

بررسی ژن‌های *nor A* و *mec A* در بین سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از نمونه‌های زخم و خون

چکیده

دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۰۵ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۷/۱۱ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۲۳ آنلاین: ۱۴۰۲/۱۰/۰۱

شکوفه اکبری^۱، منیره رحیم‌خانی^{۲*}،
رضا میرنژاد^۳

۱- گروه علوم و تحقیقات، دانشکده علوم و فناوری‌های همگرا، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده علوم پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۳- مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله، تهران، ایران.

زمینه و هدف: امروزه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین *Methicillin-resistant staphylococcus aureus* (MRSA) به دلیل مقاومت به داروهای ضد میکروبی به یکی از نگرانی‌های سلامت عمومی تبدیل شده که درمان بیماران مبتلا به عفونت‌های ناشی از این باکتری را با مشکل مواجه کرده است. بنابراین در این بررسی با هدف مقایسه روش‌های فنوتیپی و ژنوتیپی جهت تشخیص استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از بیماران بیمارستان‌های تابعه دانشگاه علوم پزشکی تهران و همچنین بررسی ژن *nor A* در این نمونه‌ها انجام شده است. **روش بررسی:** در تحقیق توصیفی - مقطعی حاضر که از بهمن ۱۴۰۱ تا شهریور ۱۴۰۲ به طول انجامید، تعداد ۴۳ سویه استافیلوکوکوس اورئوس از بخش‌های مختلف بیمارستان‌های شهر تهران جمع‌آوری و به آزمایشگاه دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران که محل انجام تحقیق بود ارسال شد. پس از شناسایی سویه‌ها، مقاومت جدایه‌ها نسبت به ۱۴ نوع آنتی‌بیوتیک با روش انتشار دیسک بررسی گردید.

یافته‌ها: تست‌های تشخیصی استافیلوکوکوس اورئوس از جمله رنگ‌آمیزی گرم روی کلتی‌ها و انجام تست کاتالاز و DNase و کوآگولاز انجام گرفت و مشخص شد که تمام سویه‌ها استافیلوکوکوس اورئوس بودند. در مرحله بعد با روش PCR و استفاده از پرایمر *mec A* ۴۳ سویه جدا شده از خون و زخم دارای *mec A* بوده و از نظر ژنوتیپی وجود سویه‌های MRSA تایید شد. از ۴۳ سویه استافیلوکوکوس اورئوس با بررسی PCR و الکتروفورز مشخص شد تعداد ۲۶ نمونه دارای ژن *nor A* بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد که میزان شیوع باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه‌های بیمارستانی قابل توجه بوده و مقاومت به متی‌سیلین و سیپروفلوکسازین در سویه‌های این باکتری افزایش یافته است.

کلمات کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، *mecA*، *norA*، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز.

* نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده علوم پیراپزشکی، گروه علوم آزمایشگاهی.
تلفن: ۸۹۵۷۹۴۱-۰۲۱
E-mail: rrahimkhani@sina.tums.ac.ir

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس یک پاتوژن باکتریایی بزرگ انسانی یک عامل ایجادکننده اصلی در پنومونی و سایر عفونت‌های دستگاه تنفسی، محل جراحی، مفصل مصنوعی و عفونت‌های قلبی-عروقی و همچنین باکتری می‌بیمارستانی است عفونت‌های استافیلوکوکوس اورئوس به دلیل مقاومت مکرر آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مشکل‌ساز هستند که در میان آنها

استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) یک باکتری گرم مثبت کوکسی شکل است این ارگانیسم‌ها می‌توانند به صورت هوازی یا بی‌هوازی (اختیاری) و در دمای بین ۱۸ تا ۴۰ °C رشد کنند استافیلوکوکوس اورئوس به طور معمول از گوارش جدا شود.^۱

استافیلوکوکوس اورئوس نقش مهمی در ایجاد مقاومت در برابر داروهای کینولون با کاهش غلظت آنها در داخل پاتوژن‌های هدف دارد.^۹

