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

محمدرضا عربستانی[1و2] محمد یوسف علیخانی[1]، منوچهر کرمی[3] الهام سلیمی قلعه[1*]

۱- گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
۲- مرکز تحقیقات بروسلوز، 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.

*نویسنده مسئول: همدان، دانشگاه علوم پزشکی همدان، دانشکده پزشکی، گروه میکروب‌شناسی، کدپستی: ٦٥١٧٦١٩٦٥٣
تلفن: ۰۸۱-۲۳۸۳۸۰۷۷
E-mail: elhamsalimi19@gmail.com

## چکیده

دریافت: ۱۳۹٤/۰۹/۱۰ پذیرش: ۱۳۹٤/۱۲/۱۰ آنلاین: ۱۳۹۵/۰۱/۱٤

***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 ۱۳۹٤ بر روی صد نمونه استافیلوکوک کواگولاز منفی (CNS) جدا شده از بیماران با محدوده سنی ٦۹-۷ 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 پلیمراز انجام شد.

***یافته‌ها:*** فراوانی سویه‌ها به‌ترتیب *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* (۵۵٪)۵۵، *استافیلوکوکوس همولتیکوس* (٤۰٪)٤۰ و *استافیلوکوکوس ساپروفتیکوس* (۵٪)۵ گزارش گردید. در تست آنتی‌بیوگرام بالاترین حساسیت به آنتی‌بیوتیک ریفامپین (۹٦٪)۹٦ و بیشترین مقاومت به تری‌متوپریم سولفامتوکسازول (٤۷٪)٤۷ مشاهده شد. شیوع مقاومت به متی‌سیلین نیز در (۵۰٪)۵۰ از نمونه‌ها مشاهده گردید. فراوانی تیپ‌های SCCmec در ۵۰ ایزوله مقاوم به متی‌سیلین به‌ترتیب تیپ ۳ (۱۳٪)۱۳ عدد، تیپ ۵ (۱۱٪)۱۱، تیپ ۲ (٦٪)٦، تیپ ٤ (٤٪)٤، 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 پلیمراز، ژن *mecA* تیپ‌های SCCmec.

## مقدمه

استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی که بر روی پوست و غشاهای مخاطی انسان و حیوانات کلونیزه می‌شوند،[1] پیش‌تر به‌عنوان آلوده‌کننده‌های محیط کشت در نظر گرفته می‌شدند، اما در طی دهه گذشته این باکتری‌ها به‌عنوان باکتری‌های پاتوژن بیمارستانی و فراوانترین میکروارگانیسم‌های جدا شده از نمونه‌های کلینیکی به حساب می‌آیند.[2] استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی جزء فلور طبیعی و غیربیماریزای پوست انسان هستند و گاهی موجب عفونت می‌شوند و با عفونت در اندام‌های مصنوعی (کاتترها، شانت‌ها، مفاصل



[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-04 ]

مصنوعی) به‌ویژه در کودکان یا افراد مسن و بیماران مبتلا به نارسایی ایمنی در ارتباط هستند. مهمترین سویه‌های استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی شامل *استافیلوکوک اپیدرمیدیس*، *استافیلوکوک همولیتیکوس*، *استافیلوکوک ساپروفیتیکوس*، استافیلوکوک کوهنی که در افراد ایمنوساپرسیو بیماری‌زا هستند.[۳] گفتنی است که در حدود ۷۵٪ از عفونت‌های ناشی از استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی توسط *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* ایجاد می‌شود.

