد)، تایپ یک (۵/۳ درصد) و تایپ دو (۲/۱ درصد) بود. در مطالعه انجام شده از سوی Vázquez و همکاران (۳۵) در کشور اسپانیا بیشترین تایپ شناسایی شده در بین ایزوله‌های استافیلوکوک اورئوس MRSA بررسی شده SCCmec تایپ چهار (۸۳/۳ درصد) گزارش شد. فراوانی تایپ‌های یک و دو به ترتیب ۱۰ و ۶/۷ درصد بود، در حالی که SCCmec تایپ سه در مطالعه آن‌ها مشاهده نشد. در مطالعه‌ای دیگر که از سوی زینلی و همکارانش در بیمارستان شهید بهشتی کاشان روی نمونه‌های عفونت بیمارستانی انجام شد، ۱۵۰ سویه استافیلوکوک اورئوس مطالعه شدند که از این تعداد، ۸۷ سویه (۵۸ درصد) حامل ژن *mecA* بودند و به عنوان سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین تایید شدند. نتایج حاصل از SCCmec تایپینگ نشان داد که تایپ دو دارای بیشترین فراوانی (۱۳/۸ درصد) در مقایسه با سایر تایپ‌های شناسایی شده بود (۳۶).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که الگوی مقاومت چندگانه دارویی و ژن‌های کدکننده مقاومت در بین سویه‌های MRSA با SCCmec تایپ سه بیشتر از سایر تایپ‌ها بود. که این نتایج با مطالعه‌های پرهیزگاری و مطابقت داشت. پرهیزگاری و همکاران نشان دادند که ۹۵/۷ درصد از سویه‌های MRSA متعلق به SCCmec تایپ سه بودند و به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام و غیر بتالاکتام نظیر اریترومایسین، سیپروفلوکسین، آمیکاسین و جنتامایسین مقاوم بودند. آن‌ها همچنین نشان دادند که الگوی مقاومت چندگانه دارویی در SCCmec تایپ سه بیشتر از تایپ چهار بود. به طور خلاصه مطالعه حاضر نشان داد که مقاومت چند دارویی در میان سویه‌های MRSA شایع بوده و به عنوان تهدیدی جدی برای بهداشت و درمان کشور محسوب می‌شود که می‌تواند با تغییر رویه در تجویز آنتی‌بیوتیک‌ها و اعمال استراتژی‌های کنترل عفونت در مورد سویه‌های MRSA قابل کنترل باشد. با توجه به شیوع بالای SCCmec تایپ سه و الگوی فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت در سویه‌های MRSA جدا شده از بیماران بستری، انجام مطالعه‌های دوره‌ای وسیع‌تر برای تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی این سویه‌ها در بیمارستان‌های کشور برای درمان‌های کارآمد و موثر ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی:

مقاله حاضر بخشی از پایان‌نامه دانشجویی مقطع کارشناسی ارشد خانم عبیری و طرح تحقیقاتی مصوب معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی با شماره ثبت ۱۱۴۱۷ است.

منابع:

- Ziebuhr W, Hennig S, Eckart M, Kränzler H, Batzilla C, Kozitskaya S. Nosocomial infections by Staphylococcus epidermidis: how a commensal bacterium turns into a pathogen. International journal of antimicrobial agents. 2006;28:14-20.
- Zingg W, Hopkins S, Gayet-Ageron A, Holmes A, Sharland M, Suetens C, et al. Health-care-associated infections in neonates, children, and adolescents: an analysis of paediatric data from the European Centre

for Disease Prevention and Control point-prevalence survey. The Lancet Infectious Diseases. 2017;17(4):381-9.

