مقاله پژوهشی

ژن مقاوم به متی سیلین و موپیروسین در استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از پرسنل بیمارستان شهرستان داراب با روش Multiplex PCR

نویسنده:

هوشنگ جمالی[1*]

۱- بخش میکروبشناسی، دانشگاه آزاد اسلامی جهرم، جهرم، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.17, No.3, Fall 2019

چکیده:

مقدمه: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA) Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus و موپیروسین از پاتوژن های مهم بیمارستانی می باشد. یکی از منابع مهم این ارگانیسم در عفونت بیمارستانی، پرسنل بیمارستان می باشند. هدف این تحقیق تعیین فراوانی ژن مقاوم به متی سیلین و موپیروسین در استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از پرسنل بیمارستان با روش Multiplex PCR می باشد.

روش کار: در این مطالعه ۱۵۰ نفر از پرسنل بیمارستان مورد بررسی گردیدند و نمونه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از آنها با روش های بیوشیمیایی و میکروبی تایید شدند. جهت تعیین میزان حساسیت سویه ها نسبت به آنتی بیوتیک متی سیلین و موپیروسین از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد. سپس، حضور ژن های mec A، mup و nuc با استفاده از Multiplex PCR بررسی شد.

یافته ها: از بین ۱۵۰ فرد مورد مطالعه، ۱۲۰ نفر (۸۰٪) زن بودند. در مجموع ۵۳ نفر (۳۵٪/۳) ناقل استافیلوکوکوس اورئوس بودند که ۴۲ نفر زن و ۱۱ نفر مرد بودند. از ۱۱ ایزوله جدا شده از مردان، ۴ مورد مقاوم به متی سیلین بودند و هیچ کدام به موپیروسین مقاوم نبودند. از ۴۲ ایزوله جدا شده از زنان، ۱۱ مورد مقاوم به متی سیلین و ۲ مورد مقاوم به موپیروسین بودند. . با استفاده از روش مولکولی، تعداد ۱۱ ایزوله (۹٪/۵) دارای ژن mecA بودند و هیچ سویه ای دارای ژن mup نبودند.

نتیجه گیری: شیوع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین و موپیروسین میان پرسنل بیمارستان داراب، نسبتاً کم بود. با اینحال کنترل دائمی ناقلین و درمان آنها می تواند از اشاعه این باکتری و عفونت های حاصل از آن جلوگیری نماید.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، متی سیلین، موپیروسین، Multiplex PCR، مقاومت آنتی بیوتیکی

Pars J Med Sci 2019;17(3):35-42

مقدمه:

استافیلو کوکوس ائوروس (MRSA) Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus کوکوسی گرم مثبت می‌باشد که در زیر میکروسکوپ ظاهری شبیه به خوشه انگور وکلنی‌های درشت و زرد رنگ در محیط کشت تولید می‌کند. استافیلو کوکوس ائوروس به طور معمول از پوست وبینی افراد سالم جدا می‌شود اما ممکن است به طور معمول از دیگر نواحی اناتومبک بدن مثل دهان و دستگاه گوارش جدا شود. این باکتری بکی از عوامل عمده عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شود[۲،۱]؛ که طی ۴۰ سال گذشته عفونت‌های در بیمارستان‌های کشورهای صنعتی و پیشرفته نظیر ایالات متحده و اروپا و نیز کشورهای در حال توسعه به صورت آندمیک در آمده‌اند. در ایالات متحده سالیانه از هر دو میلیون عفونت بیمارستانی، ۲۶۰۰۰۰ مورد به علت استافیلوکوکوس اورئوس است. متاسفانه در بین آن‌ها درصد سویه‌های مقاوم به متیسیلین رو به فزونی هستند[۳] ، در مطالعه دیگری در آمریکا که در سال های ۲۰۰۴ تا ۲۰۰۵ انجام شد شیوع سویه‌های MRSA در مناطق مختلف بین ۱۰ تا ۴۹ درصد

* نویسنده مسئول، نشانی: دانشگاه آزاد اسلامی جهرم ، بخش میکروبشناسی، جهرم، ایران.

تلفن تماس: ۰۹۱۷۱۳۱۱۳۱۹ پست الکترونیک:h.jamali1970@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۷/۸/۲ اصلاح: ۱۳۹۸/۱۰/۱۷ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۳

[Downloaded from jmj.jums.ac.ir on 2022-07-03]

[DOI: 10.52547/jmj.17.3.35]

گزارش گردید [۶-۴] ، این معضل گریبان گیر کشور ما نیز هست، به طوری که طی تحقیقی نشان داده شد که ۳۸/۶ درصد استافیلوکوک‌های جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های دکتر شریعتی و مرکز طبی کودکان تهران را سویه‌های MRSA تشکیل می‌دهند[۷] ؛ همچنین شیوع ناقلین استافیلوکوکوس اورئوس در پرسنل مراکز درمانی شهر گرگان ۲۴درصد می باشد و شیوع استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین ۳درصد می باشد [۸]. صادری و همکارانش در سال ۲۰۰۴ مطالعه ای انجام دادند و به این نتیجه دست یافتند که، مقاومت به موپیروسین از ۵ ٪ به ۷٪/۳ در بیماران رسیده است [۹].