*استافیلوکوکوس ساپروفتیکوس* عامل عفونت مجرای ادراری در زنان بوده و *استافیلوکوک همولتیکوس* یکی از عوامل مهم باکترمی در ارتباط با کاتترهای وزیکولی است. پیدایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی و دارویی به‌ویژه مقاومت به متی‌سیلین یک مشکل جدی برای درمان بیماران با عفونت‌های استافیلوکوکی است. بر اساس مطالعات انجام شده ۸۵-۶۰٪ از سویه‌های استافیلوکوک جدا شده از نمونه‌های کلینیکی به متی‌سیلین مقاوم هستند.[۴]

استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی یکی از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی می‌باشند در بین این باکتری‌ها بیشترین گونه‌های جدا شده از نمونه‌های بیمارستانی *استافیلوکوک اپیدرمیدیس*، *استافیلوکوک همولتیکوس*، *استافیلوکوک ساپروفتیکوس*، *استافیلوکوک هومینیس* و *استافیلوکوک سیمولانس* هستند.[۵] گونه‌های *استافیلوکوک ساکارولیتیکوس* و *کوهنی* و *کپیتیس* و *وارنری* هرچند از عفونت‌های انسانی گزارش شده‌اند اما به‌طور معمول کمیاب هستند.

متی‌سیلین یک پنی‌سیلین نیمه صناعی است که میل ترکیبی کمی برای آنتی‌بیوتیک دارد. این پروتیین به وسیله ژن *mecA* کد می‌شود[۶] که درون یک جزیره ژنومی به‌نام SCCmec قرار دارد. SCCmec یک جزیره ژنتیکی متحرک با اندازه‌ای در حدود ۶۷ Kb-۲۱ کیلو باز بوده که متشکل از دو جزء مجموعه کمپلکس ccr و کمپلکس ژن *mecA* است. کمپلکس mec شامل IS431، mecR و mecI که مقاومت به متی‌سیلین را کد می‌کند و کمپلکس ccr شامل ccrA, B, C بوده که آنزیم‌های ریکامبیناز مسئول این حرکت را کد می‌نماید.[۷] با توجه به کلاس‌هایی از کمپلکس ژن mec و تیپ‌های ccr تا به حال ۸ تیپ از SCCmec در استافیلوکوکوس‌ها شناسایی شده است.[۸] با توجه به مطالعات انجام شده مقاومت به متی‌سیلین در استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی در حال افزایش بوده و گمان بر این است که این نوع باکتری‌ها به‌عنوان منبعی از انتقال مقاومت به *استافیلوکوک اورئوس* باشند[۹] که همین امر باعث شکل‌گیری *استافیلوکوک اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین می‌گردد که درمان‌های آنتی‌بیوتیکی را با مشکل مواجه می‌نماید و پیامدهای شدیدی را به دنبال خواهد داشت.

مطالعه حاضر 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

مطالعه حاضر به صورت 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.

نمونه‌های ایزوله شده بر روی محیط کشت بلاد آگار و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. شناسایی ایزوله‌ها به وسیله روش‌های استاندارد میکروب‌شناسی شامل رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز، تست کواگولاز، آزمون مقاومت به باسی‌تراسین، پلی‌میکسین B و نوبیوسین، تست هیدرولیز اوره و کشت بر روی محیط مانیتول سالت آگار انجام شد.

جهت بررسی آزمایشات مورد نظر باکتری‌های ذخیره شده در محیط کشت BHI با ۲۰٪ گلیسرول مورد بررسی قرار گرفتند. استخراج DNA تمامی سویه‌ها به کمک لیزوزیم و بر اساس کار دستور شرکت سازنده کیت (BioFlux ،Japan) انجام شد. جهت شناسایی ژن *mecA* (ژن کد کننده مقاومت به متی‌سیلین) 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)، ۶ µl آب دو بار تقطیر و در نهایت با استفاده از دستگاه Thermal Cycler (Mastercycler, Eppendorf AG, Hamburg, Germany) انجام گرفت. برنامه چرخه حرارتی واکنش مولتی‌پلکس PCR برای ژن‌ها به صورت واسرشته‌سازی اولیه (Initial Denaturation) در ۹۵ °C به مدت پنج دقیقه و سپس در ادامه ۳۵ چرخه PCR به‌ترتیب واسرشته سازی اولیه ۹۵ °C به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمر (Primer Annealing)، ۵۳ °C به مدت ۹۰ ثانیه و طویل‌سازی (Extension)



