

## بررسی شیوع استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و الگوی SCCmec در ایزوله‌های جدا شده از نمونه‌های بیمارستانی

### چکیده

دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۱۰ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۱۰ آنلاین: ۱۳۹۵/۰۱/۱۴

محمد رضا عربستانی<sup>۱</sup>، محمد یوسف علیخانی<sup>۱</sup>، منوچهر کرمی<sup>۲</sup> الهام سلیمی قلعه<sup>۳\*</sup>

۱- گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.  
۲- مرکز تحقیقات بروسوز، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.  
۳- گروه اپیدمیولوژی، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی موثر بر سلامت و گروه اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.

**زمینه و هدف:** استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی پیش‌تر به‌عنوان آلوده‌کننده‌های محیط کشت در نظر گرفته می‌شدند. امروزه یکی از فراوانترین باکتری‌های پاتوژن بیمارستانی محسوب می‌شوند. محدوده مقاومت به بتالاکتام‌ها در این گونه‌های استافیلوکوک باعث ایجاد نگرانی‌هایی در بیمارستان‌ها شده است. شناسایی سریع مکانیسم‌های مقاومتی و تایید مقاومتشان به متی‌سیلین یک اصل اساسی برای درمان‌های آنتی‌بیوتیکی است. این مطالعه با هدف تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن *mecA* و تعیین تیپ‌های SCCmec در استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی جدا شده از بیمارستان‌های آموزشی شهر همدان انجام شد.

**روش بررسی:** این مطالعه مقطعی از شهریور تا بهمن ۱۳۹۴ بر روی صد نمونه استافیلوکوک کواگولاز منفی (CNS) جدا شده از بیماران با محدوده سنی ۶۹-۷ سال از چهار بیمارستان آموزشی مختلف دانشگاه علوم پزشکی شهر همدان انجام شد. بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها به روش دیسک دیفیوژن آگار انجام شد و در مرحله بعد شناسایی ژن *mecA* و تعیین تیپ‌های SCCmec با روش واکنش زنجیره پلیمرز انجام شد.

**یافته‌ها:** فراوانی سویه‌ها به ترتیب استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (۵۵٪/۵۵)، استافیلوکوکوس همولتیکوس (۴۰٪/۴۰) و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (۵٪/۵) گزارش گردید. در تست آنتی‌بیوگرام بالاترین حساسیت به آنتی‌بیوتیک ریفامپین (۹۶٪/۹۶) و بیشترین مقاومت به تری‌متوپریم سولفامتوکسازول (۴۷٪/۴۷) مشاهده شد. شیوع مقاومت به متی‌سیلین نیز در (۵۰٪/۵۰) از نمونه‌ها مشاهده گردید. فراوانی تیپ‌های SCCmec در ۵۰ ایزوله مقاوم به متی‌سیلین به ترتیب تیپ ۳ (۱۳٪/۱۳) عدد، تیپ ۵ (۱۱٪/۱۱)، تیپ ۲ (۶٪/۶)، تیپ ۴ (۴٪/۴)، تیپ ۱ (۳٪/۳) عدد مشاهده گردید و (۱۳٪/۱۳) تا از ایزوله‌ها با روش PCR تیپ‌بندی نشدند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تیپ غالب SCCmec مربوط به تیپ ۳ می‌باشد و ژن‌های مقاومت زیادی توسط این تیپ کد می‌شود.

**کلمات کلیدی:** مطالعه توصیفی - مقطعی، استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی، واکنش زنجیره پلیمرز، ژن *mecA* تیپ‌های SCCmec.

\* نویسنده مسئول: همدان، دانشگاه علوم پزشکی همدان، دانشکده پزشکی، گروه میکروبی‌شناسی، کدپستی: ۶۵۱۷۶۱۹۶۵۳

تلفن: ۰۸۱-۲۳۸۲۸۰۷۷

E-mail: elhamsalimi19@gmail.com

### مقدمه

گذشته این باکتری‌ها به‌عنوان باکتری‌های پاتوژن بیمارستانی و فراوانترین میکروارگانیزم‌های جدا شده از نمونه‌های کلینیکی به حساب می‌آیند.<sup>۱</sup> استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی جزء فلور طبیعی و غیربیماری‌زای پوست انسان هستند و گاهی موجب عفونت می‌شوند و با عفونت در اندام‌های مصنوعی (کاترها، شانت‌ها، مفاصل

استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی که بر روی پوست و غشاهای مخاطی انسان و حیوانات کلونیزه می‌شوند،<sup>۱</sup> پیش‌تر به‌عنوان آلوده‌کننده‌های محیط کشت در نظر گرفته می‌شدند، اما در طی دهه

باشند<sup>۴</sup> که همین امر باعث شکل گیری استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین می گردد که درمان های آنتی بیوتیکی را با مشکل مواجه می نماید و پیامدهای شدیدی را به دنبال خواهد داشت.