اساس طبقه‌بندی استافیلوکوکوس‌ها آنزیم کوآگولاز می‌باشد. شیوع فراوان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در استافیلوکوک اورئوس و سایر گونه‌های استافیلوکوکی به دلیل انتقال افقی ژن‌ها (ژن‌های مقاومت‌های آنتی بیوتیکی و بیماریزایی) است. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که انتقال افقی ژن در استافیلوکوک‌ها بیش از آن چیزی است که قبلاً تصور می‌شد [۲]. استافیلوکوکوس اورئوس به تمامی انواع پادزیست‌های شناخته شده کاربردی مانند بتالاکتام‌ها، گلیکوپپتیدها، آمینوگلیکوزیدها، کوئینولون‌ها و غیره مقاومت کسب نموده است و یا در حال مقاوم شدن می‌باشد [۱۱]. استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در گذشته محدود به بیمارستان‌ها بود و اصطلاحاً به این سویه‌ها ، سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین کسب شده از بیمارستان hospital-acquired MRSA (HA-MRSA) اطلاق می‌گردید [۱۱]. با ظهور سویه‌های مقاوم به متی سیلین در سطح جامعه اهمیتمقاومت به متی سیلین دارای اهمیت دو چندان شده است. سویه‌های مذکور که اصطلاحاً سویه‌های مقاوم کسب شده از جامعه Community-associated (MRSA, CA-MRSA) نامیده می‌شود به متی‌سیلین مقاوم بوده ولی الگوی حساسیت دارویی این سویه‌ها نسبت به پادزیست‌های دیگر غیر از بتالاکتام‌ها، همانند سویه‌های استافیلوکوکوساورئوس حساس به متی‌سیلین (Methicillin-sensitive Staphylococcus aureus, MSSA) می‌باشد [۱۲]. سویه‌های CA-MRSA غالباً آبسه‌های پوستی، فورنکلوزیس، پنومونی نکروز دهنده شدید و شوک ایجاد می‌نمایند [۱۳]. مطالعه میزان شیوع کلونیزاسیون استافیلوکوکوساورئوس مقاوم به متی‌سیلین در کشورهای در حال توسعه که از سطح بهداشت بالایی برخوردار نیستند، بدلیل ایجاد عفونت‌های پوستی و بافت نرم اهمیت بالایی دارد [۱۴]. مقاومت نسبت به پنی سیلین در سویه های استافیلوکوکوس اورئوس، یک سال پس از کشف آن توسط ریمل کمپ گزارش شد [۱۵]. این مقاومت در رابطه با آنزیم بتالاکتاماز بوده که ژن آن در پلاسمید مربوطه کد شده است. مخاط بخش قدامی حلق و بینی محل اصلی استقرار ارگانیسم است. مقاومت در MRSA به دلیل بیان پروتئین اتصالی پنی سیلین (PBP2a) کد شده توسط ژن‌های mec A می‌باشد که بر روی کست کروموزومی استافیلوکوک (sec) قرار دارد.انواع مختلفی از کست‌های sec mec به طور وسیعی توسط تکنیک‌های PCR مطالعه شده‌اند و مکانیسم مقاومت شامل تغییرات یا نقص‌های ایجاد شده توسط موتاسیون بر روی ژن mec A می‌باشد که منجر به مقاومت ارگانیسم به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌گردد. این ژن‌ها بسیار در میان گونه‌های استافیلوکوک مقاوم هستند [۱۶]. موپیروسین یک آنتی‌بیوتیک موضعی است که از جداسازی Trna سنتتاز باکتریایی جلوگیری می‌کند و تشکیل ایزولوسیل Trna را متوقف می‌کند. کاربرد جهانی موپیروسین به طور وسیعی در زدودن کلنی زاسیون S.aureus می‌باشد و به عنوان ابزاری برای ممانعت از عفونت استافیلوکوکی مرتبط با توجه به سلامت به کار می‌رود همچون عفونت ناحیه جراحی و عفونت عروق خونی در بیماران تحت همودیالیز با افزایش MRSA مرتبط با جمعیت موپیروسین اکنون به عنوان حاملین در ممانعت از عفونت‌های رایج و قطع شیوع عفونت پوست مرتبط با MRSA به کار می‌رود [۱۷]. به دلیل بیان غیریکنواخت ژن mec-A تست های تشخیص دقیق باکتری و مقاومت به متی سیلین با مشکل رو به رو می‌شوند، لذا لازم است جهت تشخیص دقیق و کنترل بیماری روش‌های دقیق، سریع و اختصاصی‌تر همانند PCR استفاده شود که بر اساس تکثیر ژن mec-A عمل می‌کند [۱۳]. موپیروسین (pseudomonic acid A) مشابه به اسید آمینه ایزولوسین است و با به کار بردن آن از فعال شدن این اسید آمینه توسط ایزولوسیل tRNA سنتتاز کد شده و به وسیله ژن ileS کروموزمی ممانعت می‌شود و در نتیجه پروتئین‌سازی باکتری مهار می‌گردد [۱۸]. بنابراین با توجه به الگوی متفاوت مقاومت آنتی بیوتیکی در هر منطقه هدف از این مطالعه بررسی فراوانی ناقلین بدون علامت استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین و موپیروسین به روش Multiplex PCR در بین کارکنان بیمارستان داراب می‌باشد.

