Research on Medicine Original Article

The Quarterly journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences Vol.42; No.1; 2018

Virulence factors in methicillin-sensitive and methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated from children referred to Tehran Children's Medical Center Hospital

Hiva Kadkhoda[1], Zohreh Ghalavand[1], Bahram Nikmanesh[2], Hamidreza Houri[1], Donya Taghizadehmaleki[1], Gita Eslami[1*]

1. Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Department of Lab Medical Sciences, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: 2018/01/21 Accept: 2017/12/3)

Abstract

Backgroundm: *Staphylococcus is a bacterium responsible for a wide range of diseases, from mild skin infections to lethal necrosis pneumonia. The aim of the present study was to determine the virulence factors among methicillin resistant and sensitive strains isolated from clinical specimens of children referred to the pediatric medical center and also to find out about their antibiotic resistance.*

Materials and Methods: *In the present study, 100 strains of Staphylococcus aureus, susceptible and resistant to methicillin, were collected during one year. First, biochemical tests were performed to detect Staphylococcus aureus bacteria. Then, antibiotic susceptibility test was performed using antibiotic disks (MAST; England) according to CLSI guidelines. The presence of hlg, mecA, nuc, and pvl genes was investigated using PCR method and then sequenced.*

Results: *A total of 30 samples (30%) were methicillin-resistant (MRSA) using the cefoxitin disk. Vancomycin was determined to be the most susceptible to antibiotics with 100% and penicillin had the highest resistance to antibiotics with 98%. The prevalence values for hlg, mecA, and pvl genes were 30%, 95%, and 6%, respectively.*

Conclusion: *The present study showed that vancomycin and cotrimoxazole were the best effective antibiotics against MRSA strains.*

Keywords: *Staphylococcus Aureus; Panton-Valentine Leukocidin; Gamma Hemolysin*

** Corresponding author: Gita Eslami*
E-mail: G_eslami@yahoo.com

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2022-08-12]

پژوهش در پزشکی
فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
مقاله پژوهشی
دور ۴۲، شماره ۴، ۱۳۹۷، صفحات ۵۹ تا ۶۴

بررسی ویرولانس فاکتورها در سویه‌های حساس و مقاوم به متی‌سیلین استافیلوکوک اورئوس جدا شده از کودکان مراجعه کننده به بیمارستان مرکز طبی کودکان تهران

هیوا کدخدا[۱]، زهره قلاوند[۱]، بهرام نیک منش[۲]، حمیدرضا حوری[۱]، دنیا تقی زاده ملکی[۱]، گیتا اسلامی*[۱]

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲- گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۹۶/۹/۱۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۱۱/۱

چکیده:

سابقه و هدف: جنس استافیلوکوک از جمله باکتری‌هایی است که مسئول طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها، از عفونت‌های پوستی خفیف تا پنومونی نکروزدهنده، کشنده است. هدف از این مطالعه بررسی ویرولانس فاکتورها در بین سویه‌های حساس و مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از نمونه‌های بالینی کودکان مراجعه کننده به مرکز طبی کودکان و همچنین آگاهی از میزان مقاومت آنتی بیوتیکی آن‌ها.

مواد و روش‌ها: در مطالعه حاضر، تعداد ۱۰۰ سویه استافیلوکوک اورئوس حساس و مقاوم به متیسیلین طی یک سال جمع‌آوری شد. ابتدا با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی، باکتری استافیلوکوک اورئوس تشخیص داده شد. سپس تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از دیسک‌های آنتی بیوتیکی (*MAST*، انگلستان) طبق دستورالعمل‌های *CLSI* انجام شد. حضور ژن‌های *nuc*, *mecA*, *hlg* و *pvl* با روش *PCR*، بررسی و تعیین توالی شد.