[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-04 ]

**جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه[۱۰]**

| ژن هدف | توالی | شماره ژن | محصول (جفت باز) | دمای اتصال |
|---|---|---|---|---|
| ***mecA*** | F:TCCAGATTACAACTTCACCAGG<br>R: CCACTTCATATCTTGTAACG | *mecA* gene | ۱۶۲ | ۵۳ |
| **تیپ یک** | F:GCTTTAAAGAGTGTCGTTACAGG<br>R:GTTCTCTCATAGTATGACGTCC | ORF E008 of strain NCTC10442 | ۶۱۳ | ۵۳ |
| **تیپ دو** | F:GATTACTTCAGAACCAGGTCAT<br>R:TAAACTGTGTCACACGATCCAT | kdpE of strain N315 | ۲۸۷ | ۵۳ |
| **تیپ سه** | F:CATTTGTGAAACACAGTACG<br>R:GTTATTGAGACTCCTAAAGC | J1 region of SCCmec type III | ۲۴۳ | ۵۳ |
| **تیپ چهار** | F:GCCTTATTCGAAGAAACCG<br>R:CTACTCTTCTGAAAAGCGTCG | ORF CQ002 of strain CA05 | ۷۷۶ | ۵۳ |
| **تیپ پنج** | F:CAAACACTGATATTGTGTCG<br>R:GAACATTGTTACTTAAATGAGCG | ORF V011 of strain JCSC3624 | ۳۲۵ | ۵۳ |

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

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

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

واکنش زنجیره پلیمراز جهت تیپ‌بندی SCCmec: هر واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ µl شامل: ۱۲/۵ µl 2x Taq premix Mastermix، ۱ µl از هر پرایمر F، ۱ µl از هر پرایمر R، ۳ µl از DNA الگو و ۱/۵ µl آب دوبار تقطیر می‌باشد. برنامه چرخه حرارتی واکنش مولتی پلکس PCR برای ژن ها به صورت واسرشته‌سازی اولیه در °C ۹۵ به مدت پنج دقیقه و سپس در ادامه ۳۵ چرخه PCR به ترتیب واسرشته‌سازی اولیه °C ۹۵ به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمر °C ۵۳ به مدت ۹۰ ثانیه و طویل‌سازی °C ۷۲ به مدت یک دقیقه و در نهایت یک مرحله طویل‌سازی نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در °C ۷۲ انجام شد.[۱۳] 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 همولتیکوس* (۴۰٪)۴۰ و *استافیلوکوکوس ساپروفتیکوس* (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 ریفامپین بودند و نسبت به آنتی-

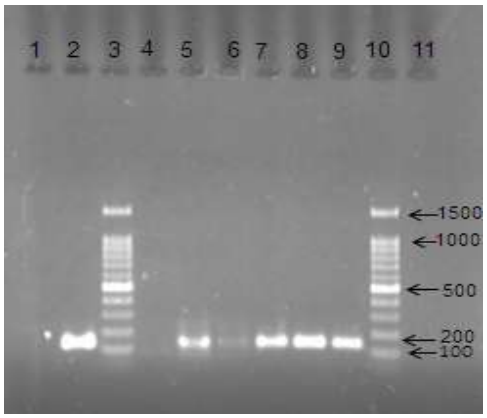


[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-04 ]

