Iranian Journal of Medical Microbiology | ISSN:2345-4342

Molecular Analysis of the Presence of *pvl*, *spa*, and *mecA* Genes and Their Correlation with a Range of Antibiotics in *Staphylococcus aureus* Collected from Burn Patients

Mahsa Rezashateri[1], Mahsa Ahrabi[2], Mitra Salehi[3*]

1. *MSc in Molecular Genetics, Department of Genetics, Faculty of Biological Sciences, Islamic Azad Univesity, North Tehran Branch, Tehran, Iran*
2. *PhD in Microbiology, Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Islamic Azad Univesity, North Tehran Branch, Tehran, Iran*
3. *Assistant Professor of Genetics, Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Islamic Azad Univesity, North Tehran Branch, Tehran, Iran*

10.30699/ijmm.15.6.625

ABSTRACT

Background and Aim: *Staphylococcus aureus* is one of the most important human pathogens and common causes of nosocomial and acquired infections in the world. The aim of this study was to investigate antibiotic resistance in methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) strains and the molecular properties of *S. aureus* strains.

Materials and Methods: For this purpose, a descriptive study was performed in 2017 on 56 strains of *S. aureus* isolated from clinical specimens. MecA subclasses were also determined by Multiplex RCR reaction. The *pvl* and *spa* genes in these strains were determined by PCR reaction.

Results: The highest resistance of the strains was observed to be to the antibiotics oxacillin, cefoxytime and erythromycin, and vancomycin (12.5%). 100% of methicillin-resistant *S. aureus* strains contained *mecA* gene, and more than 50% of isolated strains were associated with nosocomial infections. In addition, 3SCCmec type and 1 SCCmec type were identified as the dominant subtypes in this study and (17.8%). Also, 10 isolated strains could not be typed.

Conclusion: The results showed that the *spa* gene distribution was present in 82% of the samples. Out of 46 samples, 40 samples belonged to wound samples. Also, *pvl* gene was observed in 12% (7 samples) of samples. There is an association between *mecA* gene and resistance to the antibiotics oxacillin, cefoxitin, and erythromycin in methicillin-resistant *S. aureus* strains.

Keywords: Antibiotic resistance, *mecA*, *pvl*, *spa*, *Staphylococcus aureus*

Received: 2021/05/30; **Accepted**: 2021/09/01; **Published Online:** 2021/12/08

Corresponding Information: **Mitra Salehi,** Assistant Professor of Genetics, Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Islamic Azad Univesity, North Tehran Branch, Tehran, Iran, Email: mitra_salehi_microbiology@yahoo.com

Copyright © 2021, This is an original open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribution of the material just in noncommercial usages with proper citation.

Use your device to scan and read the article online

Rezashateri M, Ahrabi M, Salehi M. Molecular Analysis of the Presence of pvl, spa, and mecA Genes and Their Correlation with a Range of Antibiotics in *Staphylococcus aureus* Collected from Burn Patients. Iran J Med Microbiol. 2021; 15 (6) :625-637

Download citation: BibTeX | RIS | EndNote | Medlars | ProCite | Reference Manager | RefWorks

Send citation to: Mendeley Zotero RefWorks

1. Introduction

Staphylococcus aureus is one of the most important known causes of serious and deadly infections in hospitals **(1)**. Nowadays, *S. aureus* is recognized as an important pathogen **(2)**. *S. aureus* causes a wide range of diseases. Due to genome mutation potential, it has undergone many genetic changes. Because it has a flexible genome, pathogenic and resistant strains have expanded. Colonization of *S. aureus*, especially methicillin-resistant strains, is the cause of *S. aureus* prevalence and mortality **(3-5)**.

Bacterial resistance to antibiotics is one of the challenges threatening human health. In recent decades, the use of antibiotics and medicine in agriculture has increased significantly and has also affected the environment **(6,7)**. Drug resistance to antibiotics can be considered a major global threat posed by bacterial resistance following the development of resistance plasmid genes in bacteria. **(8,9)**.