روش کار:

در این مطالعه که به صورت مقطعی توصیفی انجام گردید. در مدت ۶ ماه و بر اساس مطالعات پیشین ۱۵۰ نفر از پرسنل بیمارستان شهرستان داراب انتخاب و از نظر مقاوت آنتی بیوتیکی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی قرار گرفتند. بدین صورت که نمونه‌گیری با استفاده از سواپ استریل از قسمت قدامی بینی این افراد انجام شد و سواپ هر فرد در محیط تریپل سوی براث قرار گرفت. سپس نمونه‌ها کمتر از ۲ ساعت به آزمایشگاه انتقال و به مدت ۴۸-۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد روی محیط مانیتل سالت آگار انکوبه شدند. پس از رشد

[Downloaded from jmj.jums.ac.ir on 2022-07-03]
[DOI: 10.52547/jmj.17.3.35]

باکتری ها، با استفاده از تست های تشخیصی رنگ آمیزی گرم، تست کاتالاز ، آزمایش کواگولاز، تست DNase، باکتری تعیین هویت گردید.

شناسایی مقاومت به موپیروسین و متی سیلین:

تست حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌ها به روش دیسک دیفیوژن (Kirby-Bauer) انجام شد. به این صورت که از محیط مولرهینتون اگار و سوسپانسیون باکتریایی با کدورت نیم مک فارلند انجام شد و برای تعیین مقاومت به متی سلین و موپیروسین و سایر آنتی‌بیوتیک‌ها با استفاده از راهنمای CLSI نجام شد. دیسک ها با پنس استریل با رعایت فاصله مناسب از یکدیگر روی محیط مولر هینتون آگار قرار داده شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور 37C قرار داده شد، سپس قطر ناحیه مهار رشد باکتری اندازه گیری شد و پس از مقایسه با جدول استاندارد [۸]، به سه صورت مقاوم، نیمه حساس و حساس دسته بندی و گزارش شد.

استخراج DNA به روش جوشاندن:

پس از شناسایی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، DNA باکتری با استفاده از روش جوشاندن (Boiling) استخراج گردید. این روش آسان، سریع و ارزان می‌باشد. با این روش با متلاشی شدن باکتری تمام محتویات سلول از جمله DNA و پلاسمید از باکتری خارج می‌شود با سانتریفیوژ کردن لاشه باکتری رسوب و DNA بصورت محلول باقیمی ماند از این محلول حاوی DNA جهت انجام واکنش PCR می‌توان استفاده نمود.

روش‌های مولکولی:

پس از شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین و موپیروسین، ابتدا با استفاده از واکنش PCR مراحل set up آزمایش انجام و بهینه سازی صورت گرفت. سپس با استفاده از Multiplex PCR ژن هایnuc, mec-A, mup به طور همزمان تکثیر شدند.

تهیه مخلوط PCR برای ژن های nuc, mec-a, mup:

مراحل تهیه مخلوط PCR در محفظه عاری از DNA و RNA (DNA-Free, RNA-Free) انجام گردید. بدین ترتیب که تمام مواد پس از ذوب شدن یخ، ورتکس و میکروفیوژ شده و بر روی ظرف یخ منتقل گردیدند. پس از تهیه مخلوط واکنش، آن را ورتکس و میکروفیوژ کرده و در حجم های ۴۵ میکرولیتری در میکروتیوب های ۰/۲ میلی‌لیتری تقسیم گردید و در نهایت در خارج از اتاق PCR و در زیر هود استریل، ۵ میکرولیتر از هر یک از نمونه های DNA استخراج شده به هر میکروتیوب اضافه گردید. ۵ میکرولیتر از آب دو بار تقطیر دیونیزه نیز به عنوان کنترل منفی به میکروتیوب کنترل منفی اضافه شد. همچنین برای جداسازی ژن با استفاده از پرایمر های ذکر شده از غلظت‌های مختلف یون Mg ودماهای مختلف اتصال پرایمر به الگو جهت تعیین شرایط بهینه واکنش استفاده گردید (جدول ۱).