**جدول ۲: توزیع فراوانی الگوی مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوک کواگولاز منفی**

| دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی | حساسیت | مقاومت | مقاومت نسبی |
|---|---|---|---|
| سفوکستین | ۵۰(٪۵۰) | ۵۰(٪۵۰) | |
| اریترومایسین | ٦٧(٪٦٧) | ۳۰(٪۳۰) | ۳(٪۳) |
| لووفلوکساسین | ۸۸(٪۸۸) | ۱۲(٪۱۲) | |
| جنتامایسین | ۷۳(٪۷۳) | ۱۲(٪۱۲) | ۱۵(٪۱۵) |
| داکسی‌سیکلین | ۷۵(٪۷۵) | ۲۵(٪۲۵) | |
| کلرامفنیکل | ۷۲(٪۷۲) | ۲۳(٪۲۳) | ۵(٪۵) |
| تری‌متوپریم سولفومتوکسازول | ۵۳(٪۵۳) | ٤٧(٪٤٧) | |
| ریفامپین | ۹٦(٪۹٦) | ٤(٪٤) | |
| نوبیوسین | ۹۵(٪۹۵) | ۵(٪۵) | |
| کلیندامایسین | ۸۱(٪۸۱) | ۱۹(٪۱۹) | |

تعداد ۱۰۰سویه *استافیلوکوک کواگولاز* منفی (۵۰ سویه مقاوم به متی‌سیلین و ۵۰ سویه حساس به متی‌سیلین)




**شکل ۱: ژل الکتروفورز برای محصول PCR**

ستون ۱: کنترل منفی، ستون ۲:کنترل مثبت ستون ۳: سایز مارکر bp ۱۰۰ ( Fermentas, Germany)، ستون ۹-٤: نمونه‌های *mecA* مثبت با طول ۱٦۲ باز

بیوتیک‌های تری‌متوپریم سولفامتوکسازول کمترین حساسیت را نشان دادند. با بررسی مقاومت ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین به دو روش دیسک دیفیوژن آگار و روش PCR میزان شیوع ژن *mecA* در بین سویه‌های ایزوله شده ۵۰٪ گزارش گردید که به‌صورت باند آشکار با طول ۱٦۲ جفت باز مشاهده شد (شکل ۱).

نتایج تعیین تیپ‌های SCCmec: درصد فراوانی تیپ‌ها در بین ۵۰ ایزوله مقاوم به متی‌سیلین به‌ترتیب تیپ ۳ (۱۳٪)۱۳ عدد، تیپ ۵ (۱۱٪)۱۱، تیپ ۲ (٦٪)٦، تیپ ٤ (٤٪)٤ و تیپ ۱ (۳٪)۳ عدد مشاهده شد و همانگونه که نتاج نشان می‌دهد تیپ ۳ به‌عنوان تیپ غالب گزارش گردید، از طرفی ۱۳ تا از نمونه‌ها به روش یاد شده قابل تیپ‌بندی نبودند.

## بحث

استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی در بیشتر موارد هنگامی که از نمونه‌های کلینیکی ایزوله می‌شوند به‌عنوان آلوده‌کننده‌های محیط کشت در نظر گرفته می‌شوند.[11] در صورتی که این نوع باکتری‌ها پاتوژن‌های فرصت طلبی هستند که توانایی ایجاد عفونت‌های جدی در نوزادان و افراد دارای کاتتر و نیز بیماران با نقص در سیستم ایمنی را دارند.[12] همچنین مشابه *استافیلوکوک اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین[13] سرعت جداسازی استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی مقاوم به متی‌سیلین هم در سراسر جهان در حال افزایش است که همین امر به‌عنوان عامل مهمی از عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شود.[14] با توجه به افزایش سرعت جداسازی استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی،



[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-04 ]

مقاومت این سویه‌ها به متی‌سیلین هم در حال افزایش است که خود این مسئله درمان‌های آنتی‌بیوتیکی را با مشکل مواجه می‌نماید. در مطالعه حاضر ٤٤٪ از عفونت‌ها در ارتباط با نمونه‌های خون بودند که مشابه مطالعه انجام شده توسط Keim و همکاران بود.[۱۵] اگرچه به‌تازگی گونه‌های زیادی از استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی شناسایی شده‌اند، مطالعات انجام شده گویای آن است که *استافیلوکوک اپیدرمیدیس*، *استافیلوکوک همولتیکوس*، *استافیلوکوک وارنری* و *استافیلوکوک هومنیس* گونه‌های غالب عفونت‌های کلینیکی را شامل می‌شوند.[۱۶و۱۷]