روش بررسی

در مطالعه که به صورت توصیفی-مقطعی و در یک بازه زمانی یک سال انجام شد تعداد ۴۳ سویه استافیلوکوکوس اورئوس از بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های شریعتی، سینا و ولیعصر که شامل خون (۲۰ نمونه، ۶۷/۵۱٪، زخم (۲۳ نمونه، ۵۳/۴۸٪) جمع‌آوری گردید. پس از انتقال سویه‌ها بر روی محیط آگار خوندار به آزمایشگاه تحقیقات دانشکده پیراپزشکی دانشگاه تهران منتقل شد. تست‌های فنوتیپی و ژنوتیپی جهت تایید نمونه‌ها و مقاومت آنتی‌بیوتیکی روی آنها انجام گرفت. جهت شناسایی سویه‌ها براساس تست‌های استاندارد شامل رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، رشد در مانیتول سالت آگار و DNase و کوآگولاز انجام شد. استافیلوکوک اورئوس‌ها کوکسی‌های گرم مثبت و کاتالاز مثبت بودند که بر روی محیط مانیتول سال آگار رشد داشتند. از کلنی‌های رشد کرده برداشت شده و تست‌های DNase و کوآگولاز لوله‌ای با پلاسماي خروگوش انجام گرفت که نتایج هر دو تست مثبت بود. پس از تعیین هویت قطعی سویه‌ها مشخص شد که ۴۳ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس بودند. در این تحقیق برای تایید ژنوتیپی سویه‌های MRSA تست PCR بر روی DNA استخراج شده از باکتری‌ها و با به‌کارگیری پرایمر ژن mec A انجام گرفت و به این وسیله ثابت شد تمامی سویه‌ها MRSA بودند. همچنین تمامی سویه‌ها دارای ژن mec A بودند.

بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های جداسازی شده: پس از حصول اطمینان از شناسایی و تایید سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، حساسیت سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با روش دیسک دیفیوژن بر اساس Clinical and laboratory standard (CLSI) مورد بررسی قرار گرفت. حساسیت جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی آمیکاسین ۳۰ mg، تری‌متوپریم ۵ mg، سولفامتوکسازول ۵ mg، سفازولین ۳۰ mg، سفتریاکسون ۳۰ mg، سیپروفلوکساسین ۵ mg، اریترومایسین ۱۵ mg، ایمپنم ۱۰ mg، سفوتاکسیم ۳۰ mg، کلیندامایسین ۱۰ mg

استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) از نظر بالینی مهمترین است. عفونت‌های MRSA در مقایسه با عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی‌سیلین (MSSA) با افزایش مرگ‌ومیر، عوارض و بستری شدن در بیمارستان همراه است.^۲ پس از آنکه پنی‌سیلین به‌عنوان نخستین آنتی‌بیوتیک برای این باکتری‌ها شناخته شد، استافیلوکوکوس اورئوس به واسطه داشتن آنزیم پنی‌سیلیناز که از راه پلاسمید منتقل می‌شود نسبت به این آنتی‌بیوتیک مقاومت آنزیمی پیدا کرد.^۳ با افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به پنی‌سیلین، داروهای نیمه صناعی مقاوم به فعالیت‌های آنزیمی مانند متی‌سیلین، اگرآسیلین ساخته شد. اما پس از مدتی به این آنتی‌بیوتیک نیز مقاومت نشان داد.^۴

دلیل بروز این مقاومت آنتی‌بیوتیکی وجود ژن (mec A)، در این سویه‌ها می‌باشد. مقاومت به متی‌سیلین و سایر پنی‌سیلین‌های مقاوم به پنیسیلیناز به‌دلیل اپرون mec است. این اپرون، بخشی از کاست کروموزومی استافیلوکوک (SCCmec) است. ژن mecA، پروتیین متصل شونده به پنی‌سیلین با نام PBP2a کد می‌کند که میل پیوندی پایینی برای آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام دارد.^۵ این مقاومت توسط مجموعه‌ای از ژن‌های موجود در ناحیه‌ای از کروموزوم استافیلوکوکوس اورئوس به نام (Scc mec) کد می‌گردد. این کاست از سه قسمت ccr، J.region mec complex تشکیل شده است.^۶ مکانیسم‌های مختلفی جهت مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس وجود دارد و یکی از مکانیسم‌های مهم مقاومت به آنتی‌بیوتیک، وجود پمپ‌های افلاکس در این باکتری می‌باشد به‌طور کلی پمپ‌های افلاکس باکتریایی براساس ترادف در پنج گروه اصلی (MFS)، (RND)، (SMR)، (MATE)، ATP binding cassette super family قرار می‌گیرند.^۷