تهیه مخلوط Multiplex PCR برای شناسایی همزمان ژن‌های nuc, mec-a, mup:

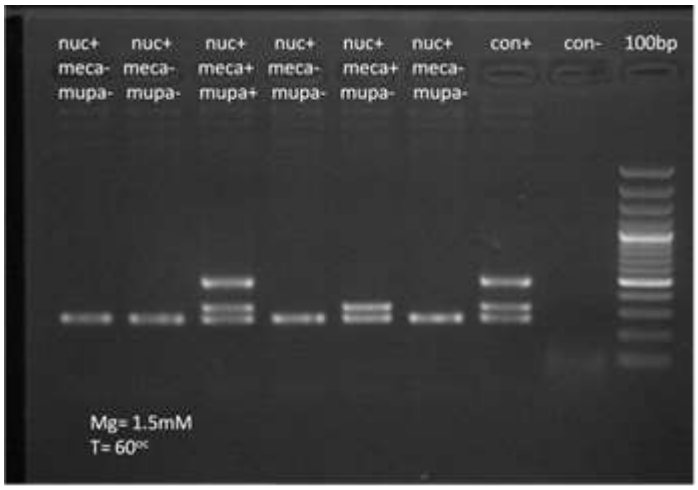
در PCR ژن‌های مورد نظر بصورت مجزا با غلظت 1.5mM یون Mg و دمای اتصال پرایمر به الگو ۶۰ درجه سانتی گراد انتخاب گردید. به همین خاطر برای جداسازی ژنهای مورد نظر بطور همزمان با استفاده از پرایمر های ذکر شده تنها از یک غلظت یون Mg استفاده شد اما دماهای مختلف اتصال پرایمر به الگو جهت تعیین شرایط بهینه واکنش استفاده گردید. DNAی استخراج شده از باکتری مقاوم با روش جوشاندن به عنوان DNA الگو جهت تکثیر قطعات مورد نظر بطور همزمان در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مورد استفاده قرار گرفت. در این مرحله ارزیابی و مشاهده ی محصولات PCR صورت گرفت، برای بررسی محصولات از روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز استفاده گردید. با قرار دادن ژل در دستگاه UV illuminator و به کمک اشعه ماوراء بنفش با طول موج ۲۵۴ نانومتر، موقعیت و کیفیت باندها قابل مشاهده و بررسی گردید (شکل ۱).

با استفاده از نسخه نوزدهم نرم افزار SPSS و آزمون‌های (Binomial)، مربع کای (Pearson Chi-Square) و دقیق فیشر (Fisher's Exact Test) داده ها آنالیز شدند. مرز معنی داری در P کوچکتر از ۰/۰۵ قرار داده شد.

جدول۱: پرایمرهای بکار رفته جهت انجام PCR

mec (F)	5'-GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA-3'
mec (R)	5'-CCAATTCCACATTGTTTCGGTCTAA-3'
mup (F)	5'-TATATTATGCGATGGAAGGTTGG-3'
mup (R)	5'-AATAAAATCAGCTGGAAAGTGTTG-3'
Nuc (F)	5'-GCGATTGATGGTGATACGGTT-3'
Nuc (R)	5'-AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC-3'

[Downloaded from jmj.jums.ac.ir on 2022-07-03]
[DOI: 10.52547/jmj.17.3.35]



شکل ۱: نتیجه الکتروفورز محصولاتMultiplex PCR برای هر سه ژن برای کل نمونه‌ها

یافته‌ها:

از ۱۵۰ نفر افراد مورد مطالعه ، ۱۲۰ نفر (۸۰٪) زن بودند. در کل ۵۳ نفر (۳۵٪/۳) ناقل استافیلوکوکوس اورئوس بودند که ۴۲ نفر از آنها زن بودند (جدول ۲).