در کشور کانادا، میزان مقاومت القایی در بین سویه‌های MRSA ۶۴/۷ درصد گزارش شد که با میزان گزارش شده در مطالعه حاضر همخوانی داشت (۱۸).
آنالیز ژنی الگوی مقاومت در بین سویه‌های بررسی شده نشان داد که ژن کدکننده مقاومت به آمینوگلیکوزیدها *Ia*-(4') ant (۷۳/۲ درصد)، *Ie*-(6')-aph (2'') aac (۵۹/۸ درصد) و *IIIa*-(3') aph (۳۵/۷ درصد) از شیوع به نسبت بالاتری در مقایسه با سایر ژن‌ها برخوردار است. در مطالعه‌ای که از سوی رشیدی و همکاران (۹) در سال ۲۰۱۶ انجام شد، بیشترین میزان شیوع ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط آمینوگلیکوزیدها *Ia*-(4') ant (۹۴/۷ درصد)، *Ie*-(6')-aac (۸۱/۱ درصد) و *IIIa*-(3') ant (۳۱/۶ درصد) بود. مشابه با نتایج مطالعه‌های پیشین میزان شیوع ژن *Ia*-(4') بیشتر از سایر ژن‌های کدکننده مقاومت به آمینوگلیکوزیدها بود (۸، ۹). میزان فراوانی ژن *Ia*-(4') ant در مطالعه حاضر (۷۳/۲ درصد) مشابه با میزان گزارش شده توسط عبیری و همکاران (۷۳/۵ درصد) و بیشتر از میزان گزارش شده توسط Ardıc و همکاران (۲۴ درصد) (۳۴) بود. دومین ژن غالب مقاومت به آمینوگلیکوزیدها از نظر فراوانی ژن *Ie*-(6')-aac (۵۹/۸ درصد) بود که پایین‌تر از میزان گزارش شده در مطالعه پیشین انجام شده در ایران (۸۱/۱ درصد) (۹) و بالاتر از میزان گزارش شده در ترکیه (۲۸ درصد) (۳۴) بود. میزان شیوع پایین ژن *IIIa*-(3') aph (۳۵/۷ درصد) در مطالعه ما مشابه با نتایج گزارش شده پیشین از ایران (۳۱/۶ درصد) (۹) بود.

مقاومت به ماکرولیدها به دلیل پمپ‌های افلاکس (ژن‌های *msrA*، *msrB*) یا ژن‌های تغییردهنده جایگاه هدف ریبوزومی (*ermA*، *ermB*، *ermC*) انجام می‌شود (۱۰). در این مطالعه بیشترین میزان فراوانی ژن‌های مقاومت به ماکرولیدها شامل *msrA* (۳۶/۷ درصد)، *ermA* (۳۳/۹ درصد)، *msrB* (۲۴/۴ درصد)، *ermB* (۱۷ درصد) و *ermC* (۱۵/۲ درصد) بود. مشابه با مطالعه انجام شده از سوی رشیدی و همکاران (۹)، بیشترین میزان فراوانی در بین ژن‌های کدکننده مقاومت به ماکرولیدها متعلق به ژن *msrA* (۴۷/۳ درصد) بود. آن‌ها همچنین میزان فراوانی ژن‌های *ermA*، *ermB*، *ermC* و *msrB* (۳۱/۶ درصد، ۱۵/۹ درصد، ۱۸/۹ درصد و ۲۱/۱ درصد) گزارش کردند که با نتایج حاصل از مطالعه ما همخوانی داشت.

اگرچه بیان مقاومت به تتراسایکلین به دلیل ژن‌های مختلف (*tetA*، *tetK*، *tetL*، *tetQ*) رخ می‌دهد ولی ژن *tetM* مهم‌ترین ژن کدکننده مقاومت به تتراسایکلین بوده که بیانگر مقاومت به تمامی آنتی‌بیوتیک‌های خانواده تتراسایکلین است. در این مطالعه، میزان مقاومت به ژن *tetM* (۵۷/۶ درصد) گزارش شد. شیوع بالای ژن مقاومت به تتراسایکلین از سوی بسیاری از محققان گزارش شده است (۸، ۹).

بر اساس نتایج به دست آمده از مطالعه‌های پیشین در خصوص SCCmec تایپینگ سویه‌های MRSA مشخص شده است که ارتباط معناداری بین عفونت‌های بیمارستانی مربوط به سویه‌های MRSA و SCCmec تایپ‌های یک تا سه از این باکتری وجود دارد در حالی که SCCmec تایپ‌های چهار و پنج بیشتر در ارتباط با عفونت‌های MRSA اکتسابی از جامعه است (۱۳، ۱۴). توزیع SCCmec تایپ‌ها در میان سویه‌های MRSA در مطالعه حاضر نشان داد که بیشتر سویه‌ها مربوط به SCCmec تایپ سه (۵۳/۶ درصد) بود. این نتایج در راستای یافته‌های به دست آمده از مطالعه‌های پیشین مبنی بر شیوع بالای SCCmec تایپ سه در اکثر کشورهای آسیایی (۲۳) و برزیل (۲۴) بود. سایر مطالعه‌های انجام شده در ایران نیز SCCmec

for Disease Prevention and Control point-prevalence survey. The Lancet Infectious Diseases. 2017;17(4):381-9.