یافته‌ها: با استفاده از دیسک سفوکسی‌تین، تعداد ۳۰ نمونه (۳۰درصد) مقاوم به متی‌سیلین(*MRSA*) بود. بیشترین حساسیت به ونکومایسین با ۱۰۰درصد و بیشترین مقاومت به پنی‌سیلین با۹۸درصد مشاهده شد. توزیع فراوانی ژن‌های *pvl* , *mecA* , *hlg* به ترتیب ۳۰،۹۵ و ۶درصد بود.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که آنتی بیوتیک‌های ونکومایسین و کوتریموکسازول بهترین فعالیت را علیه سویه‌های *MRSA* دارند.

واژگان کلیدی: استافیلوکوک اورئوس، لوکوسیدین پنتون والنتین، همولیزین گاما.

مقدمه:

استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یک پاتوژن شایع مرتبط با مراقبت‌های بیمارستانی در سراسر دنیا شناخته می‌شود. استافیلوکوکوس اورئوس باکتری گرم مثبت، هوازی- بیهوازی اختیاری و بدون اسپوری می‌باشد که در بخش قدامی حفره بینی (که شایع ترین محل کلونیزاسیون میباشد)، پوست به ویژه پوست آسیب دیده، ناحیه پرینه، واژن، زیر بغل، ناف نوزادان و اوروفارنکس کلونیزه می‌شود(۱و۲). این باکتری می‌تواند طیف وسیعی از بیماری‌ها شامل آبسه، پنومونی، مسمومیت غذایی، عفونت‌های پوستی، عفونت‌های پس از جراحی، عفونت‌های زخم، عفونت‌های بافت نرم، استئومیلیت، سندرم شوک سمی، سپتی سمی، باکتریمی و اندوکاردیت را ایجاد کند(۳و۴). با افزایش روزافزون مقاومت به انواع آنتی بیوتیک‌ها باوجوداستفاده از آنتی‌بیوتک‌های قوی و بهبود شرایط بهداشت عمومی و کنترل عفونت‌های بیمارستانی، هنوز هم استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یک پاتوژن مهم در انسان محسوب می‌شود(۵).

استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) یک سویه اختصاصی از استافیلوکوک است که مقاومت آنتی بیوتیکی را به بتا لاکتام‌ها ایجاد می‌کند. این مقاومت ناشی از حضور ژن mecA است که کد کننده یک پروتئین متصل شونده به پنیسیلین (PBP2a) است که میل ترکیبی آن در اتصال به متی سیلین کمتر از سایر پروتئین‌های متصل شونده به پنی سیلین در دیواره باکتری است(۶و۷). توکسین پنتون والنتین لکوسیدین (PVL) و همولیزین گاما (hlg)، اگزوتوکسین‌های همولیتیک هستند که باعث افزایش قدرت نفوذپذیری غشاء سلولی و در نتیجه سبب لیز شدن لکوسیت‌ها و نکروز بافت می‌شود(۸).

هدف از این مطالعه بررسی ویرولانس فاکتورها در سویه‌های حساس و مقاوم به متی‌سیلین استافیلوکوک اورئوس جدا شده از کودکان مراجعه‌کننده به بیمارستان مرکز طبی کودکان در سال‌های ۹۵-۹۴ و همچنین تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌هاست.

مواد و روش‌ها:

در این مطالعه توصیفی، از دی ۱۳۹۴ تا اردیبهشت ماه ۱۳۹۵، تعداد ۱۰۰ نمونه از کودکان زیر ۱۵ سال مراجعه کننده به مرکز طبی کودکان تهران از بخش‌های مختلف بیمارستان شامل(عفونی، گوارشی، بیماران سرپایی، نوزادان، هماتولوژی، نورولوژی، جراحی، نفرولوژی، تنفسی، اورژانس، قلب و بخش‌های مراقبت

نویسنده مسئول: گیتا اسلامی
پست الکترونیک: *G_eslami@yahoo.com*

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2022-08-12]