در کل ۱۵ ایزوله (۲۸٪/۳) مقاوم به متی سیلین و ۲ ایزوله (۳٪/۸) مقاوم به موپیروسین بودند. در مردان ۴ ایزوله (۳۶٪/۴) مقاوم به متی سیلین بودند و هیچ کدام به موپیروسین مقاوم نبودند. ولی در زنان، ۱۱ ایزوله (۲۶/۲٪) مقاوم به متی سیلین و ۲ ایزوله (۴٪/۸) مقاوم به موپیروسین بودند. بین جدایه‌های استافیلوکوکوس و جنسیت اختلاف معنی داری وجود داشت. اما بین جنسیت و نمونه های استافیلوکوکوس و غیر استافیلوکوکوس جدا شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین در جدایه‌های استافیلوکوکوس بین جنسیت افراد و نوع مقاومت مورد پژوهش اختلاف معنی داری وجود نداشت (P= ۰/۸۱۸) (جدول ۳).

جدول ۲: فراوانی نسبی پرسنل دارای استافیلوکوکوس اورئوس بر اساس جنسیت

نمونه / جنسیت	استافیلوکوکوس اورئوس	غیره	کل
زن	(۳۵٪)۴۲	(۷۵٪)۷۸	(۸۰٪)۱۲۰
مرد	(۳۶٪/۷)۱۱	(۶۳٪/۳)۱۹	(۲۰٪) ۳۰
کل	(۳۵٪/۳) ۵۳	(۶۴٪/۷)۹۷	(۱۰۰٪) ۱۵۰

جدول ۳. فراوانی ژن مقاوم به متی سیلین و موپیروسین در استافیلوکوکوس اورئوس بر اساس جنسیت

نوع دارو / جنسیت	متی سیلین	موپیروسین	غیره	کل
ایزوله (زن)	(۲۶٪/۲) ۱۱	(۴٪/۸) ۲	(۶۹٪/۰) ۲۹	(۷۹٪/۲) ۴۲
ایزوله (مرد)	(۳۶٪/۴) ۴	(۰٪/۰) ۰	(۶۳٪/۶) ۷	(۲۰٪/۸) ۱۱
کل	(۲۸٪/۳) ۱۵	(۳٪/۸) ۲	(۶۷٪/۹) ۳۶	(۱۰۰٪) ۵۳

بحث:

مقاومت استافیلوکوکوس ائوروس به موپیروسین در بسیاری از کشورها مورد مطالعه قرار گرفته است و روش‌های مختلفی برای شناسایی سویه های مقاوم پیشنهاد شده ازجمله دیسک دیفیوژن، تعیین MIC و روش PCR [۲۰،۱۹]. نتایج تحقیق حاضر با مطالعه

[Downloaded from jmj.jums.ac.ir on 2022-07-03]
[DOI: 10.52547/jmj.17.3.35]