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 Koksal با درصد فراوانی ٤۳/۵٪ و Ruppe و همکارانشان همخوانی داشت.[۱۸و۱۹]

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 کواگولاز منفی مقاوم به متی‌سیلین بوده و همچنین در این بررسی نیز درصد کمی از باکتری‌ها (٤٪) به آن مقاومت نشان دادند، از این‌رو این آنتی‌بیوتیک می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسبی جهت درمان در نظر گرفته شود.[۲۰]

با توجه به اینکه تشکیل بیوفیلم یکی از فاکتورهای ویرولانس 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 کاتترهای وزیکولی می‌شود فرایند عفونت را تضعیف می‌نماید، بنابراین داروی ریفامپین جایگزین درمانی مناسبی برای این گونه از باکتری‌ها است.[۲۰] 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.[۲۱] 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 همکارانش[۲۲] مشابه ولی درصد شیوع آن از مطالعه انجام شده توسط Mbanga و همکارانش کمتر بود.[۲۳] 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.[۲۴و۲۵] 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.[۲۶-۲۸]

از آنجایی که توزیعی از تیپ‌های مختلف SCCmec بر اساس گونه میزبان و شرایط جغرافیایی منطقه متفاوت است.[۱۹و۲۹] 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 بیشتراز 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 ۸-٦ 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.[۲۸و۳۰]

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*، *ساپروفتیکوس* و *همولتیکوس*" در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۱۳۹۳ به شماره ۹۳۰٤۱۰۱۸۳۵ 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.



[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-04 ]

## References


1. Vitali LA, Petrelli D, Lamikanra A, Prenna M, Akinkunmi EO1. 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.
2. Jeong IS, Jeong JS, Choi EO. Nosocomial infection in a newborn intensive care unit (NICU), South Korea. *BMC Infect Dis* 2006;23:103-10.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Livermore DM. Antibiotic resistance in staphylococci. *Int J Antimicrob Agents* 2000;16 Suppl 1:S3-10.
7. 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.
8. 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.
9. Hanssen AM, Ericson Sollid JU. SCCmec in staphylococci: genes on the move. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2006;46(1):8-20.
10. 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 meticillin-resistant Staphylococcus aureus. *J Med Microbiol* 2010;59(Pt 10):1135-9.
11. 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.
12. Rybak MJ, Vidaillac 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.
13. Arabestani MR, Rastiany S, Mousavi SF, Ghafel S, Alikhani M Y. Identification of toxic shock syndrom and exfoliative toxin genes of Staphylococcus aureus in carrier persons, resistant and susceptible methicillin. *Tehran Univ Med J* 2015;73(8):554-60.
14. Piette A, Verschraegen G. Role of coagulase-negative staphylococci in human disease. *Vet Microbiol* 2009;134(1-2):45-54.
15. 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.
16. 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.
17. von Eiff C, Peters G, Heilmann C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet Infect Dis* 2002;2(11):677-85.
18. Koksal 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.
19. Ruppé E, Barbier F, Mesli Y, Maiga A, Cojocaru 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.
20. 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.
21. 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.
22. 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.
23. 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.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. Ibrahem 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
28. 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.
29. 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.
30. Zong Z, Peng C, Lü X. Diversity of SCCmec Elements in Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci Clinical Isolates. *PLoS One* 2011;6(5):e20191.




[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-04 ]

TUMJ Tehran University Medical Journal, March 2016; Vol. 73, No. 12: 888-894 Original Article

# 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.[1,2]
Mohammad Yousef Alikhani Ph.D.[1]
Manoochehr Karami Ph.D.[3]
Elham Salimi Ghale M.Sc. Student[1*]

*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 contaminats 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 genomicm, *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.



[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-04 ]