مطالعه حاضر با هدف تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و فراوانی ژن *mecA* و تعیین تیپ های SCCmec در استافیلوکوک های کوآگولاز منفی جدا شده از بیمارستانهای آموزشی شهر همدان انجام شد.

## روش بررسی

مطالعه حاضر به صورت مقطعی از شهریور تا بهمن ۱۳۹۴ بر روی صد نمونه استافیلوکوک کوآگولاز منفی (CNS) جدا شده از بیماران با محدوده سنی ۶۹-۷ سال از چهار بیمارستان آموزشی مختلف دانشگاه علوم پزشکی شهر همدان انجام شد.

نمونه های ایزوله شده بر روی محیط کشت بلاد آگار و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. شناسایی ایزوله ها به وسیله روش های استاندارد میکروپ شناسی شامل رنگ آمیزی گرم، تست کاتالاز، تست کوآگولاز، آزمون مقاومت به باسی تراسین، پلی میکسین B و نوپوسین، تست هیدرولیز اوره و کشت بر روی محیط مانیتول سالت آگار انجام شد.

جهت بررسی آزمایشات مورد نظر باکتری های ذخیره شده در محیط کشت BHI با ۲۰٪ گلیسرول مورد بررسی قرار گرفتند. استخراج DNA تمامی سویه ها به کمک لیزوزیم و بر اساس کار دستور شرکت سازنده کیت (BioFlux, Japan) انجام شد. جهت شناسایی ژن *mecA* (ژن کد کننده مقاومت به متی سیلین) واکنش PCR تکی در حجم نهایی ۲۰ μl، شامل: ۲ μl DNA الگو، ۱ μl از هر پرایمر، ۱۰ μl Mastermix (Parstous Biotech Co., Iran) Thermal Cycler آب دو بار تقطیر و در نهایت با استفاده از دستگاه (Mastercycler, Eppendorf AG, Hamburg, Germany) انجام گرفت. برنامه چرخه حرارتی واکنش مولتی پلکس PCR برای ژن ها به صورت واسرشته سازی اولیه (Initial Denaturation) در ۹۵ °C به مدت پنج دقیقه و سپس در ادامه ۳۵ چرخه PCR به ترتیب واسرشته سازی اولیه ۹۵ °C به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمر (Primer Annealing) ۵۳ °C به مدت ۹۰ ثانیه و طولیل سازی (Extension)

(مصنوعی) به ویژه در کودکان یا افراد مسن و بیماران مبتلا به نارسایی ایمنی در ارتباط هستند. مهمترین سویه های استافیلوکوک های کوآگولاز منفی شامل استافیلوکوک اپیدرمیدیس، استافیلوکوک همولیتیکوس، استافیلوکوک ساپروفیتیکوس، استافیلوکوک کوهنی که در افراد ایمنوساپرسیو بیماری زا هستند.<sup>۳</sup> گفتنی است که در حدود ۷۵٪ از عفونت های ناشی از استافیلوکوک های کوآگولاز منفی توسط استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ایجاد می شود.

استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس عامل عفونت مجرای ادراری در زنان بوده و استافیلوکوک همولیتیکوس یکی از عوامل مهم باکتری در ارتباط با کاتترهای وزیکولی است. پیدایش مقاومت آنتی بیوتیکی و دارویی به ویژه مقاومت به متی سیلین یک مشکل جدی برای درمان بیماران با عفونت های استافیلوکوکی است. بر اساس مطالعات انجام شده ۸۵-۶۰٪ از سویه های استافیلوکوک جدا شده از نمونه های کلینیکی به متی سیلین مقاوم هستند.<sup>۴</sup>

استافیلوکوک های کوآگولاز منفی یکی از عوامل مهم عفونت های بیمارستانی می باشند در بین این باکتری ها بیشترین گونه های جدا شده از نمونه های بیمارستانی استافیلوکوک اپیدرمیدیس، استافیلوکوک همولیتیکوس، استافیلوکوک ساپروفیتیکوس، استافیلوکوک هومینیس و استافیلوکوک سیمولانس هستند.<sup>۵</sup> گونه های استافیلوکوک ساکارولینیکوس و کوهنی و کپیتیس و وارنری هر چند از عفونت های انسانی گزارش شده اند اما به طور معمول کمیاب هستند.