Martinez و همکاران که نشان دادند سویه های CA-MRSA به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها مانند کلیندامایسین و تری‌متوپریم سولفامتوکسازول حساس می باشند؛ همسو می باشد [۲۱].
همچنین در مطالعات مختلف که در آن استفاده از تکنیک PCR برای تعیین میزان شیوع سویه‌های MRSA استفاده شده، مشخص شده که، شناسایی مولکولی به دلیل صحت، سرعت و حساسیت بالا، دارای ارزش بالایی برای شناسایی سویه‌های MRSA می‌باشد [۲۲]. همچنین در کشور تایلند، نیز با استفاده از روش‌های فنوتیپیک و مولکولی (PCR ژن mecA) تعداد ۱۰۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از سواب بینی شناسایی شده که نشان می‌دهد با استفاده از روش‌های فنوتیپیک، امکان تفکیک سویه های حساس به متی سیلین از سویه‌های MRSA بسیار ناچیز بوده؛ بنابراین ضروری است که با استفاده از روش مولکولی حضور ژن mecA به عنوان شاخص مقاوم بودن مورد ارزیابی قرار گیرد [۲۳].
در مطالعه‌ای در ایران نشان داده شده است که ۸۸٪ ایزوله‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس MRSA می‌باشند و تأکید شده است که شیوع MRSA در ایران رو به افزایش می‌باشد [۲۳]. همچنین اشاره شده است که بیان هتروژن مقاومت به متی سیلین در بین سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس می‌تواند ارزیابی میزان مقاومت را با استفاده از روش های فنوتیپیک با چالش جدی مواجه کند [۲۴،۳]. بر این اساس است که شناسایی حضور ژن mecA به عنوان استاندارد طلایی مطرح است [۱۷]. در مطالعه حاضر نیز از شناسایی ژن mecA به عنوان روش تأییدی استفاده گردید و نتایج بدست آمده از روش فنوتیپیک را مورد تأیید قرار داد. چنانچه نتایج پژوهش حاضر نشان دادند در نمونه‌های مقاوم به متی‌سیلین نیز ژن mecA شناسایی شد که موافق با نتایج پژوهش‌های پیشین می باشد. صدیقی و همکاران در سال۲۰۱۱، میزان شیوع MRSA در بینی کودکان در مراکز نگهداری کودکان در همدان را ۴/۱ ٪گزارش کردند. در مطالعات دیگر نیز بیان شده که، میزان مقاومت درنقاط مختلف از جمله تهران، همدان، شیراز، بابل و سایر نقاط، تفاوت‌هایی داشته است؛ چنانچه در مطالعه‌ای در سال۱۳۸۰ در شهر تهران، شیوع MRSA ۳۳/۴ ٪ اعلام گردید. درمطالعه دیگری که در سال۱۳۸۳ در شهر تهران انجام شد MRSA٪۳۹ گزارش شد. در مطالعه‌ای در همدان، مشخص گردید که شیوع MRSA ٪۵۰ می‌باشد. در مطالعه دیگری که در سال ۱۳۸۵ در بابل انجام گرفت شیوع MRSA ها ۴۲٪ و در بررسی سال ۱۳۸۶ در تهران MRSA ۴۷٪/۶ مشخص گردید. این نتایج به این نکته اشاره دارند که شیوع سویه‌های MRSA با گذشت زمان در کشور ما نیز رو به افزایش است [۱]. مطالعات متعددی در ارتباط با مقاومت به موپیروسین در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متیسیلین، حساس به متیسیلین و همچنین استافیلوکوک‌های کوآگولازمنفی درسراسر دنیا و از جمله ایران صورت گرفته است .با توجه به در دسترس بودن موپیروسین از سال ۱۹۸۶، افزایش ثابت در میزان مقاومت به موپیروسین از سال ۱۹۹۰ به بعد مشاهده شده است [۲۵]. حسامی و همکاران در بررسی ۱۱ سویه مقاوم به روش فنوتیپی مشخص نمودند که، در یک سویه مقاومت پایین در E-test ژن ۱ – ileS و در ۴ سویه که مقاومت بالا را نشان دادند، ژن mupA شناسایی گردید که نشان دهنده حضور پلاسمید حاوی ژن mupA در این سویه‌های مقاوم است [۲۶]. نتایج مطالعه حاضر نیز حضور ژن mupA را در گونه های با مقاومت بالا را نشان داد. در سال ۲۰۱۳، Jayakumar و همکارانش نیز این سه گروه از سویه ها را مورد بررسی قرار دادند؛ در این مطالعه از مجموع ۱۵۰ سویه، ۳/۳ درصد از سویه‌ها مقاوم به موپیروسین شناخته شدند؛ که تا حدودی نزدیک به نتایج مقاومت به موپیروسین در زنان مورد مطالعه حاضر می‌باشد. در مطالعه مهاجری که در سال ۲۰۱۲ بر روی سویه های استافیلوکوکی برای شناسایی مقاومت به موپیروسین انجام شد، هیچ نوع مقاومتی به موپیروسین شناسایی نشده است و این آنتی بیوتیک به دلیل عدم وجود مقاومت در شهر کرمانشاه همانند شهر اراک قابلیت استفاده دارد [۲۷]. عواملی می‌تواند روی میزان شیوع استافیلوکوکوس‌های مقاوم به موپیروسین درکشورهای مختلف از جمله ایران مؤثر باشد، این موارد شامل سیاستهای مختلف در اجرای برنامه کنترل عفونت، میزان و چگونگی تجویز آنتی بیوتیک، جمعیت، سویه غالب و در نهایت به نوع متدولوژی آزمایشگاهی جهت تشخیص استافیلوکوک‌های مقاوم به موپیروسین بستگی دارد [۲۸] و به طور خلاصه با توجه به نقش موثر آنتی بیوتیک موپیروسین براغلب کوکوس‌های گرم مثبت این آنتی‌بیوتیک از اهمیت به سزایی در درمان بیماران و ناقلین برخوردار است. لذا بررسی مقاومت در آنها می‌تواند راه مؤثری جهت انتخاب درمان مناسب دراین گونه عفونت‌ها باشد [۱۸].
این مطاله که در مدت شش ماه برای اولین بار در بیمارستان شهر داراب بر روی پرسنل بیمارستان انجام گردیده با سایر مطالعات دیگر در همبن زمینه همخوانی داشته چنانچه در این مطالعه نیز بیان شده که در گونه‌های مقاوم به متی سیلین نیز ژن mupA شناسایی شده و همچنین استفاده از روش‌های مولکولی به منظور درک بهتر و شناسایی مؤثرتر این باکتری‌ها توصیه می‌شود، بنابراین نتایج تحقیق حاضر می تواند مورد استفاده پزشکان برای انتخاب تدابیر مناسب در جهت درمان و کنترل عفونت‌های بیمارستانی با سویه‌های MRSA قرار بگیرد. همچنین این نتایج می تواند دانش پایه در زمینه میکروب شناسی و

[Downloaded from jmj.jums.ac.ir on 2022-07-03]
[DOI: 10.52547/jmj.17.3.35]

اپیدمیولوژی بیماری‌های عفونی در منطقه و شهرستان داراب را ارتقا ببخشد.