ویژه) جدا شد.
ابتدا با استفاده از تست‌های تعیین هویت شامل کاتالاز، کواگولاز اسلایدی و لوله‌ای، مانیتول سالت آگار و Dnase، باکتری استافیلوکوک اورئوس تشخیص داده شد. سپس تستحساسیت آنتی‌بیوتیکی طبق دستورالعمل موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی(CLSI) و دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی (MAST، انگلستان) انجام شد. در این روش، سوسپانسیونیاز باکتری با کدورتی معادل استاندارد نیم مک فارلند در سرم فیزیولوژی تهیه، سپس با استفاده از سوآپ استریل روی سطح محیط مولر هینتون آگار تلقیح و دیسک‌ها با فاصله‌مناسب روی سطح محیط قرار داده شدند. هاله عدم رشد هر یک از دیسک‌ها بعد از گرم خانه‌گذاری به مدت ۱۸تا۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد اندازه+ گیری شد(۹). برای انجام این مطالعه، دیسک‌های آنتی‌بیوتیک کلیندامایسین، اریترومایسین، کوتریموکسازول، پنی‌سیلین و سفوکسیتین از شرکت MAST انگلستان تهیه شد. برای آنتی‌بیوتیک ونکومایسین، MIC با استفاده از روش (Liofelchem، ایتالیا) E-TEST تعیین شد. به این صورت که ابتدا سوسپانسیون مطابق ۰/۵ مک‌فارلند از باکتری به محیط مولر هینتونتلقیح شد. سپس نوار حاوی ونکومایسین در شرایط آسپتیک روی محیط قرار داده شد. نتایج پس از گذشت ۱۸ تا ۲۴ ساعت مورد بررسی قرار گرفت(۱۰و۱۱). بررسی فنوتیپی مقاومت به متی سیلین با استفاده از دیسک سفوکسیتین و تایید مقاومت به متی‌سیلین با بررسی وجود ژن mecA به روش PCR انجام شد. همچنین تایید گونه استافیلوکوک اورئوس با استفاده از شناسایی ژن nuc با تکنیک PCR انجام شد. سویه استافیلوکوک اورئوس (25923ATCC) برای کنترل کیفی استفاده شد.
برای استخراج DNA از جدایه‌ای استافیلوکوکوس اورئوس، از کیت شرکت Roche آلمان استفاده شد. غلظت DNA با استفاده از دستگاه نانو دراپ Denovix کشور ایتالیا سنجیده شد.
برای انجام مراحل کار PCR، ابتدا در هر میکروتیوب ۱۲/۵ لاندا از Master Mix (Master Mix ، از شرکت Biosciene Sinaclon)، ۱ لاندا از هر کدام از پرایمرهای Reverse و Forward، ۸/۵ لاندا آب مقطر دیونیزه و ۲ لاندا از DNA نمونه مورد نظر را وارد کرده و با استفاده از سمپلر آن را خوب سمپلینگ کردیم (مواد Master Mix باید در فریزر ۲۰ـ درجه نگه‌داری شوند، زیرا آنزیم Taq پلیمراز نسبت به دماهای بالا بسیار حساس بوده و به سرعت غیر فعال می‌شود). باید توجه داشت که در هر سری از تست PCR باید DNA مربوط به کنترل مثبت و کنترل منفی (برای اطمینان از نبود آلودگی در تست) به همراه نمونه‌های مجهول PCR شود. سپس میکس‌های PCR که حاوی DNA های مجهول و DNAهای کنترل است، در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شدند. لازم به ذکر است برای کنترل منفی از تمام مواد مورد نیاز در یک واکنش PCR به جز DNA الگو استفاده شد. توالی پرایمرهای ژن‌های nuc, mecA, hlg و pvl در جدول زیر ارائه می شود.