متی سیلین یک پنی سیلین نیمه صنعتی است که میل ترکیبی کمی برای آنتی بیوتیک دارد. این پروتیین به وسیله ژن *mecA* کد می شود<sup>۶</sup> که درون یک جزیره ژنومی به نام SCCmec قرار دارد. SCCmec یک جزیره ژنتیکی متحرک با اندازه ای در حدود ۶۷-۲۱ کیلو باز بوده که متشکل از دو جزء مجموعه کمپلکس *ccr* و کمپلکس ژن *mecA* است. کمپلکس *mec* شامل *mecR*، *mecI* و *mecC* که مقاومت به متی سیلین را کد می کند و کمپلکس *ccr* شامل *ccrA*، *B*، *C* بوده که آنزیم های ریکامیناز مسئول این حرکت را کد می نماید.<sup>۷</sup> با توجه به کلاس هایی از کمپلکس ژن *mec* و تیپ های *ccr* تا به حال ۸ تیپ از SCCmec در استافیلوکوکوس ها شناسایی شده است.<sup>۸</sup> با توجه به مطالعات انجام شده مقاومت به متی سیلین در استافیلوکوک های کوآگولاز منفی در حال افزایش بوده و گمان بر این است که این نوع باکتری ها به عنوان منبعی از انتقال مقاومت به استافیلوکوک اورئوس

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه<sup>۱۱</sup>

دمای اتصال	محصول (جفت باز)	شماره ژن	توالی	ژن هدف
۵۳	۱۶۲	<i>mecA</i> gene	F:TCCAGATTACAACCTCACCAGG R: CCACCTTCATATCTTGTAACG	<i>mecA</i>
۵۳	۶۱۳	ORF E008 of strain NCTC10442	F:GCTTTAAAGAGTGTCTGTTACAGG R:GTTCTCTCATAGTATGACGTCC	تیپ یک
۵۳	۲۸۷	kdpE of strain N315	F:GATTACTTCAGAACCCAGGTCAT R:TAAACTGTGTCCACACGATCCAT	تیپ دو
۵۳	۲۴۳	J1 region of SCCmec type III	F:CATTGTGAAAACACAGTACG R:GTTATTGAGACTCCTAAAGC	تیپ سه
۵۳	۷۷۶	ORF CQ002 of strain CA05	F:GCCTTATTCGAAGAAAACCG R:CTACTCTTCTGAAAAGCGTGC	تیپ چهار
۵۳	۳۲۵	ORF V011 of strain JCS3624	F:CAAACACTGATATTGTGTGCG R:GAACATTGTTACTTAAATGAGCG	تیپ پنج

DNA الگو و ۱/۵ µl آب دوبار تقطیر می‌باشد. برنامه چرخه حرارتی واکنش مولتی پلکس PCR برای ژن‌ها به صورت واسرشته‌سازی اولیه در ۹۵ °C به مدت پنج دقیقه و سپس در ادامه ۳۵ چرخه PCR به ترتیب واسرشته‌سازی اولیه ۹۵ °C به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمر ۵۳ °C به مدت ۹۰ ثانیه و طول‌سازی ۷۲ °C به مدت یک دقیقه و در نهایت یک مرحله طول‌سازی نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ °C انجام شد.<sup>۱۳</sup> توالی پرایمرهای استفاده شده در این مطالعه گزارش شد (جدول ۱).

## یافته‌ها

از صد نمونه باکتری ایزوله شده از چهار بیمارستان آموزشی شهر همدان ۳۱ نفر مرد و ۶۹ نفر زن بودند. نمونه‌های ایزوله شده به ترتیب دارای درصد فراوانی خون (۴۴٪/۴۴)، ادرار (۳۸٪/۳۸)، کاتتر (۱۴٪/۱۴) و زخم (۴٪/۴) بودند. همچنین درصد فراوانی باکتری‌های جداسازی شده به ترتیب شامل: *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* (۵۵٪/۵۵)، *استافیلوکوکوس همولیتیکوس* (۴۰٪/۴۰) و *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* (۵٪/۵) بود. حساسیت سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های گفته شده در جدول ۲ نمایش داده شده است.

نتایج آنتی‌بیوگرام: باکتری‌های مورد آزمون دارای بیشترین حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک ریفاپیمین بودند و نسبت به آنتی-

۷۲ °C به مدت یک دقیقه و در نهایت یک مرحله طول‌سازی نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ °C انجام شد.

آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی: نمونه‌ها به روش انتشار دیسک کربی-باثر، آنتی‌بیوگرام شدند. از ارگانیزم مورد آزمایش، سوسپانسیون با کدورت معادل نیم واحد مک فارلند تهیه و به محیط مولر هیتون آگار Merck KGaA, Darmstadt, Germany منتقل شدند و سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی سفوکستین (۳۰ µg)، ونکوماپسین (۳۰ µg)، کلیندامایسین (۲ µg)، کلرامفنیکل (۳۰ µg)، داکسی‌سیکلین (۳۰ µg)، اریترومایسین (۱۵ µg)، نوویوسین (۵ µg)، ریفاپیمین (۵ µg)، لوفلوکسازین (۵ µg)، تری‌متوپریم سولفامتوکسازول (۲۵ µg) و جتامایسین (۱۰ µg) Mast Diagnostics, Bootle, UK را بر روی پلیت قرار داده و در دمای ۳۷ °C انکوبه گردیدند.

بعد از مدت ۲۴ ساعت، قطر هاله مهار رشد اندازه‌گیری شد. قطر هاله عدم رشد میکروارگانیزم‌ها برای هر آنتی‌بیوتیک بر اساس کاردستور Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) به صورت حساس، نیمه حساس یا مقاوم تقسیم‌بندی گردیدند.<sup>۹</sup> در مطالعه حاضر از *استافیلوکوک اورئوس* سویه ATCC1533 به‌عنوان سویه مقاوم استفاده گردید.

واکنش زنجیره پلیمرز جهت تیپ‌بندی SCCmec: هر واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ µl شامل: ۱۲/۵ µl 2x Taq premix، ۱ µl از هر پرایمر F، ۱ µl از هر پرایمر R، ۳ µl از

جدول ۲: توزیع فراوانی الگوی مقاومت و حساسیت آنتی بیوتیکی سویه های استافیلوکوک کوآگولاز منفی

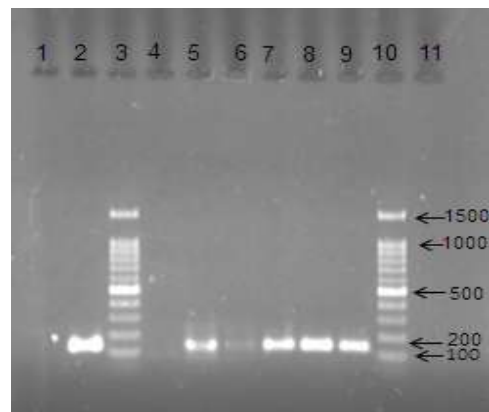
مقاومت نسبی	مقاومت	حساسیت	دیسک های آنتی بیوتیکی
	۵۰(٪۵۰)	۵۰(٪۵۰)	سفوکتین
۳(٪۳)	۳۰(٪۳۰)	۶۷(٪۶۷)	اریترومایسین
	۱۲(٪۱۲)	۸۸(٪۸۸)	لوفلوکساسین
۱۵(٪۱۵)	۱۲(٪۱۲)	۷۳(٪۷۳)	جنتامایسین
	۲۵(٪۲۵)	۷۵(٪۷۵)	داکسی سیکلین
۵(٪۵)	۲۳(٪۲۳)	۷۲(٪۷۲)	کلرامفنیکل
	۴۷(٪۴۷)	۵۳(٪۵۳)	تری متوپریم سولفومتوکسازول
	۴(٪۴)	۹۶(٪۹۶)	ریفامپین
	۵(٪۵)	۹۵(٪۹۵)	نویبوسین
	۱۹(٪۱۹)	۸۱(٪۸۱)	کلیندامایسین

تعداد ۱۰۰ سویه استافیلوکوک کوآگولاز منفی (۵۰ سویه مقاوم به متی سیلین و ۵۰ سویه حساس به متی سیلین)

نتایج تعیین تیپ های SCCmec: درصد فراوانی تیپ ها در بین ۵۰ ایزوله مقاوم به متی سیلین به ترتیب تیپ ۳ (۱۳٪/۱۳) عدد، تیپ ۵ (۱۱٪/۱۱)، تیپ ۲ (۶٪/۶)، تیپ ۴ (۴٪/۴) و تیپ ۱ (۳٪/۳) عدد مشاهده شد و همانگونه که نتایج نشان می دهد تیپ ۳ به عنوان تیپ غالب گزارش گردید، از طرفی ۱۳ تا از نمونه ها به روش یاد شده قابل تیپ بندی نبودند.