NorA نشان‌دهنده بهترین پمپ‌های خروجی چند دارویی MFS هستند که در استافیلوکوکوس اورئوس یافت می‌شوند و یک پروتیین ۳۸۸ اسیدآمینوای است که دارای ۱۲ جزء عبورکننده از غشا سلول می‌باشد.^۸ یکی از مشکلات عمده در درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالای این باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف می‌باشد. تشخیص سریع استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) و درمان به موقع آن از اهمیت بسزایی برخوردار است.^۹ پمپ خروجی NorA

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه

نام پرایمر	توالی
norA-F	GTGGTATGAGTGCTGGTATGG
norA-R	GAAACTTCTGCCATAAATCCACC
mecA-F	AGAAGATGGTATGTGGAAGTTAG
mecA-R	ATGTATGTGCGATTGTATTGC

ماکرولیتر از پرایمرها، ۹ μ l از مستر میکس‌ها (سیناژن)، ۵/۵ μ l آب مقطر انجام گرفت. در ادامه واکنش PCR برای ژن *mec A* با استفاده از پرایمرهای رفت *AGAAGATGGTATGTGGAAGTTAG* و پرایمر برگشت *ATGTATGTGCGATTGTATTGC* و ژن *nor A* از پرایمرهای رفت *GTGGTATGAGTGCTGGTATGG* و پرایمر برگشت *GAAACTTCTGCCATAAATCCACC* طبق برنامه دمایی و زمانی انجام گردید.^{۱۵۹} جدول ۱ نشان‌دهنده سکانس پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق می‌باشد.

یافته‌ها

نتایج تست حساسیت میکروبی: نتایج آنتی‌بیوگرام نشان داد که ۴۳ ایزوله از ۴۳ نمونه نسبت به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین مقاوم بودند و به‌عنوان سویه‌های MRSA در نظر گرفته شدند. از ۴۳ سویه MRSA تمامی نمونه‌ها دارای ژن *mec A* بودند و میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین با روش دیسک دیفیوژن در بین تمام نمونه‌ها ۳۴ ایزوله (۷۹/۰۶٪) بوده است. از ۴۳ نمونه، با بررسی PCR و الکتروفورز مشخص گردید ۲۶ نمونه دارای ژن *nor A* بودند. نتایج تکثیر ژن *mec A* برای بررسی مولکولی وجود ژن مقاومت به متی‌سیلین از تکثیر ژن *mecA* استفاده شد تمامی ۴۳ نمونه

سفوکستین ۳۰ mg، گلوکزاسیلین ۳۰ mg، ونکومايسين ۱ mg، لینزولاید ۱۰ mg انجام گردید. در تمامی آزمایش‌ها، سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923 به‌عنوان کنترل مثبت مقاوم به سیپروفلوکساسین استفاده شد (جدول ۲). لازم به ذکر است که برای تعیین مقاومت استافیلوکوک نسبت به وانکومايسين روس دیسک دیفیوژن روش مورد اعتمادی نبوده و برای تعیین حساسیت باکتری به این آنتی‌بیوتیک بایستی از روش MIC استفاده نمود که البته جزو اهداف تحقیق حاضر نبوده است.