توالی پرایمر ژن‌های بررسی شده در این مطالعه:

منبع	توالی پرایمر (۵' به ۳')	اندازه قطعه(bp)	پرایمر
McClure J-A 2006 (12)	F-GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA R-CCAATTCCACATTGTTTCGCTCTAA	310	mecA
Chakraborty SP 2011 (13)	F-GCGATTGATGGTGATACGGTT R-AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC	270	nuc
Shahnaz Armin 2015 (14)	F-ATCATTAGGTAAAATGTCTGGA CATGATCCA R-GCATCAASTGTATTGGATAGCAAAAGC	433	pvl
Ani-Ioana Cotar 2010 (15)	F-GCCAATCCGTTATTAGAAAATGC R-CCATAGACGTAGCAACGGAT	937	hlg

از الکتروفورز برای جداسازی محصولات PCR ژن های مورد نظر استفاده شد. در این مطالعه با توجه به محصول DNA و نیز محصول ژن تکثیر شده مورد نظر از ژل آگاروز با غلظت ۱/۵ درصد برای جداسازی محصولات تکثیر یافته استفاده شد. بعد از اطمینان از تک باند بودن محصولات PCR، نمونه‌ها توسط شرکت تکاپوزیست به شرکت Bioneer کره فرستاده، تعیین توالی و میزان همولوژی توالی‌ها با توالی‌های بانک ژنی مقایسه شد.
فراوانی ژن‌های موردنظر، اطلاعات دموگرافیک بیماران و نتایج تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی در نمونه‌های MRSA و MSSA با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ آنالیز شد.مقادیر P value ≤ ۰,۰۵ به عنوان معنادار در نظر گرفته شد. ارتباط بین سویه‌های حساس و مقاوم به متی‌سیلین با حضور ژن‌های ویرولانس با استفاده از آزمون کای۲ بررسی شد.

نتایج:

این تحقیق روی ۱۰۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شده از کودکان زیر ۱۵ سال مرکز طبی کودکان تهران انجام شد. از تعداد ۱۰۰ بیمار مورد بررسی، ۵۱ نفر مونث و ۴۹ نفر مذکر بودند. تعداد ایزوله‌ها برحسب نوع نمونه جدا شده در جدول شماره ۲ ذکر شده است. همچنین الگوی مقاومت دارویی ایزوله‌های

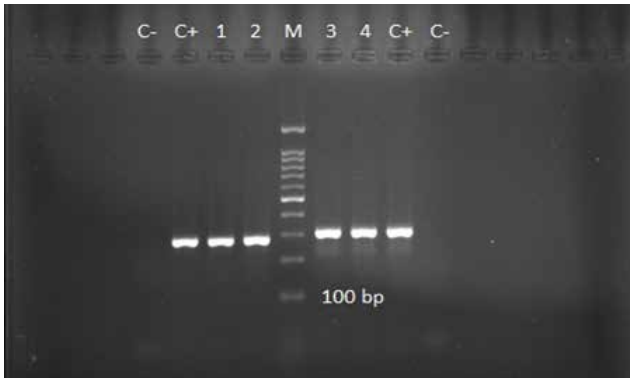
جدول شماره ۱) تعداد ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی‌سیلین جدا شده از کودکان مراجعه کننده به مرکز طبی تهران برحسب نوع نمونه جدا شده

نمونه	تعداد و درصد نمونه‌ها
گلو	۴۸
خلط	۱۲
مایعات بدن	۱۱
زخم	۶
خون	۶
چشم	۴
لاواژ برونکو آلوئولار	۴
آبسه	۴
گوش	۴
بینی	۱
جمع	۱۰۰

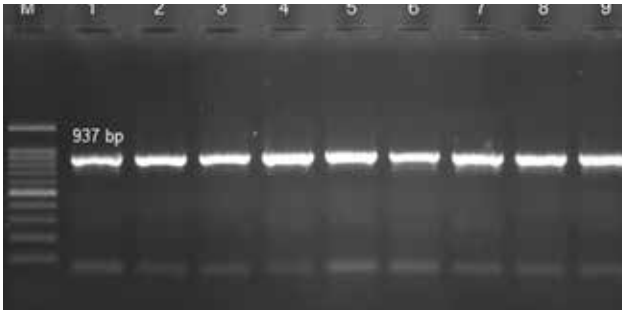
[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2022-08-12]