## بحث

استافیلوکوک های کوآگولاز منفی در بیشتر موارد هنگامی که از نمونه های کلینیکی ایزوله می شوند به عنوان آلوده کننده های محیط کشت در نظر گرفته می شوند.<sup>۱۱</sup> در صورتی که این نوع باکتری ها پاتوژن های فرصت طلبی هستند که توانایی ایجاد عفونت های جدی در نوزادان و افراد دارای کاتتر و نیز بیماران با نقص در سیستم ایمنی را دارند.<sup>۱۲</sup> همچنین مشابه استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین<sup>۱۳</sup> سرعت جداسازی استافیلوکوک های کوآگولاز منفی مقاوم به متی سیلین هم در سراسر جهان در حال افزایش است که همین امر به عنوان عامل مهمی از عفونت های بیمارستانی محسوب می شود.<sup>۱۴</sup> با توجه به افزایش سرعت جداسازی استافیلوکوک های کوآگولاز منفی،



شکل ۱: ژل الکتروفورز برای محصول PCR

ستون ۱: کنترل منفی، ستون ۲: کنترل مثبت ستون ۳: سایز مارکر ۱۰۰ bp (Fermentas, Germany)، ستون ۴-۹: نمونه های *mecA* مثبت با طول ۱۶۲ باز

بیوتیک های تری متوپریم سولفامتوکسازول کمترین حساسیت را نشان دادند. با بررسی مقاومت ایزوله ها به آنتی بیوتیک متی سیلین به دو روش دیسک دیفیوژن آگار و روش PCR میزان شیوع ژن *mecA* در بین سویه های ایزوله شده ۵۰٪ گزارش گردید که به صورت باندها آشکار با طول ۱۶۲ جفت باز مشاهده شد (شکل ۱).

همکارانش<sup>۲۲</sup> مشابه ولی درصد شیوع آن از مطالعه انجام شده توسط Mbanga و همکارانش کمتر بود.<sup>۲۳</sup> با توجه به مطالعات انجام شده تعیین تیپ SCCmec یکی از ابزارهای مولکولی مهم و موجود برای فهم اپیدمیولوژی و ارتباط سویه‌ای در بین استافیلوکوک‌ها است. از طرفی از بین تیپ‌های گزارش شده تیپ ۱، ۲ و ۳ در ایزوله‌های بیمارستانی مقاوم به متی‌سیلین رایج‌تر بوده و دیگر تیپ‌ها اکتسابی از جامعه می‌باشند.<sup>۲۵،۲۴</sup> بر اساس مطالعات انجام شده تیپ ۳ به‌عنوان تیپ غالب در جنوب برزیل گزارش در حالیکه تیپ چهار بیشتر در انگلیس و فنلاند مشاهده شده است و تیپ دو در چین به‌عنوان تیپ غالب مشاهده شده است.<sup>۲۶-۲۸</sup>

از آنجایی که توزیعی از تیپ‌های مختلف SCCmec بر اساس گونه میزبان و شرایط جغرافیایی منطقه متفاوت است.<sup>۲۹،۱۹</sup> در مطالعه حاضر تعیین تیپ SCCmec با استفاده از ۵ تیپ SCCmec و با روش استاندارد طلایی PCR بر روی ۵۰ نمونه مقاوم به متی‌سیلین انجام و از بین تیپ‌ها، تیپ ۳ به‌عنوان تیپ غالب مشاهده شد که بیش‌تر از نمونه‌های استافیلوکوک اپیدرمیدیس جدا گردید. از طرفی ۱۳ نمونه به روش فوق تیپ‌بندی نشدند.

یکی از دلایل ممکن است این باشد که باکتری‌های مورد آزمایش یکی از زیرتیپ‌های تیپ چهار را حمل نمایند، یا جز تیپ‌های ۸-۶ باشند که در مطالعه حاضر استفاده نشد. قابل توجه است که تیپ ۳ بیشترین تعداد ژن‌های مقاومتی را کد می‌نماید که به منظور بررسی اپیدمیولوژی و کنترل عفونت مهم و ضروری است، در مطالعه حاضر غالب بودن تیپ ۳ با مطالعه انجام شده توسط Zong و همکارانش در چین و Machado مشابهت داشت.<sup>۳۰،۲۸</sup>

نتایج گزارش شده در این پژوهش شیوع بالایی از مقاومت به متی‌سیلین در بین سویه‌ها را نشان داد و بیشترین تیپ غالب SCCmec مربوط به تیپ ۳ بود که بر پایه مطالعات انجام گرفته تیپ ۳ تعداد زیادی ژن مقاومتی را کد می‌کند.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی تیپ‌های SCCmec در استافیلوکوک اپیدرمیدیس، ساپروفیتیکوس و همولیتیکوس" در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۱۳۹۳ به شماره ۹۳۰۴۱۰۱۸۳۵ است که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی همدان به انجام رسیده است. نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از این معاونت محترم ابراز می‌دارند.