نتیجه‌گیری:

نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده وجود سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم نسبت به متی سیلین و موپیروسین است. با توجه به افزایش روز افزون مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، باید از تجویز بدون نسخه و استفاده غیر ضروری از آنتی بیوتیک ها خودداری نمود.

تشکر و قدردانی:

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم است. نویسندگاه لازم می دانند از زحمات کلیه پرنسل آزمایشگاه بیمارستان داراب تشکر و قدردانی کنند.

References:

1.Kwon NH, Park KT, Moon JS, Jung WK, Kim SH, Kim JM, et al. Staphylococcal cassette chromosome mec (SCC mec) characterization and molecular analysis for methicillin-resistant Staphylococcus aureus and novel SCC mec subtype IVg isolated from bovine milk in Korea. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2005;56(4):624-32.
2.Chan CX, Beiko RG, Ragan MA. Lateral transfer of genes and gene fragments in Staphylococcus extends beyond mobile elements. Journal of bacteriology. 2011;193(15):3964-77.
3.Sakoulas G, Gold HS, Venkataraman L, DeGirolami PC, Eliopoulos GM, Qian Q. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: comparison of susceptibility testing methods and analysis of mecA-positive susceptible strains. Journal of clinical microbiology. 2001;39(11):3946-51.
4.Diekema D, Pfaller M, Schmitz F, Smayevsky J, Bell J, Jones R, 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. Clinical Infectious Diseases. 2001;32 (Supplement _2):S114-S32.
5.Naimi TS, LeDell KH, Boxrud DJ, Groom AV, Steward CD, Johnson SK, et al. Epidemiology and clonality of community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Minnesota, 1996–1998. Clinical Infectious Diseases. 2001;33(7):990-6.
6.Dufour P, Gillet Y, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Floret D, et al. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections in France: emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. Clinical Infectious Diseases. 2002;35(7):819-24.
7.Ghadiri K. Nasal carriage rate of community-and hospital-acquired methicillin-resistant staphylococcus aureus in children, Kermanshah, Iran. Archives of Clinical Infectious Diseases. 2012;6(3):117-20.
8. Somayeh Ra, Mehdi A, Fatemeh C, Sara, Abolfazl A, Fatemeh Sh, et al. Frequency of methicillin-resistant Staphylococcus aureus carriers in Gorgan Hospital Personnel 1387-1388.
9.Saderi H, Owlia P, Zafarghandi N. Evaluation of antibiotic resistance in Staphylococcus Aureus isolated from nose of two teaching hospitals staff of Shahed University. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2004;14(42):69-75.
10.Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology: Elsevier Health Sciences; 2015.
11.Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich A, Bruggeman C, Stobberingh E. The molecular evolution of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Clinical Microbiology and Infection. 2007;13(3):222-35.
12.Do kar J, Pallová P, Pantucek R, Rosypal S, Ruzicková V, Pantucková P, et al. Genomic relatedness of Staphylococcus aureus phages of the International Typing Set and detection of serogroup A, B, and F prophages in lysogenic strains. Canadian journal of microbiology. 2000;46(11):1066-76.
13.Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Proceedings of the National Academy of Sciences. 2002;99(11):7687-92.
14.Gesualdo F, Onori M, Bongiorno D, Campanile F, Carloni E, Mancinelli L, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus nasal colonization in a department of pediatrics: a cross-sectional study. Italian journal of pediatrics. 2014;40(1):3.
15.Deresinski S. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: an evolutionary, epidemiologic, and therapeutic odyssey. Clinical infectious diseases. 2005;40(4):562-73.
16.Brown DF. Detection of methicillin/oxacillin resistance in staphylococci. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2001;48(suppl_1):65-70.
17.Sajith Khan A, Shetty PJ, Lakshmi Sarayu Y, Chidambaram A, Ranganathan R. Detection of mecA genes of methicillin-resistant Staphylococcus aureus by polymerase chain reaction. International Journal of Health and Rehabilitation Sciences (IJHRS). 2012;1(2):64-8.
18.Hesami S, Hosseini SD, Amouzandeh-Nobaveh A, Eskandari S, Ghaznavi-Rad E. Phenotypic and genotypic determination of mupirocin resistance among methicillin susceptibility and resistance in Staphylococci isolated from nosocomial infections. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2014;23(1):30-9.
19.Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie MR. Prophage and antibiotic resistance profiles of