جدول شماره ۲) الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌درصدهای استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از کودکان مراجعه کننده به مرکز طبی تهران

آنتی بیوتیک	(%تعداد) مقاوم	(%تعداد) حد واسط	(%تعداد) حساس
پنی سیلین	(۹۸)	(۰)	(۲)
اریترومایسین	(۴۸)	(۹)	(۴۳)
کلیندامایسین	(۴۲)	(۸)	(۵۰)
سفوکسیتین	(۳۰)	(۰)	(۷۰)
کوتریموکسازول	(۱۴)	(۲)	(۸۴)
ونکومایسین	(۰)	(۰)	(۱۰۰)



شکل ۱- الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز برای ژن های nuc و mecA: M: 100 Ladder bp - C +: سویه استاندارد کنترل مثبت- : C – کنترل منفی – نمونه ۱و۲: ژن nuc (طول قطعه bp ۲۷۰) – نمونه ۳و۴: ژن mecA (طول قطعه bp ۳۱۰)

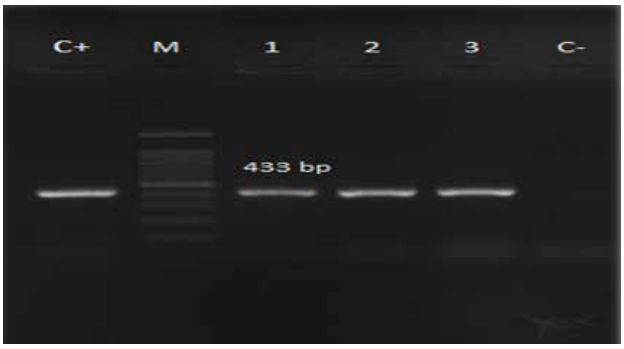


شکل ۲-الکتروفورز محصول PCR روی ژل آگارز برای ژنhlg: M : Ladder 100 bp - + C: سویه استاندارد کنترل مثبت --C: کنترل منفی – نمونه ۱تا۹: ژن hlg (طول قطعه bp ۹۳۷)

استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده در جدول شماره ۳نشان داده شده است. بیشترین حساسیت به آنتی‌بیوتیک و نکومایسین ۱۰۰ درصد و بیشترین مقاومت به آنتی بیوتیک پنی‌سیلین ۹۸ درصدمشاهده شد.

با انجام تست‌های تشخیصی آزمایشگاهی از میان نمونه جدا شده، با استفاده از دیسک سفوکسیتین، تعداد ۳۰ نمونه (۳۰درصد) مقاوم به متی‌سیلین(MRSA) و تعداد ۷۰ نمونه (۷۰ درصد) به متی‌سیلین pshs (MSSA) بودند.

هیچ ارتباط معناداری بین سن و جنس با فراوانی سویه‌های استافیلوکوکوس



شکل ۳- الکتروفورز محصول PCR روی ژل آگارز برای ژن‌های M: Ladder 100-bp –C +: pvl: سویه استاندارد کنترل مثبت -: C – کنترل منفی – نمونه ۱تا۳: ژن pvl (طول قطعه bp ۴۳۳)

اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و سویه‌های حساس به متی‌سیلین مشاهده نشد

توزیع فراوانی هر یک از ژن‌های بررسی شده با استفاده از روش PCR، نشان داد که تعداد ۳۰ ایزوله دارای ژن mec-A، ۶ ایزوله دارای ژن PVL و ۹۵ نمونه دارای ژن hlg . همچنین همه ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی‌سیلین دارای ژن nuc بشاد.

در مطالعه حاضر،۴ سویه MSSA و ۲ سویه ی MRSA دارای ژن PVL بودند. ارتباط معنا داری بین وجود ژن PVL با سویه های MRSA و MSSA به دست نیامد (p-value =0.58).