مقاومت این سویه‌ها به متی‌سیلین هم در حال افزایش است که خود این مسئله درمان‌های آنتی‌بیوتیکی را با مشکل مواجه می‌نماید. در مطالعه حاضر ۴۴٪ از عفونت‌ها در ارتباط با نمونه‌های خون بودند که مشابه مطالعه انجام شده توسط Keim و همکاران بود.<sup>۱۵</sup> اگرچه به‌تازگی گونه‌های زیادی از استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی شناسایی شده‌اند، مطالعات انجام شده گویای آن است که استافیلوکوک اپیدرمیدیس، استافیلوکوک همولیتیکوس، استافیلوکوک وارنری و استافیلوکوک هومینیس گونه‌های غالب عفونت‌های کلینیکی را شامل می‌شوند.<sup>۱۷،۱۶</sup>

در این مطالعه از بین باکتری‌های ایزوله شده استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به‌عنوان فراوانترین نمونه گرفته شده با درصد فراوانی ۵۵٪ مشاهده شد که با بررسی‌های انجام شده توسط Koksai با درصد فراوانی ۴۳٪/۵ و Ruppe و همکارانشان همخوانی داشت.<sup>۱۹،۱۸</sup> با توجه به مطالعات انجام شده و درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی، درمان این نوع باکتری‌ها به واسطه تشکیل بیوفیلم و مقاومت آنتی‌بیوتیکی مختلف مشکل است. از آنجایی که ریفامپین یکی از موثرترین داروها بر علیه استافیلوکوک کوآگولاز منفی مقاوم به متی‌سیلین بوده و همچنین در این بررسی نیز درصد کمی از باکتری‌ها (۴٪) به آن مقاومت نشان دادند، از این رو این آنتی‌بیوتیک می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسبی جهت درمان در نظر گرفته شود.<sup>۲۰</sup>

با توجه به اینکه تشکیل بیوفیلم یکی از فاکتورهای ویروانس این باکتری‌ها به حساب می‌آید و گفته شده که نقص در درمان این باکتری‌ها با ونکومایسین به واسطه تشکیل بیوفیلم است، بنابراین ترکیب ریفامپین با این نوع آنتی‌بیوتیک به‌منظور تاثیر بیشتر دارو توصیه شده است.

از طرفی با توجه به بررسی‌های انجام شده ترکیب مینوسیکلین با ریفامپین که باعث پوشش دهی کاترهای وزیکولی می‌شود فرایند عفونت را تضعیف می‌نماید، بنابراین داروی ریفامپین جایگزین درمانی مناسبی برای این گونه از باکتری‌ها است.<sup>۲۰</sup> با توجه به مرکز نظارت و مراقبت بر عفونت‌های بیمارستانی از ایالت متحده آمریکا، محدوده مقاومت به متی‌سیلین در بین استافیلوکوک‌ها در طی دو دهه گذشته در حال افزایش است.<sup>۱۱</sup> در بررسی کنونی مقاومت به متی‌سیلین در ۵۰٪ از سویه‌های ایزوله شده مشاهده گردید که تا حدی با مطالعه انجام شده در ایران توسط Mahmoudi و

