

تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده

از نمونه های بالینی با روش انتشار دیسک و PCR

فروزان کاوسی نژاد^۱، دکتر اسماعیل فتاحی*^۲، دکتر نغمه موری بختیاری^۳

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، واحد آیت اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران. ۲- استادیار، گروه زیست شناسی، واحد آیت اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

۳- استادیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی بیوتیک ها، یکی از مشکلات عمده بهداشت جهانی است و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آنها بسیار مهم است. این مطالعه به منظور تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده از نمونه های بالینی با روش انتشار دیسک و تشخیص مولکولی (Polymerase Chain Reaction: PCR) انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه توصیفی - آزمایشگاهی روی ۵۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه های بالینی بیماران مراجعه کننده به بیمارستان های شهر اهواز در سال ۱۳۹۲ انجام شد. سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی جدایه ها با روش انتشار دیسک انجام شد. تعیین مقاومت به متی سیلین با روش PCR توسط پرایمر اختصاصی انجام شد.

یافته ها: از ۵۰ ایزوله حاصله تمامی جدایه ها نسبت به متی سیلین، آمپی سیلین و پنی سیلین مقاوم بودند. مقاومت جدایه ها نسبت به اریترومایسین، جنتامایسین و کلیندامایسین و سیپروفلوکسازین به ترتیب ۴۸ درصد، ۳۴ درصد، ۳۴ درصد و ۳۴ درصد بود. در روش PCR ۹۸ درصد از جدایه استافیلوکوکوس اورئوس های مقاوم به متی سیلین حاوی ژن مقاومت به متی سیلین بودند.

نتیجه گیری: ۹۸ درصد جدایه ها حاوی ژن *mec-A* بودند و مقاومت بالا به آنتی بیوتیک متی سیلین به ژن *mec-A* وابسته است. این امر می تواند به عنوان یک تهدید بالقوه برای بهداشت عمومی باشد.

کلید واژه ها: استافیلوکوکوس اورئوس، مقاومت آنتی بیوتیکی، انتشار دیسک، PCR

* نویسنده مسؤول: دکتر اسماعیل فتاحی، پست الکترونیکی esmail_fattahy@yahoo.com

نشانی: آمل، جاده قدیم آمل به بابل، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آملی، تلفن ۲۰-۱۲۵۱۷۳۱۹-۰۱۲، شماره ۱۹-۴۳۲۱۷۳۱۹-۰۱۱

وصول مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۲۷، اصلاح نهایی: ۱۳۹۴/۲/۲۷، پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۲/۳۰

مقدمه

از ۹۰ درصد سویه های آن بتالاکتاماز تولید کرده و به پنی سیلین مقاوم هستند و در حدود ۲۰ درصد از استافیلوکوک اورئوس به متی سیلین مقاوم هستند (۷-۹). استافیلوکوکوس اورئوس های مقاوم به متی سیلین (Methicillin-resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) به انواعی از آنتی بیوتیک ها از جمله گروه آگراسیلین (نفسیلین، متی سیلین، آگراسیلین، کلوزاسیلین) و همچنین به نیسیلین، سیپروفلوکسازین، اریترومایسین، کانامایسین، آمیکاسین، توبرامایسین، کلیندامایسین و تتراسایکلین و تمامی آنتی بیوتیک های بتالاکتام مثل پنی سیلین، آموکسی سیلین و سفالوسپورین ها مقاومت نشان می دهند (۱۰ و ۱۱). در میان استافیلوکوکوس اورئوس های مقاوم به آنتی بیوتیک ها، شیوع MRSA در سال های اخیر افزایش قابل توجهی یافته است و درمان عفونت های ناشی از این سویه ها را با مشکل روبرو کرده است. مقاومت متی سیلین و دیگر مشتقات