همچنین براساس این مطالعه، ۶۸ سویه MSSA و ۲۷ سویه MRSA دارای ژن hlg بودند. بین وجود ژن mec-A و ژن hlg ارتباط معناداری حاصل نشد (p-value = 0.158).

بحث:

استافیلوکوک‌ها در انسان یک بخش از فلور نرمال هستند، بنابراین جزو میکرو ارگانیسم‌های کومنسال همزیست محسوب اما همچنین می‌توانند در مواردی به عنوان یک پاتوژن فرصت طلب و عامل طیف وسیعی از بیماری‌ها عمل نمایند زیرا آن‌ها سازگاری سریع تری به فشارهای انتخابی ایجاد شده توسط میزبان انسانی نشان دهند(۱۶). از مهم ترین راه کارهای پیش گیری از توسعه عفونت‌های استافیلوکوک اورئوس، شناسایی و درمان به موقع عفونت‌های MRSA می باشد. از آنجا که میزان مرگ و میر عفونت های بیمارستانی با سویه های MRSA بالا می‌باشد، درمان صحیح عفونت‌ها و تعیین و آگاهی از الگوی منطقه‌ای مقاومت در انتخاب داروی مناسب کمک کننده خواهد بود (۱۷).

درمطالعه ما الگوی مقاومت آنتیبیوتیکی در ۱۰۰ ایزوله جداسازی شده نشان داد که تمامی سویه‌های استافیاوکوک اورئوس به ونکومایسین حساس بودند بنابراین آنتی بیوتیک ونکومایسین می تواند به عنوان داروی انتخابی در سویه‌های مقاوم در نظر گرفته شود. ۱۴ درصد از ایزوله‌ها به کوتریموکسازول مقاوم بودند. پنیسیلین با بیشترین میزان مقاومت ۹۸% و بعد از آن اریترومایسین با ۴۸% و کلیندامایسین ۴۲% مقاومت نشان دادند. بر اساس مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۵ توسط Zahra Shokravi و همکاران انجام شد میزان مقاومت به ونکومایسین در بین سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به متیسیلین ,0% کلیندامایسین ۵۵% و پنیسیلین ۹۶% گزارش شده است که مشابه با مطالعه ما بوده است(۱۸).

در مطالعه شکوهی و همکاران در سال ۲۰۱۶ بر روی ۲۰۰۰ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس، میزان مقاومت به اریترومایسین، کوتریموکسازول و کلیندامایسین به ترتیب ۵۶%, ۳۲% و ۵۶% بوده است (۱۹)، همچنین در مطالعهی Geoffrey Omuse که در سال ۲۰۱۴ درکنیا بر روی سویه‌های مقاوم به متیسیلین انجام شد میزان مقاومت آنتیبیوتیکی کوتریموکسازول ۴۲% و مقاومت به ونکومایسین 0% گزارش شد. در این بررسی‌ها میزان مقاومت به کوتریموکسازول بیشتر از مطالعه ما بوده که می‌تواند بیانگر افزایش مصرف این آنتی بیوتیک در این مناطق باشدو این مسئله به عنوان مشکل جدی در درمان بیماران در این مناطق به حساب می‌آید

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2022-08-12]