## References

- Vitali LA, Petrelli D, Lamikanra A, Prenna M, Akinkunmi EO. Diversity of antibiotic resistance genes and staphylococcal cassette chromosome mec elements in faecal isolates of coagulase-negative staphylococci from Nigeria. *BMC Microbiol* 2014;14:106.
- Jeong IS, Jeong JS, Choi EO. Nosocomial infection in a newborn intensive care unit (NICU), South Korea. *BMC Infect Dis* 2006;23:103-10.
- Carretto E, Barbarini D, Couto I, De Vitis D, Marone P, Verhoef J, et al. Identification of coagulase-negative staphylococci other than *Staphylococcus epidermidis* by automated ribotyping. *Clin Microbiol Infect* 2005;11(3):177-84.
- Kuehnert MJ, Kruszon-Moran D, Hill HA, McQuillan G, McAllister SK, Fosheim G, et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States, 2001-2002. *J Infect Dis* 2006;193(2):172-9.
- Shin JH, Kim SH, Jeong HS, Oh SH, Kim HR, Lee JN, et al. Identification of coagulase-negative staphylococci isolated from continuous ambulatory peritoneal dialysis fluid using 16S ribosomal RNA, tuf, and SodA gene sequencing. *Perit Dial Int* 2011;31(3):340-6.
- Livermore DM. Antibiotic resistance in staphylococci. *Int J Antimicrob Agents* 2000;16 Suppl 1:S3-10.
- Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44(6):1549-55.
- International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC). Classification of staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec): guidelines for reporting novel SCCmec elements. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(12):4961-7.
- Hanssen AM, Ericson Sollid JU. SCCmec in staphylococci: genes on the move. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2006;46(1):8-20.
- Ghaznavi-Rad E, Nor Shamsudin M, Sekawi Z, van Belkum A, Neela V. A simplified multiplex PCR assay for fast and easy discrimination of globally distributed staphylococcal cassette chromosome mec types in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol* 2010;59(Pt 10):1135-9.
- Oren I, Merzbach D. Clinical and epidemiological significance of species identification of coagulase-negative staphylococci in a microbiological laboratory. *Isr J Med Sci* 1990;26(3):125-8.
- Rybak MJ, Vidailac C, Sader HS, Rhomberg PR, Salimnia H, Briski LE, et al. Evaluation of vancomycin susceptibility testing for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: comparison of Etest and three automated testing methods. *J Clin Microbiol* 2013;51(7):2077-81.
- Arabestani MR, Rastiany S, Mousavi SF, Ghafel S, Alikhani M Y. Identification of toxic shock syndrome and exfoliative toxin genes of *Staphylococcus aureus* in carrier persons, resistant and susceptible methicillin. *Tehran Univ Med J* 2015;73(8):554-60.
- Piette A, Verschraegen G. Role of coagulase-negative staphylococci in human disease. *Vet Microbiol* 2009;134(1-2):45-54.
- Keim LS, Torres-Filho SR, Vollú Silva P, Teixeira LA. Prevalence, aetiology and antibiotic resistance profiles of coagulase negative staphylococci isolated in a teaching hospital. *Braz J Microbiol* 2011;42(1):248-55.
- Alcaráz LE, Satorres SE, Lucero RM. Species identification, slime production and oxacillin susceptibility in coagulase-negative staphylococci isolated from nosocomial specimens. *Braz J Microbiol* 2003;34:45-51.
- von Eiff C, Peters G, Heilmann C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet Infect Dis* 2002;2(11):677-85.
- Koksall F, Yasar H, Samasti M. Antibiotic resistance patterns of coagulase-negative staphylococcus strains isolated from blood cultures of septicemic patients in Turkey. *Microbiol Res* 2009;164(4):404-10.
- Ruppé E, Barbier F, Mesli Y, Maiga A, Cojocar R, Benkhalfat M, et al. Diversity of staphylococcal cassette chromosome mec structures in methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus haemolyticus* strains among outpatients from four countries. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(2):442-9.
- Darouiche RO, Raad II, Bodey GP, Musher DM. Antibiotic susceptibility of staphylococcal isolates from patients with vascular catheter-related bacteremia: potential role of the combination of minocycline and rifampin. *Int J Antimicrob Agents* 1995;6(1):31-6.
- National Nosocomial Infections Surveillance System. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control* 2004;32(8):470-85.
- Mahmoudi H, Arabestani MR, Mousavi SF, Ghafel S, Alikhani MY. Study of polymorphism spa gene (encoding protein A) of *Staphylococcus aureus* in clinical isolates and nasal carriers. *Tehran Univ Med J* 2015;73(1):24-30.
- Mbanga J, Masuku S, Luphahla S. Antibiotic resistance patterns and virulence factors of coagulase negative staphylococcus associated with urinary tract infections in Bulawayo Province, Zimbabwe. *Br J Med Medical Res* 2015;11(3):1-9.
- Ito T, Katayama Y, Asada K, Mori N, Tsutsumimoto K, Tiensasitorn C, et al. Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome mec integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45(5):1323-36.
- Ito T, Katayama Y, Hiramatsu K. Cloning and nucleotide sequence determination of the entire mec DNA of pre-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* N315. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(6):1449-58.
- Wisplinghoff H, Rosato AE, Enright MC, Noto M, Craig W, Archer GL. Related clones containing SCCmec type IV predominate among clinically significant *Staphylococcus epidermidis* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(11):3574-9.
- Ibrahim S, Salmenlinna S, Virolainen A, Kerttula AM, Lyytikäinen O, Jägerroos H, et al. Carriage of methicillin-resistant staphylococci and their SCCmec types in a long-term-care facility. *J Clin Microbiol* 2009;47(1):32-7.
- Mombach Pinheiro Machado AB, Reiter KC, Paiva RM, Barth AL. Distribution of staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) types I, II, III and IV in coagulase-negative staphylococci from patients attending a tertiary hospital in southern Brazil. *J Med Microbiol* 2007;56(Pt 10):1328-33.
- Barbier F, Lebeaux D, Hernandez D, Delannoy AS, Caro V, François P, et al. High prevalence of the arginine catabolic mobile element in carriage isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*. *J Antimicrob Chemother* 2011;66(1):29-36.
- Zong Z, Peng C, Lü X. Diversity of SCCmec Elements in Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci Clinical Isolates. *PLoS One* 2011;6(5):e20191.