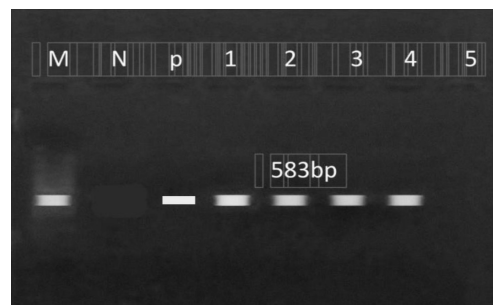
استخراج DNA و شناسایی ژن‌های *norA* و *mecA* توسط روش PCR: استخراج DNA به‌روش دستی (جوشاندن) انجام شد و در نهایت برای تأیید صحت استخراج ژنوم از الکتروفورز ژل آگاروز ۱٪ استفاده شد. واکنش PCR در حجم نهایی نهایی ۱۸ μ l شامل ۲ μ l از DNA استخراج شده به‌عنوان الگو، استخراج شده، ۱/۵

جدول ۲: میزان مقاومت و حساسیت سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف از نمونه‌های زخم و خون

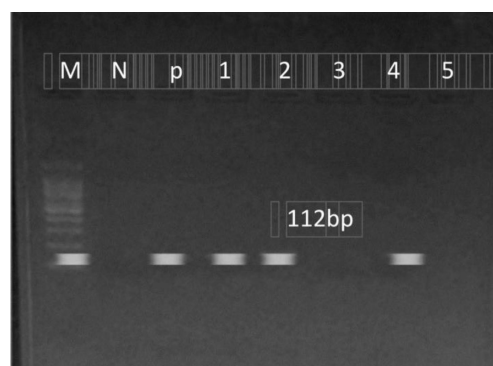
آنتی‌بیوتیک‌ها	مقاوم (درصد)	حساس (درصد)
آمیکاسین	۶۰/۴۶	۳۹/۵۳
سولفامتوکسازول	۸۶/۰۴	۱۳/۹۵
سفازولین	۷۹/۰۶	۲۰/۹۳
سفترایکسون	۹۳/۰۲	۶/۹۷
سیپروفلوکساسین	۷۹/۰۶	۲۰/۹۳
اریترومایسین	۱۰۰	۰
ایمی‌پنم	۵۸/۱۳	۴۱/۸۶
سفو تاکسیم	۷۴/۴۱	۲۷/۹۰
کلیندامایسین	۸۶/۰۴	۱۱/۶۲
سفوکستین	۹۷/۶۷	۲/۳۲
کلوگزاسیلین	۱۰۰	۰
ونکومايسين	۰	۱۰۰
لینزولاید	۰	۱۰۰

به‌عنوان دومین باکتری در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی مطرح است. *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین (MRSA)، سویه‌های خاصی از این باکتری هستند که به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله متی‌سیلین مقاوم می‌باشند. سویه‌هایی از MRSA که بیشتر در بیمارستان‌ها دیده شد به نام (MRSA-HA)، یا به اصطلاح، *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین اکتسابی از بیمارستان می‌گویند. اما در حال حاضر، سویه‌های *استافیلوکوک* / *اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین اکتسابی از جامعه *Staphylococcus aureus* MRSA-CA نیز در حال گسترش می‌باشند. سویه‌های MRSA-CA برخلاف MRSA-HA، ارتباطی با بستری شدن در بیمارستان ندارند.^۹ مقاومت آنتی‌بیوتیکی ناشی از پمپ افلاکس یکی از مکانیسم‌های مهم در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد و اخیراً به‌عنوان یکی از موضوعات مهم برای محققان تبدیل شده است.^{۱۰} یافته‌های این مطالعه نشان دادند که استفاده از روش‌های دقیق و حساس همانند PCR در شناسایی MRSA در آزمایشگاه به‌عنوان روش روتین می‌تواند در تشخیص صحیح آنها از MRSA کمک شایانی کرده و در اتخاذ آنتی‌بیوتیک‌های موثر مفید باشد. در غیر این صورت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های غیرضروری در درمان سویه حساس MRSA باعث افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی خواهد شد.^{۱۱} روش معمول آزمایشگاهی برای تشخیص MRSA انجام آنتی‌بیوگرام یا انتشار دیسک است.^{۱۲} اما PCR روش استاندارد طلایی برای شناسایی MRSAها است در حالی‌که روش انتشار دیسک روشی است آسان و ارزان و به راحتی در همه آزمایشگاه قابل اجرا است.^{۱۳} در این مطالعه MRSA بودن سویه‌ها توسط روش انتشار دیسک و PCR مورد مطالعه قرارگرفت نتایج مشابه با نتایج ما در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است. نتایج مطالعه Saiful و همکارانش نشان داد که ژن *norA* در تمامی سویه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین وجود دارد.^{۱۴} در مطالعه Saiful و همکارانش نتایج نشان داده آن است که از ۱۹ سویه MRSA جداسازی شده، ۱۶ سویه دارای ژن *norA* هستند و تمامی سویه‌ها دارای پمپ‌های افلاکس فعال بودند.^{۱۵}