[Downloaded from jmj.jums.ac.ir on 2022-07-03]
[DOI: 10.52547/jmj.17.3.35]

Staphylococcus Aureus carriers in personnel of Vali-e-asr hospital, Arak, 2004. 2008.
25.Francois P, Renzi G, Pittet D, Bento M, Lew D, Harbarth S, et al. A novel multiplex real-time PCR assay for rapid typing of major staphylococcal cassette chromosome mec elements. Journal of clinical microbiology. 2004;42(7):3309-12.
26.Yun H-J, Lee SW, Yoon GM, Kim SY, Choi S, Lee YS, et al. Prevalence and mechanisms of low-and high-level mupirocin resistance in staphylococci isolated from a Korean hospital. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2003;51(3):619-23.
27.Mohajeri P, Gholamine B, Rezaei M, Khamisabadi Y. Frequency of Mupirocin resistant Staphylococcus aureus strains isolated from nasal carriers in hospital patients in Kermanshah. Jundishapur Journal of Microbiology. 2012;5(4):560-3.
28.Saderi H, Owlia P, Eslami M. Prevalence of Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B (MLSB) resistance in S. aureus isolated from patients in Tehran, Iran. Iranian journal of pathology. 2009;4(4):161-6.
methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains in Iran. Archives of virology. 2012;157(9):1807-11.
20.Steele RW. Clinical Handbook of Pediatric Infectious Disease: CRC Press; 2007.
21.Martinez L, Oncale AD, Oncale MB, Corbin A, Nathaniel R. Nasal Carriage Rates of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus in Healthy Individuals from a Rural Community in Southeastern United States. World Journal of Medical Sciences. 2009;4(2):65-9.
22.Pantůček R, Doškař J, Růžičková V, Kašpárek P, Oráčová E, Kvardova V, et al. Identification of bacteriophage types and their carriage in Staphylococcus aureus. Archives of virology. 2004;149(9):1689-703.
23.Rahimi-Alang S, Asmar M, Cheraghali F, Yazarlou S, Amini A, Shakeri F, et al. Frequency of methicillin resistant Staphylococcus aureus in health care. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2011;13(1):17-22.
24.Sarmadian H, Didgar F, Abtahi H. The comparison of topical nasal Mupirocin and single dose of oral Ciprofloxacin in treatment and reinfection of

[Downloaded from jmj.jums.ac.ir on 2022-07-03]

[DOI: 10.52547/jmj.17.3.35]

Original Article

Methicillin and Mupirocin resistance genes in Staphylococcus aureus isolated from hospital staff in Darab by using of Multiplex

Houshang Jamali[1*]

Received:2018.10.24 Revised:2020.01.07 Accepted:2020.01.13

1. Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.17, No.3, Fall 2019

Pars J Med Sci 2019;17(3):35-42

Abstract:

Introduction:
Methicillin and Mupirocin –resistance Staphylococcus aureus (MRSA) are considered as the important hospital pathogens. One of the important resources of this organism in nosocomial infection is related to hospital personnel. The objective of this research was is to investigate the frequency of MRSA gene in staphylococcus aureus isolated from Hospital staff in Darab by multiplex PCR.

Materials and Methods:
In this study, 150 hospital staffs were investigated and specimens of staphylococcus aureus which isolated from those were confirmed by biochemical and microbial methods. The disk diffusion method was used to determine the susceptibility of the isolates to methicillin and mupirocin antibiotic. Then, the presence of mec-A, mup and nuc genes were investigated by using of Multiplex PCR method.

Results:
Among of 150 subjects investigated, 120 ones (80%) were female. Totally, 53 people (35.3%) were carriers of Staphylococcus aureus which 42 and 11 were female and male, respectively. Among of the 11 staphylococcus aureus isolated in men, 4 cases were methicillin-resistant and any of them were not mupirocin-resistant. Of the 42 staphylococcus aureus isolated in women studied, 11 cases were methicillin-resistant and 2 cases were mupirocin-resistant. Using of molecular method, 11 isolates (9.5%) were contained mec-A gene and any of isolates were not contained mup gen.

Conclusion:
The frequency of methicillin- and mupirocin-resistant staphylococcus aureus among the personnel of Darab Hospital was relatively low. However, permanent control of the carriers and treatment of them can prevent the spread of this bacterium and its associated infections.

Keywords: Staphylococcus Aureus, Mupirocin, Methicillin, Multiplex PCR, Antibiotic Resistance

[Downloaded from jmj.jums.ac.ir on 2022-07-03]

[DOI: 10.52547/jmj.17.3.35]

* Corresponding author Email: h.jamali1970@gmail.com