3. Wang L, Ruan S. Modeling Nosocomial Infections of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus with Environment Contamination. Scientific Reports. 2017;7(1):580.

4. Milheiriço C, Oliveira DC, de Lencastre H. Update to the multiplex PCR strategy for assignment of mec element types in Staphylococcus aureus. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2007;51(9):3374-7.

5. Boye K, Bartels MD, Andersen IS, Moeller JA, Westh H. A new multiplex PCR for easy screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SCCmec types I–V. *Clinical Microbiology and Infection*. 2007;13(7):725-7.
6. Baig S, Johannesen TB, Overballe-Petersen S, Larsen J, Larsen AR, Stegger M. Novel SCCmec type XIII (9A) identified in an ST152 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infection, Genetics and Evolution*. 2018 Jul 1;61:74-6.
7. Shekarabi M, Hajikhani B, Chirani AS, Fazeli M, Goudarzi M. Molecular characterization of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical samples: A three year study in Tehran, Iran. *PloS one*. 2017;12(8):e0183607.
8. Abiri P, Sepahi AA, Goudarzi H, Goudarzi M. Distribution of Genes Encoding Toxin, Adhesion, and Antibacterial Resistance Among Various SCCmec Types of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated From Intensive Care Unit, Tehran, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2017;10(12):1-10.
9. Nezhad RR, Meybodi SM, Rezaee R, Goudarzi M, Fazeli M. Molecular characterization and resistance profile of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from hospitalized patients in intensive care unit, Tehran-Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2017;10(3).
10. Lee AS, de Lencastre H, Garau J, Kluytmans J, Malhotra-Kumar S, Peschel A, Harbarth S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews Disease Primers*. 2018 May 31;4:18033.
11. Babu T, Rekasius V, Parada JP, Schreckenberger P, Challapalli M. Mupirocin resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-colonized patients at admission to a tertiary care medical center. *Journal of clinical microbiology*. 2009;47(7):2279-80.
12. Mahdiyoun SM, Ahanjan M, Goudarzi M, Rezaee R. Prevalence of antibiotic resistance in methicillin-resistant *staphylococcus aureus* and determining aminoglycoside resistance gene by PCR in Sari and Tehran hospitals. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2015;25(128):97-107.
13. Goudarzi M, Seyedjavadi SS, Nasiri MJ, Goudarzi H, Nia RS, Dabiri H. Molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated from patients with bacteremia based on MLST, SCCmec, spa, and agr locus types analysis. *Microbial pathogenesis*. 2017;104:328-35.
14. Goudarzi M, Goudarzi H, Figueiredo AMS, Udo EE, Fazeli M, Asadzadeh M, et al. Molecular characterization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from intensive care units in Iran: ST22-SCCmec IV/t790 emerges as the major clone. *PloS one*. 2016;11(5):e0155529.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-Second Informational Supplement; 2016, 31:M100-S22.
16. Goudarzi M, Bahramian M, Tabrizi MS, Udo EE, Figueiredo AMS, Fazeli M, et al. Genetic diversity of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from burn patients in Iran: ST239-SCCmec III/t037 emerges as the major clone. *Microbial pathogenesis*. 2017;105:1-7.
17. Goudarzi M, Seyedjavadi SS, Azad M, Goudarzi H, Azimi H. Distribution of spa types, integrons and associated gene cassettes in *staphylococcus aureus* strains isolated from intensive care units of Hospitals in Tehran, Iran. *Archives of Clinical Infectious Diseases*. 2016;11(4).
18. Martineau F, Picard FJ, Lansac N, Ménard C, Roy PH, Ouellette M, et al. Correlation between the Resistance Genotype Determined by Multiplex PCR Assays and the Antibiotic Susceptibility Patterns of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2000;44(2):231-8.
19. Strommenger B, Kettlitz C, Werner G, Witte W. Multiplex PCR assay for simultaneous detection of nine clinically relevant antibiotic resistance genes in *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology*. 2003;41(9):4089-94.
20. Lina G, Quaglia A, Reverdy M-E, Leclercq R, Vandenesch F, Etienne J. Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among staphylococci. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1999;43(5):1062-6.
21. Udo E, Jacob L, Mathew B. Genetic analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* expressing high-and low-level mupirocin resistance. *Journal of Medical Microbiology*. 2001;50(10):909-15.
22. Eftekhari F, Rezaee R, Azad M, Azimi H, Goudarzi H, Goudarzi M. Distribution of adhesion and toxin genes in *staphylococcus aureus* strains recovered from hospitalized patients admitted to the ICU. *Archives of Pediatric Infectious Diseases*. 2017;5(1).
23. Ko KS, Lee J-Y, Suh JY, Oh WS, Peck KR, Lee NY, et al. Distribution of major genotypes among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Asian countries. *Journal of clinical microbiology*. 2005;43(1):421-6.
24. Rodrigues MVP, Fortaleza CMCB, Riboli DFM, Rocha RS, Rocha C, de Souza MdLR. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a burn unit from Brazil. *Burns*. 2013;39(6):1242-9.
25. Yali G, Jing C, Chunjiang L, Cheng Z, Xiaoqiang L, Yizhi P. Comparison of pathogens and antibiotic resistance of burn patients in the burn ICU or in the common burn ward. *Burns*. 2014;40(3):402-7.
26. Ronat J-B, Kakol J, Khoury MN, Berthelot M, Yun O, Brown V, et al. Highly drug-resistant pathogens implicated in burn-associated bacteremia in an Iraqi burn care unit. *PloS one*. 2014;9(8):e101017.
27. Jones JC, Rogers TJ, Brookmeyer P, Dunne Jr WM, Storch GA, Coopersmith CM, et al. Mupirocin resistance in patients colonized with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a surgical intensive care unit. *Clinical Infectious Diseases*. 2007;45(5):541-7.
28. Gadepalli R, Dhawan B, Mohanty S, Kapil A, Das BK, Chaudhry R, et al. Mupirocin resistance in *Staphylococcus aureus* in an Indian hospital. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2007;58(1):125-7.
29. Petinaki E, Spiliopoulou I, Kontos F, Maniati M, Bersos Z, Stakias N, et al. Clonal dissemination of mupirocin-resistant staphylococci in Greek hospitals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004;53(1):105-8.
30. Aqel A, Ibrahim A, Shehabi A. Rare occurrence of mupirocin resistance among clinical *Staphylococcus* isolates in Jordan. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica*. 2012;59(2):239-47.
31. Shahsavan S, Emameini M, Khoshgnab BN, Khoramian B, Asadollahi