در مطالعه فوق تمامی ۴۳ نمونه با استفاده از آزمایش‌های فنوتیپی به‌عنوان *استاف* / *اورئوس* مورد تایید قرار گرفتند. همچنین ۴۳ نمونه از نظر وجود قطعه ژنی *mec A* مثبت بودند و به‌عنوان *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) در نظر گرفته شدند. باتوجه به



شکل ۱: ژن *mecA* در سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین



شکل ۲: ژن *norA* در سویه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین

استافیلوکوکوس اورئوس دارای ژن *mecA* بوده، بنابراین از نظر MRSA مورد تایید قرار گرفتند. محل قرارگیری باند مربوط به *mecA* در شکل ۱ نشان داده شده است. وجود باند ۵۸۳ جفت بازی نشان‌دهنده مثبت بودن از نظر وجود ژن *mec A* است.

بررسی بیان ژن *norA* در سویه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین: نتایج نشان داد که ژن *nor A* در ۲۶ ایزوله بالینی ۶۰/۴۶٪ مثبت بوده است. سویه‌های مختلف با میزان مقاومت مختلف، بیان متفاوتی از ژن *norA* دارند و سویه‌های مقاوم‌تر دارای بیان بیشتری از ژن *norA* بودند (شکل ۲).

بحث

استافیلوکوکوس اورئوس یک پاتوژن شایع در جهان است که

گزینه‌های مؤثر برای سویه‌هایی که مقاومت در برابر داروهای موجود را به دست آورده‌اند، در دسترس هستند.^{۱۹} MRSA به دلیل سازگاری شدید و توانایی پیشرفت مقاومت، هنوز هم از مهمترین خطر برای بهداشت عمومی محسوب می‌شود. تحقیقات کمی هنوز برای بازنگری مداوم توانایی MRSA برای منبع سرایت و مجراهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی و حفظ پیشرفت داروهای نوآورانه به غیر از سرایت MRSA مورد نیاز است.^{۲۰} برخی از دلایل تداوم حیات MRSA، عدم دسترس بودن و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها بدون تجویز پزشک، عدم رعایت نسخه و فروش داروهای تقلبی بین افراد می‌باشد. بدیهی است که ریشه کن کردن MRSA ممکن است دشوار باشد زیرا رسیدگی به عوامل ذکر شده غیرممکن به نظر می‌رسد.^{۲۱} عفونت‌های ناشی از باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های متداول، یکی از مشکلات جدی بهداشتی در سراسر دنیاست. آگاهی از وضعیت این مقاومت‌ها در عوامل بیماری‌های عفونی برای کنترل ضروری می‌باشد.^{۲۲}

سپاسگزاری: این مقاله حاصل (بخشی از) طرح تحقیقاتی تحت عنوان "بررسی ژن‌های پمپ افلاکس در سویه‌های استافیلوکوک اورئوس جدا شده از نمونه‌های کلینیک" مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران در سال ۱۴۰۱ به کد 1401-4-102-63287 می‌باشد که با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران اجرا شده است.