(۲۰).
مطالعه ما نشان داد که ۶ درصد ایزوله ها واجد ژن pvl می‌باشند اما هیچ ارتباط معنا داری بین مقاومت به متی سیلین و حضور ژن pvl به دست نیامد. مطالعه Meiji Soe Aung و همکاران در سال ۲۰۱۶ شیوع ژن pvl را ۱۲,۵ درصد گزارش نمودند که تا حدودی با نتایج ما هم خوانی داشت(۲۱). همچنین مطالعه ما با مطالعه Seyed Asghar Havaei که شیوع ژن pvl ۲۳ درصد بود زیاد همخوانی نداشته که علت آن می تواند مخازن جداسازی عفونت و محل جغرافیایی باشد(۲۲). همچنین بر اساس این مطالعه شیوع ژن hlg در بین سویه‌های حساس و مقاوم به متی سیلین استافیلوکوک اورئوس ۹۵ درصد بود و هیچ ارتباط معنا داری بین مقاومت به متی سیلین و حضور ژن hlg به دست نیامد. Mayra Alejandra Machuca و همکاران در سال ۲۰۱۳ شیوع ژن hlg را ۱۰۰ درصد گزارش کرده بودند که تا حدود زیادی با نتایج ما هم خوانی داشت(۲۳).
بر اساس یافته‌های این مطالعه، تقریبا همه سویه ها به پنی سیلین مقاوم بودند در نتیجه جهت درمان عفونت های حاصل از استافیلوکوک اورئوس پنی سیلین‌ها نباید به عنوان داروی انتخابی در نظر گرفته شوند. وجود ژن‌های ویرولانسی مانند pvl و hlg با مقاومت و یا حساسیت به متی سیلین ارتباط معنا داری نشان نداد. بنابراین پیشنهاد می گردد که حضور سایر فاکتورهای ویرولانس را در بین سویه‌های حساس و مقاوم به متی سیلین بررسی نمود.

منـابع:

1.Ghaznavi-Rad E, Shamsudin MN, Sekawi Z, Khoon LY, Aziz MN, Hamat RA, et al. Predominance and emergence of clones of hospital-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Malaysia. Journal of clinical microbiology 2010;48(3):867-72.

2. Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance Staphylococcus aureus in the antibiotic era. Nat Rev Microbiol 2009;7(9):629-41.

3.Martineau F, Picard FJ, Roy PH, Ouellette M, Bergeron M. Species-specific and ubiquitous-DNA–based assay for rapid identification of S.aureus. J clin microbial 1998; 36(3):618-623.

4.Grundig A, schneewid O. Cross-Linked peptidoglican media test lysostaphing to the cell wall envelope of staphylococcus aureus. J Bacteriol 2006;188(7):2463-72.

5.Amghalia E, Nagi A, Al-Haj N, Mariana N, Son R, Rosli R, et al. Multiplex PCR Assays for the Detection of Clinically Relevant Antibiotic Resistance Genes in Staphylococcus Aureus Isolated from Malaysian Hospitals. Res J of Bio Sc 2009; 4(4): 444-448.

6.Gunawardena ND, Thevanesam V, Kanakaratne N, Abeysekera D, Ekanayake A, Perera N. Molecular identification of methicillin resistance and virulence marker in Staphylococcus aureus. Sri Lankan J Infect Dis 2012; 2(2): 18-29.

7.Perez-Roth E, Claverie-Martin F, Villar J, Mendez-Alvarez S. Multiplex PCR for simultaneous identification of Staphylococcus aureus and detection of methicillin and mupirocin resistance. J Clin Microbiol 2001; 39(11): 4037-4041.

8.Mola Abaszadeh Hamed MH, Mirzaee Hamid. Identification of Panton-Valentine leukocidin (PVL) gene in Staphylococcus aureus strains isolated from patients Imam Reza and Tabriz martyrs Hospital by Real-Time PCR. Iran J Med Microbial 2013; 6(4): 72-80.

9. Wayne PA. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. 17th ef. USA. Performance
standards for antimicrobial susceptibility testing. 2007. CLSI/ NCCLS document M100S17.

10. Mozhgan Esmaeili Benvidi, Hamidreza Houri, Zohreh Ghalavand, Bahram Nikmanesh, Hadi Azimi, Roghayeh Samadi, et al. Toxin production and drug resistance profiles of pediatric methicillinresistant Staphylococcus aureus isolates in Tehran. J Infect Dev Ctries 2017; 11(10):759-765.

11. Davood Yadegarynia, Maryam Taheri, Zahra Arab-Mazar, Azar Darvishi. Evaluation of antimicrobial susceptibility among staphylococcus aureusby E-test method at Khatam-Ol-Anbia hospital during 2013–2014. Research in Medicine 2016; 40 (1); 24-29.