امروزه استفاده نادرست و بیش از حد آنتی بیوتیک ها به عنوان یکی از مشکلات عمده بهداشت عمومی جوامع انسانی است که موجب پیدایش و انتشار پاتوژن های مقاوم و ژن های مقاومت در آنها شده است. در میان پاتوژن های باکتریایی، استافیلوکوکوس اورئوس یکی از شایع ترین عوامل مولد عفونت های بیمارستانی و اکتسابی در ایران و جهان است (۱-۳). این میکروارگانیسم، کوکسی گرم مثبت و بی هوازی اختیاری است و بر روی غشای مخاطی، پوست و ناحیه قدامی مجاری بینی یافت می شود که به دلیل توانایی آن برای سازگاری با شرایط محیطی مختلف و مقاومت روزافزون در برابر داروهای ضد میکروبی یک پاتوژن با نگرانی بالا به شمار می آید (۴-۶). شیوع مقاومت به آنتی بیوتیک ها در میان استافیلوکوک ها به ویژه استافیلوکوک طلائی رو به افزایش است. به طوری که بیش

استخراج شده از روش PCR استفاده شد. سپس برای تکثیر ژن mec-A توالی پرایمر که قبلاً توسط Russell و Sambrook در سال ۲۰۰۱ (جدول یک) استفاده شده بود (۱۶)؛ مورد آزمایش قرار گرفت.

جدول ۱: پرایمر مورد استفاده برای تکثیر ژن mec-A

اندازه محصول (bp)	توالی ژن‌ها (5' → 3')	ژن
۳۰۰	F: AAT TCC ACA TTG TTTCGG TCT AA R: GTA GAA ATG ACT GAA CGT CCG ATA A	mec-A

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر با افزودن Master mix 2x ۱۲/۵ میکرولیتر، DNA Template ۵ میکرولیتر، پرایمرها از هر کدام یک میکرولیتر، آب دیونیزه ۵/۵ میکرولیتر در میکروتیوپ استریل ۰/۲ و در شرایط ۳۵ چرخه تکثیر DNA (واسرشت‌سازی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمرها در ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله طولیل شدن در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه) در ترموسایکلر اپندورف انجام شد. پس از انجام آزمایش PCR، محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در چاهک ژل آگارز یک درصد قرار داده شد. بعد از الکتروفورز به وسیله دستگاه ترانس لومیناتور تحت نور UV بررسی گردید.

یافته‌ها

در الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۵۰ نمونه جدا شده به روش انتشار دیسک کربی بائر، ۵۰ ایزوله نسبت به متی‌سیلین، پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین مقاومت کامل نشان دادند. پس از آن بیشترین مقاومت در ۲۴ جدایه نسبت به اریترومایسین (۴۸ درصد) و ۱۷ جدایه مقاومت به جنتامایسین و سیپروفلوکساسین (۳۴ درصد) و ۱۸ جدایه مقاومت به کلیندامایسین (۳۶ درصد) مشاهده گردید.

۴۹ مورد (۹۸ درصد) از جدایه‌های MRSA حاوی ژن مقاومت به متی‌سیلین بودند و تنها یک مورد (۲ درصد) فاقد ژن مقاومت بود (شکل یک و جدول ۲). نتایج PCR به صورت تکثیر قطعه مورد نظر از ژن mec-A با طول ۳۰۰bp گزارش شد.

جدول ۲: نتایج آنتی‌بیوگرام جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مطالعه شده به روش انتشار دیسک از نمونه‌های بالینی بیمارستان‌های اهواز

آنتی‌بیوتیک	فراوانی (درصد)	
	مقاوم	حساس
پنی‌سیلین	۵۰ (۱۰۰)	۰ (۰)
کلیندامایسین	۱۸ (۳۶)	۳۲ (۶۴)
متی‌سیلین	۵۰ (۱۰۰)	۰ (۰)
اریترومایسین	۲۴ (۴۸)	۲۶ (۵۲)
جنتامایسین	۱۷ (۳۴)	۳۳ (۶۶)
سیپروفلوکساسین	۱۷ (۳۴)	۳۱ (۶۲)
آمپی‌سیلین	۵۰ (۱۰۰)	۰ (۰)

آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام مربوط به ژن mec-A است. وجود این ژن به عنوان شاخص اساسی برای تایید سویه‌های استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین است. سویه‌های دارای این ژن مقاومت چنددارویی دارند و به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های دیگر هم مقاومت نشان می‌دهند که علاوه بر ایجاد مشکلات در درمان بیماری، سبب کلونیزاسیون و انتشار در محیط بیمارستان و انتشار به سایر بیماران می‌گردند (۱۴-۱۲). بنابراین با توجه به روند رو به رشد تعداد باکتری‌های مقاوم به درمان و وجود گزارشات متعدد در خصوص بروز بیماری در انسان، شناسایی سریع و دقیق عفونت‌های MRSA برای درمان، اهمیت می‌یابد. لذا این مطالعه به منظور تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از نمونه‌های بالینی با روش انتشار دیسک و تشخیص مولکولی (Polymerase Chain Reaction: PCR) انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی - مقطعی تعداد ۲۸۰ نمونه بالینی شامل زخم، ادرار، آبسه و مایع آسیت از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌های گلستان، امام خمینی، امیرالمؤمنین، آریا و رازی شهرستان اهواز در سال ۱۳۹۲ جمع‌آوری و به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل شد.

برای جدایه‌سازی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، نمونه‌ها بر روی محیط آگار خون‌دار کشت داده شدند و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، کلنی‌ها با آزمایش‌های میکروبیولوژیکی استاندارد شامل رنگ‌آمیزی گرم، آزمایش‌های بیوشیمیایی از قبیل کاتالاز، کوآگولاز، DNase و رشد بر روی مانتیول سالت آگار، ۱۵۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی گردید.

تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جداسازی شده با استفاده از روش انتشار دیسک و راهنمای (CLSI) (clinical and laboratory standards institute) انجام شد (۱۵). دیسک آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده شامل پنی‌سیلین (۱۰ واحد)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، متی‌سیلین (۵ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم) و سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم) از شرکت Mast co تهیه شد. سپس همه پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه و نتایج بر اساس جدول شرکت سازنده تفسیر شد (۱۳).

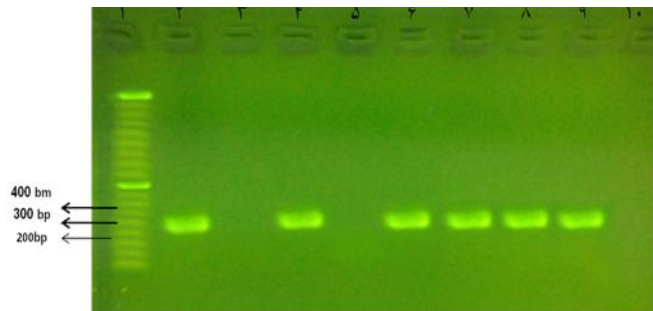
از کلنی‌های رشد یافته بر روی محیط کشت برای استخراج DNA استفاده شد. برای این منظور از کیت استخراج DNA شرکت ویوژن ساخت کشور مجارستان و براساس دستورالعمل کیت، DNA استخراج گردید. برای ردیابی ژن Mec-A در DNA