References

- Lowy, Franklin D. "Staphylococcus aureus infections." *New England journal of medicine* 1998; 339 (8): 520-532.
- Cheung, Gordon YC, Justin S. Bae, and Michael Otto. "Pathogenicity and virulence of Staphylococcus aureus." *Virulence* 2021; 12(1): 547-569.
- Malachowa, Natalia, and Frank R. DeLeo. "Mobile genetic elements of Staphylococcus aureus." *Cellular and molecular life sciences* 2010; 67: 3057-3071.
- David, Michael Z., and Robert S. Daum. "Community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic." *Clinical microbiology reviews* 2010; 23 (3): 616-687.
- Berti, Andrew D., George Sakoulas, Victor Nizet, Ryan Tewhey, and Warren E. Rose. "β-Lactam antibiotics targeting PBPI selectively enhance daptomycin activity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus." *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2013; 57 (10): 5005-5012.
- Hartman, Barry J., and Alexander Tomasz. "Low-affinity penicillin-binding protein associated with betalactam resistance in Staphylococcus aureus." *Journal of bacteriology* 1984; 158 (2): 513-516.
- Li, Xian-Zhi, and Hiroshi Nikaido. "Efflux-mediated drug resistance in bacteria." *Drugs* 2004; 64: 159-204.
- Nour El-Din, Hanzada T., Aymen S. Yassin, Yasser M. Ragab, and Abdelgawad M. Hashem. "Phenotype-genotype characterization and antibiotic-resistance correlations among colonizing and infectious methicillin-resistant Staphylococcus aureus recovered from intensive care units." *Infection and Drug Resistance* 2021; 1557-1571.
- Tintino, Saulo Relison, Polrat Wilairatana, Veruska Cintia Alexandrino de Souza, Julia Mariana Assis da Silva, Pedro Silvino Pereira, Cícera Datiane de Moraes Oliveira-Tintino, Yedda Maria Lobo Soares de Matos et al. "Inhibition of the norA gene expression and the NorA efflux pump by the tannic acid." *Scientific Reports* 2023; 13 (1): 173-94.
- Ghaznavi-Rad, Ehsanollah, Mariana Nor Shamsudin, Zambari Sekawi, Liew Yun Khoo, Mohammad Nazri Aziz, Rukman Awang Hamat, Norlijah Othman et al. "Predominance and emergence of clones of hospital-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Malaysia." *Journal of clinical microbiology* 2010 48 (3): 867-872.
- Costa, Sofia Santos, Celeste Falcão, Miguel Viveiros, Diana Machado, Marta Martins, José MeloCristino, Leonard Amaral, and Isabel Couto. "Exploring the contribution of efflux on the resistance to fluoroquinolones in clinical isolates of Staphylococcus aureus." *BMC microbiology* 2011; 11(1).