## Prevalence of coagulase-negative staphylococci and determination of antimicrobial resistance in accompany with types of SCCmec in isolated of nosocomial infections

Mohammad Reza Arabestani  
Ph.D.<sup>1,2</sup>  
Mohammad Yousef Alikhani  
Ph.D.<sup>1</sup>  
Manoochehr Karami Ph.D.<sup>3</sup>  
Elham Salimi Ghale M.Sc. Student<sup>1\*</sup>

1- Department of Microbiology,  
Hamadan University of Medical  
Sciences, Hamadan, Iran.

2- Brucellosis Research Center,  
Hamadan University of Medical  
Sciences, Hamadan, Iran.

3- Social Determinants of Health  
Research Center and Department of  
Epidemiology, School of Public  
Health, Hamadan University of  
Medical Sciences, Hamadan, Iran.

\* Corresponding author: Hamadan University of Medical Sciences, Department of Microbiology, Shahid Fahmideh St., Hamadan, Iran.  
Tel: +98- 81- 23838077  
E-mail: elhamsalimi19@gmail.com

### Abstract

Received: 01 Dec. 2015 Accepted: 29 Feb. 2016 Available online: 02 Apr. 2016

**Background:** Coagulase-negative staphylococci (CoNS) were considered as contaminants previously, but, during the past decade considered as one of the most common photogenic bacteria in hospital. Resistance to beta-lactams especially methicillin in staphylococcus species is being worrying in hospitals. Rapid identification of mechanisms of resistance and confirmation of their resistance to methicillin is a basic principle for antibiotic treatment. The aim of this study was to determine antibiotic resistance, frequency of *mecA* gene, and determination of SCCmec types in CoNS isolates from teaching hospitals in Iran.

**Methods:** The descriptive cross-sectional study was carried out one hundred clinical samples isolated from patients with an average age of 7-69 years at teaching hospitals in Hamadan City, Iran, from September 2014 to February 2015. After confirmation of isolates by microbiological standard biochemical tests, antimicrobial susceptibility testing was performed by disk agar diffusion (DAD) method. After extraction of isolated genomic, *mecA* gene was detected. Then, the types of SCCmec were performed by PCR.

**Results:** In this study, 387 clinical samples were collected which among 100 CoNS isolated, *Staphylococcus epidermidis* was the most prevalent species with frequency 55 (55%), followed by *S. haemolyticus* 40(40%) and *S. saprophyticus* 5(5%). The highest antibiotic susceptibility was to rifampin 96(96%) and the lowest resistance was detected for trimethoprim/sulfamethoxazole (TMP/SMX) 47(47%). None of the strains were resistant to vancomycin. Resistance to methicillin was detected in 50% of CoNS isolates. Typing of SCCmec was performed by The polymerase chain reaction (PCR). Frequency types of SCCmec was type III with frequency 13(13%), type V 11(11%), type II 6(6%), type IV 4 (4%), type I 3(3%) respectively. Thirteen isolated was not typable in this study.

**Conclusion:** The result of this study showed that a large percentage of coagulase-negative staphylococci are resistance to methicillin, and the prevalence of SCCmec type was type III, which encodes the largest number of resistance genes. This information could be use in epidemiological study for preventing of infectious control in hospital and health centers.

**Keywords:** coagulase negative staphylococcus, cross-sectional studies, *mecA* gene, polymerase chain reaction, SCCmec type.