12.Jo-Ann McClure, John M. Conly, Vicky Lau, Sameer Elsayed, Thomas Louie, Wendy Hutchins, et al. Novel Multiplex PCR Assay for Detection of the Staphylococcal Virulence Marker Panton-Valentine Leukocidin Genes and Simultaneous Discrimination of Methicillin-Susceptible from -Resistant Staphylococci. J Clin Microbiol 2006; 44(3): 1141–1144.

13. Subhankari Prasad Chakraborty, Santanu KarMahapatra, Manjusri Bal, Somenath Roy. Isolation and Identification of Vancomycin ResistantStaphylococcus aureus from Post Operative Pus Sample. Al Ameen J Med S ci 2 011; 4 (2):1 5 2 -1 6 8.

14. Shahnaz Armin, Farhad Fareghi, Fatemh Fallah, Masoud Dadashi, Bahram Nikmanesh, Zohreh Ghalavand. Prevalence of hlg and pvl Genes in Methicillin Resistant Staphylococcus aureus(MRSA) Isolated from Health Care Staff in Mofid Children Hospital,Tehran, Iran. Journal of pure and applied microbiology 2015; 9(2); 1001-1005.

15. Ani-Ioana Cotar, Mariana-Carmen Chifiriuc, Sorin Dinu, Marcela Bucur, Carmen Iordache, Otilia Banu, et al. Screening of Molecular Virulence Markers in Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa strains Isolated from Clinical Infections. Int. J. Mol. Sci. 2010, 11(12), 5273-5291.

16.Turlej A, Hryniewicz W, Empel J. Staphylococcal cassette chromosome mec (Sccmec) classification and typing methods: an overview. Pol J Microbiol 2011;60(2):95-103.

17.Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clinical Microbiology Reviews 1997; 10(4):781-791.

18.Byeong Su Jung, Yong Ju Lee, Na-Kyoung Lee,Hyoun Wook Kim, Mi-Hwa Oh, Hyun-Dong Paik. Virulence Factors of Staphylococcus aureusIsolated from Korean Pork bulgogi: Enterotoxin Production and Antimicrobial Resistance. Korean J Food Sci Anim Resour 2015; 35(4): 502–506.

19.Shervin Shokouhi, Ilad Alavi Darazam, and Mohammad-Hossein Zamanian. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2022-08-12]

aureuscarriage rate and antimicrobial susceptibility in a tertiary center, Iran. J Res Med Sci 2017; 22: 71.

20. Hassan Momtaz and Laleh Hafezi. Meticillin-resistant Staphylococcus aureus isolated from Iranian hospitals: virulence factors and antibiotic resistance properties. Bosn J Basic Med Sci 2014; 14(4): 219–226.

21.Meiji Soe Aung, Thida San, Mya Mya Aye. Prevalence and Genetic Characteristics of Staphylococcus aureus and Staphylococcus aureus Isolates Harboring Panton-Valentine Leukocidin, Enterotoxins, and TSST-1 Genes from Food Handlers in Myanmar. Toxins (Basel) 2017; 9(8): 241.

22.Seyed Asghar Havaei, Farkhondeh Poursina, Maryam Ahmadpour, Seyed Roholla Havaei, and Meisam Ruzbahani. Detection of Panton-valentine Leukocidin Gene Isoforms of Staphylococcus aureus Isolates in Al-Zahra Hospital, Isfahan-Iran. Adv Biomed Res 2017; 6: 93.

23. Mayra Alejandra Machuca , Luis Miguel Sosa , Clara Isabel Gonza´lez . Molecular Typing and Virulence Characteristic of Methicillin-ResistantStaphylococcus aureus Isolates from Pediatric Patients in Bucaramanga, Colombia. PLOS ONE 2013; 8 (8); 73434.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2022-08-12]