- P, Aligholi M, et al. A high prevalence of mupirocin and macrolide resistance determinant among *Staphylococcus aureus* strains isolated from burnt patients. *Burns*. 2012;38(3):378-82.
32. Liu Q-Z, Wu Q, Zhang Y-B, Liu M-N, Hu F-P, Xu X-G, et al. Prevalence of clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) with high-level mupirocin resistance in Shanghai and Wenzhou, China. *International journal of antimicrobial agents*. 2010;35(2):114-8.
33. Debdas D, Joshi S. Incidence of clindamycin resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2011;5(04):316-7.
34. Ardic N, Sareyyupoglu B, Ozyurt M, Haznedaroglu T, Ilga U. Investigation of aminoglycoside modifying enzyme genes in methicillin-resistant staphylococci. *Microbiological research*. 2006;161(1):49-54.
35. Pérez-Vázquez M, Vindel A, Marcos C, Oteo J, Cuevas O, Trincado P, et al. Spread of invasive Spanish *Staphylococcus aureus* spa-type t067 associated with a high prevalence of the aminoglycoside-modifying enzyme gene ant (4')-Ia and the efflux pump genes *msrA/msrB*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2008;63(1):21-31.
36. Zeinali E, Moniri R, Safari M, Mousavi SGA. Molecular characterization and SCCmec typing in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples. *KAUMS Journal (FEYZ)*. 2011;14(4):439-46.
37. Zetola N, Francis JS, Nuermberger EL, Bishai WR. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat. *The Lancet Infectious Diseases*. 2005;5(5):275-86.
38. Parhizgari N, Khoramrooz SS, Hosseini M, Asghar SA, Marashifard M, Yazdanpanah M, et al. High frequency of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* with SCCmec type III and Spa types t037 and t631 isolated from burn patients in southwest of Iran. *Apmis*. 2016;124(3):221-8.