دیسک، ۳۱/۴ درصد سویه‌ها به متی‌سیلین مقاومت نشان دادند؛ اما با روش PCR، ۵۰ درصد ژن مقاومت به متی‌سیلین را داشتند (۲۱). این مطالعات مشابه تحقیق حاضر سویه‌های MRSA به متی‌سیلین نیز مقاومت بالایی نشان داده‌اند که ممکن است یکی از دلایل بالا بودن MRSA در این مطالعه نوع پرایمر مورد استفاده باشد که در مطالعات مختلف نوع پرایمر یکسان نبوده است. همچنین مطالعات مشابهی که در بخش ICU کشورهای آمریکایی و اروپایی طی سال‌های ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۴ به روش دیسک دیفیوژن انجام شده؛ نشان می‌دهد استافیلوکوکوس اورئوس بالاترین مقاومت را نسبت به آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین نشان داده است (۲۲). در این مطالعه نیز تمامی جدایه‌ها به آمپی‌سیلین مقاومت نشان دادند که با مطالعه Sader و همکاران (۲۲) مطابقت دارد. در واقع اکثر سویه‌ها دارای مقاومت چندارویی هستند. استفاده گسترده از این آنتی‌بیوتیک برای درمان مبتلایان به عفونت‌های ناشی از MRSA موجب شیوع جدایه‌های مقاوم به این آنتی‌بیوتیک شده و در نهایت درمان چنین بیمارانی را دچار مشکل می‌کند.

استفاده از روش تشخیص مولکولی (PCR) می‌تواند دقت و حساسیت شناسایی سویه MRSA را افزایش داده و در تشخیص صحیح و درمان آنتی‌بیوتیکی آن موثر و مفید باشد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی در نقاط مختلف جهان و ایران براساس مصرف بی‌رویه آنها در درمان عفونت‌های ناشی از این سویه‌ها متفاوت بوده و عدم رعایت اصول استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند سویه‌های جدید را ایجاد کند که ممکن است نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج مقاومت داشته و عواقب خطرناکی را در پی داشته باشد. لذا در مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها بایستی دقت شود تا از ایجاد سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها کاسته شود. در این مطالعه روش مولکولی به عنوان یک روش قابل اطمینان، دقیق و سریع در تشخیص سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها شناخته شد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس در انتشار مقاومت بسیار حائز اهمیت است و باید در درمان عفونت‌های ناشی از آنها به این مهم توجه داشت تا این فرایند کاهش یابد. همچنین بایستی مراقبت و کنترل دقیقی روی استافیلوکوکوس اورئوس اعمال شود و از تجویز غیرضروری آنتی‌بیوتیک‌ها به شدت اجتناب گردد؛ چون این عمل موجب پیدایش و افزایش سویه‌های مقاوم به دارو می‌شود که نتایج آن ممکن است غیرقابل جبران باشد. نتایج این بررسی حاکی از میزان بالای مقاومت به متی‌سیلین در میان جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس است.



شکل ۱: الکتروفورز انجام شده بر روی محصولات PCR در ژل آگارز یک درصد
چاهک ۱: مارکر وزن مولکولی، چاهک ۲: سوش کنترل مثبت، دارای ژن *mec-A*؛ چاهک ۳: سوش کنترل منفی، فاقد ژن *mec-A*؛ چاهک‌های ۴، ۶، ۷، ۸ و ۹ دارای ژن *mec-A* 300 bp

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه ۱۰۰ درصد جدایه‌ها نسبت به متی‌سیلین، پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین مقاومت نشان دادند. یافته‌های این مطالعه حاکی از مقاومت جدایه‌ها نسبت به اریتروماکسیسین، جنتامایسین، کلیندامایسین و سیپروفلوکسایسین بود. همچنین با روش PCR حضور ژن مقاومت به متی‌سیلین *Mec-A* در سویه‌های MRSA بررسی و ۴۹ مورد (۹۸ درصد) از جدایه‌های MRSA حاوی ژن مقاومت به متی‌سیلین و تنها در یک مورد (۲ درصد) فاقد ژن مقاومت بود.