12. Felten, Annie, Bernadette Grandry, Philippe Henri Lagrange, and Isabelle Casin. "Evaluation of three techniques for detection of low-level methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a disk diffusion method with cefoxitin and moxalactam, the Vitek 2 system, and the MRSA-screen latex agglutination test." *Journal of clinical microbiology* 2002; 40 (8): 2766-2771.
13. Kampf, G., S. Adena, H. Rüden, and K. Weist. "Inducibility and potential role of *mecA*-gene-positive oxacillin-susceptible *Staphylococcus aureus* from colonized healthcare workers as a source for nosocomial infections." *Journal of Hospital Infection* 2003; 54 (2): 124-129.
14. Harbarth, S., Y. Martin, Peter Rohner, Nicole Henry, Raymond Auckenthaler, and Didier Pittet. "Effect of delayed infection control measures on a hospital outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*." *Journal of Hospital Infection* 2000; 46 (1): 43-49.
15. Saiful, Azmi Johari, Mohtar Mastura, Suhaili Zarizal, Mohamed Isa Mazurah, Mustafa Shuhaimi, and Abdul Manaf Ali. "Efflux genes and active efflux activity detection in Malaysian clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)." *Journal of basic microbiology* 2008; 48 (4): 245.
16. Huet, Aurelie A., Jose L. Raygada, Kabir Mendiratta, Susan M. Seo, and Glenn W. Kaatz. "Multidrug efflux pump overexpression in *Staphylococcus aureus* after single and multiple in vitro exposures to biocides and dyes." *Microbiology* 2008; 154 (10): 3144-3153.
17. Pillai, Manju M., Ragunathan Latha, and Gautam Sarkar. "Detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction and conventional methods: a comparative study." *Journal of laboratory physicians* 2012; 4 (2): 083-088.
18. Pillai MM, Latha R, Sarkar G. Detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction and conventional methods: a comparative study. *Journal of laboratory physicians* 2012;4(02):083-8.
19. Hassoun, Ali, Peter K. Linden, and Bruce Friedman. "Incidence, prevalence, and management of MRSA bacteremia across patient populations-a review of recent developments in MRSA management and treatment." *Critical care* 2017; 21 (1): 1-10.
20. Maddiboyina, Balaji, Harekrishna Roy, M. Ramaiah, C. N. Sarvesh, Sahasra Hanuman Kosuru, Ramya Krishna Nakkala, and Bhabani Shankar Nayak. "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: novel treatment approach breakthroughs." *Bulletin of the National Research Centre* 2023; 47 (1): 95.
21. McNamara, John F., Patrick NA Harris, Mark D. Chatfield, and David L. Paterson. "Acute myocardial infarction and community-acquired *Staphylococcus aureus* bloodstream infection: an observational cohort study." *Clinical Infectious Diseases* 2021; 73 (9): 2647-2655.
22. Soltani, Jafar, Bahman Poorabbas, Neda Miri, and Jalal Mardaneh. "Health care associated infections, antibiotic resistance and clinical outcome: A surveillance study from Sanandaj, Iran." *World journal of clinical cases* 2016; 4 (3): 63.

Survey of *norA* and *mecA* genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from wound and blood samples

Shokoufeh Akbari M.Sc.¹
Monireh Rahimkhani M.D.,
Ph.D.^{2*}
Reza Mirnejad Ph.D.³

1- Department of Science and Research, Faculty of Convergent Sciences and Technologies, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- Department of Lab Medical Sciences, Faculty of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

* Corresponding author: Department of Lab Medical Sciences, Faculty of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Tel: +98-21-88957941
E-mail: rrahimkhani@sina.tums.ac.ir

Abstract

Received: 27 Sep. 2023 Revised: 03 Oct. 2023 Accepted: 14 Dec. 2023 Available online: 22 Dec. 2023

Background: Today, Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) has become one of the public health concerns due to its resistance to antimicrobial drugs, and this problem makes treating patients with infections caused by this bacterium difficult. Infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains are pervasive in both community and hospital settings, primarily attributable to *Staphylococcus aureus*' capacity to colonize areas like the nose or skin. In this study, with the aim of comparing phenotypic (disc diffusion method) and genotypic (PCR) methods, to detect methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients of hospitals under supervision of Tehran university of medical sciences, and also detection of *norA*, that is the one of the most important genes in efflux pump cluster genes.

Methods: The present research was a cross-sectional study that was conducted from February 2022 to September 2023. In this research, 43 isolated strains of *Staphylococcus aureus* from wound discharge and blood samples, were collected from different departments of Tehran hospitals and had submitted to the research laboratory of the school of allied medical sciences in Tehran university of medical sciences. After identifying the strains, the resistance of the isolates to 14 types of antibiotics was checked by disk diffusion method.

Results: *Staphylococcus aureus* diagnostic tests including gram staining on colonies, catalase, coagulase, DNase tests were performed and it was found that all strains were *Staphylococcus aureus*. In the next step, all samples were resistant to Cloxacillin by disc diffusion method, and the presence of *mecA* gene in them was confirmed by PCR method, thus the presence of MRSA strains was confirmed from the genotypic point of view. Of the 43 *Staphylococcus aureus* strains, 26 samples were identified as having the *norA* gene by PCR and electrophoresis.

Conclusion: The results of the present research have shown that the prevalence of *Staphylococcus aureus* bacteria in hospital samples is significant and resistance to methicillin and ciprofloxacin has increased in the strains of this bacteria.

Keywords: methicillin resistant *staphylococcus aureus*, *norA*, *mecA*, polymerase chain reaction.