رحیمی و همکاران با مطالعه فراوانی ناقلین استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در کارکنان بیمارستان‌های استان گلستان گزارش کردند شیوع ناقلین این میکروارگانیسم ۲۴ درصد و شیوع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین ۳ درصد است. همچنین بیشترین مقاومت نسبت به پنی‌سیلین مشاهده شد و تمام سویه‌ها به ونکوماکسیسین حساس بودند (۱۷) که با نتایج مطالعه ما مطابقت داشت. در مطالعه شکری و همکاران روی ۴۵ نمونه استافیلوکوکوس در زنجان طی سال ۱۳۹۳، ۵۷/۷۷ درصد سویه‌ها حاوی ژن *mec A* بودند و همه سویه‌ها نسبت به پنی‌سیلین بیشترین مقاومت را نشان دادند و کمترین مقاومت به ونکوماکسیسین (۷/۶۹ درصد) مشاهده شد (۱۸). دارابی و همکاران در سال ۱۳۸۹ گزارش کردند از ۱۴۹ سویه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده ۹۰ درصد سویه‌ها به متی‌سیلین مقاوم هستند (۱۹). مطالعه رضازاده و همکاران در سال ۱۳۹۲ نشان داد ۸۰ درصد سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی به متی‌سیلین مقاوم هستند. کمترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل (۵/۷ درصد)، تیل‌مایسین (۵/۷ درصد) و موپیروسین (صفر درصد) گزارش شد (۲۰). همچنین در مطالعه زمانی و همکاران از ۷۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس با روش انتشار

اسلامی واحد آیت اله آملی بود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل پایان‌نامه خانم فروزان کاوسی‌نژاد برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته میکروبیولوژی از دانشگاه آزاد

References

- Bronner S, Monteil H, Prévost G. Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications. *FEMS Microbiol Rev*. 2004 May; 28(2): 183-200.
- Novick RP, Schlievert P, Ruzin A. Pathogenicity and resistance islands of staphylococci. *Microbes Infect*. 2001 Jun; 3(7): 585-94.
- Silva EC, Antas Md, Monteiro B Neto A, Rabelo MA, Melo FL, Maciel MA. Prevalence and risk factors for *Staphylococcus aureus* in health care workers at a university hospital of Recife-PE. *Braz J Infect Dis*. 2008 Dec; 12(6): 504-8.
- Masomi J, Yadegari D, Mozani Sh. [More appropriate antimicrobial agents for antibiogram]. *Iran J Infect Dis Trop Med*. 2005; 10 (29): 53-58. [Article in Persian]
- Bagherzadeh Yazdchi S, Pourmand M, Hajiabdolbaghi M, Hoseini M, Mardani N. [Molecular characterization of hypervariable region (hvr) and antibiotic susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* strains isolates collected from Tehran University of Medical Sciences Hospitals]. *J Sch Public Health Inst Public Health Res*. 2008; 6(2): 39-47. [Article in Persian]
- Vinodkumaradithyaa A, Uma A, Shirivasan M, Ananthalakshmi I, Nallasivam P, Thirumalaikolundusubramanian P. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among surgical unit staff. *Jpn J Infect Dis*. 2009 May; 62(3): 228-9.
- Bernal P, Lemaire S, Pinho MG, Mobashery S, Hinds J, Taylor PW. Insertion of epicatechin gallate into the cytoplasmic membrane of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disrupts penicillin-binding protein (PBP) 2a-mediated beta-lactam resistance by delocalizing PBP2. *J Biol Chem*. 2010 Jul; 285(31): 24055-65. doi: 10.1074/jbc.M110.114793
- Pinho MG, de Lencastre H, Tomasz A. An acquired and a native penicillin-binding protein cooperate in building the cell wall of drug-resistant staphylococci. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Sep; 98(19): 10886-91.
- Shehab el-din SA, El-shfey EI, El-hadiy MR, El-dlin AB, El-hadiy MM, Zaghvlul HA. Methicillin resistant staphylococcus aureus, a problem in the burns unit. *Egypt J Plast Reconstr Surg*. 2003; 27(1): 1-10.
- Rahimi F, Arabestani MR. [Enterotoxin a producing Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in profiteroles]. *Iran J Infect Dis Trop Med*. 2014; 19(2): 53-58. [Article in Persian]
- Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med*. 1998 Aug; 339(8): 520-32.
- Merlino J, Watson J, Rose B, Beard-Pegler M, Gottlieb T, Bradbury R, et al. Detection and expression of methicillin/oxacillin resistance in multidrug-resistant and non-multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in Central Sydney, Australia. *J Antimicrob Chemother*. 2002 May; 49(5): 793-801.
- 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. *J Clin Microbiol*. 2001 Nov; 39(11): 3946-51.
- Jenison R, Haerberli A, Yang S, Polisky B, Ostroff R. Thin film biosensor for rapid detection of mecA from methicillin-resistant staphylococcus aureus. *Clin Chem*. 2000 Sep; 46(9): 1501-4.
- Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 16th informational supplement. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa. 2006.
- Sambrook J, Russell D. Molecular cloning, a laboratory Manual. 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2001; pp: 8.4-8.5.
- 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 J Res Med Sci*. 2011; 13(1): 17-22. [Article in Persian]
- Shokri R, Salouti M, Sorouri Zanjani R, Heidari Zh. [Frequency of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical samples in Mousavi Hospital, Zanjan, and recognition mec Agene using PCR]. *Journal of Microbial World*. 2014; 7(1): 58-65. [Article in Persian]
- Darabi N, Habibollahi H, Shahbadian K. [Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* isolated from patients and personnel in Army hospital]. *Ann Mil Health Sci Res*. 2010; 8(3): 193-99. [Article in Persian]
- Rezazadeh M, Yousefi Mashouf R, Sarmadyan H, Ghaznavi-Rad E. [Antibiotic profile of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with multiple-drug resistances isolated from nosocomial infections in Vali-Asr Hospital of Arak]. *J Arak Univ Med Sci*. 2013; 16(2): 29-37. [Article in Persian]
- Zamani A, Sadeghian S, Najafi Mosleh M, Goodarzi MT, Yousefi Mashouf R, Ghaderkhani J. [Detection of Methicillin-resistance gene (mec-A) in *Staphylococcus aureus* strains by PCR and determination of antibiotic sensitivity]. *Sci J Hamadan Univ Med Sci*. 2007; 14(3): 54-58. [Article in Persian]
- Sader HS, Jones RN, Dowzicky MJ, Fritsche TR. Antimicrobial activity of tigecycline tested against nosocomial bacterial pathogens from patients hospitalized in the intensive care unit. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2005 Jul; 52(3): 203-8.

Original Paper

Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples by disk diffusion and PCR methods

Kavoosinezhad F (M.Sc)¹, Fattahi E (Ph.D)*², Moori Bakhtiari N (Ph.D)³

¹Microbiologist, Department of Biology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran. ²Assistant Professor, Department of Biology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran. ³Assistant Professor, Department of Pathobiology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Abstract

Background and Objective: Resistance of *Staphylococcus aureus* to antibiotics is one of the major global health problems in human societies. Thus, evaluation of pattern of antibiotic resistance in its different strains is very important. This study was carried out to evaluate the antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples by disk diffusion and PCR methods.

Methods: In this laboratory- descriptive study, 50 isolates of *Staphylococcus aureus* to be identified from clinical specimens. Methicillin resistance was examined using PCR and antibiotic susceptibility of isolates was tested by disk diffusion method.

Results: 50 isolates were resistant to methicillin, ampicillin and penicillin. The resistance of isolates to erythromycin, Gentamicin, Clindamycin and Ciprofloxacin were 48%, 34%, 34%, 34%, respectively. The PCR method showed that 98% of Methicillin Resistance of *Staphylococcus aureus* isolates carried the methicillin resistant gene.

Conclusion: This study indicated that 98% isolates harbor *mecA* genes and more resistant to methicillin related *mecA* genes.

Keywords: *Staphylococcus Aureus*, Antibiotic Resistance, Disk diffusion method, PCR

* Corresponding Author: Fattahi E (Ph.D), E-mail: esmail_fattahy@yahoo.com

Received 16 Feb 2015

Revised 17 May 2015

Accepted 20 May 2015