After the discovery of penicillin, it was initially used to treat staphylococcal infections. Still, the resistance of bacterial strains is increased so that in 1950, only 40% of hospital strains became resistant to penicillin, and this rate per the year 1960 reached 80% **(10, 11)**. The cause of this phenomenon was the production of penicillinase by a bacterium that breaks down penicillin; Therefore, current antibiotics, such as penicillinase-resistant penicillin (such as oxacillin and methicillin), are used. Unfortunately, bacteria have become resistant to these antibiotics **(12, 13)**.

Resistance to methicillin and other penicillinase-resistant penicillin is due to the presence of the *mec* operon. This operon is part of the staphylococcal chromosome cassette (SCCmec). The *mecA* gene encodes a penicillin-binding protein called PBP2a, which has a low affinity for beta-lactam antibiotics **(7)**.PBP proteins are involved in the construction of bacterial cell walls **(12)**. Therefore, the presence of such a new protein will not be affected by antibiotics, and the bacteria will easily survive. These strains are called methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA). Another antibiotic called vancomycin and a new antibiotic called linezolid has been used for treatment **(14)**.

The *spa* is one of the surface proteins of *S. aureus*. In addition to being a virulence factor of the bacterium, it is used to determine the specific identity of *S. aureus*. With the molecular typing of this protein, it is possible to prevent epidemics, reduce the number of infections, and reduce the cost of nosocomial infections **(15)**.

The presence of similar patterns in the *spa* gene indicates a common source of infection in hospital cases. Analysis of these patterns can help break the infection transmission chain in the hospital **(16)**. Variation in *S. aureus* strains can improve the response to treatment. Identifying strains can be effective in how antibiotics are selected, so molecular typing is important to determine their characteristics and differentiate **(17)**.

In this study, after extracting the genome of *S. aureus* from burn patients, (Staphylococcal protein A) *spa* and Panton-Valentine Leukocidin (*pvl*) genes were identified by PCR. The method of sensitivity and resistance to antibiotics in these strains was determined using the Disk-diffusion test. Then, the possibility of a relationship between pathogenic genes and antibiotics was investigated.

2. Material and Methods

Collection and Storage of *Staphylococcus aureus*

In this study, 56 samples of *S. aureus* positive from burn patients were collected from Shahid Motahari Hospital in Tehran, Panje- Azar Hospital in Gorgan, and Shahid Zare Hospital in Sari in 2018. These samples were transferred to blood agar and Mannitol salt agar medium and incubated at 37°C for 24 hours. Biochemical tests including gram staining, coagulase, catalase, Danse, and Mannitol fermentation were used to identify bacterial species.

Antibiogram Test

Antibiogram test was performed by Disk Diffusion test according to CLSI instructions. For this purpose, several bacterial colonies were removed and dissolved in physiological saline to equal the standard turbidity of half McFarland. Then agar was cultured on Müller Hinton medium, and antibiotic disks were placed on the culture medium at a standard distance and incubated at 37°C, and after 24 hours, the results were read.

Antibiotic discs of 30 µg vancomycin, 10 µg gentamicin, 5 µg methicillin, 1 µg oxacillin, 30 µg cefoxytin, and 15 µg erythromycin were prepared from Padtan Teb. *S. aureus* standard ATCC25923 was used as a positive control of the experiments.

DNA Extraction and PCR

Cinna Pure DNA bacteria kit (Cinna Pure DNA KIT-PR881614) was used for DNA extraction. SCCmec typing was performed for 56 MRSA strains using Multiplex PCR. For this purpose, the primers shown in Table 1 were used. Each PCR was performed in a final volume of 15 µL consisting of 2 µL primer, 1.5 µL of PCR buffer (10X), 75 µL of MgCl2, 0.6 µL of dNTPs, and 0.3 µM of NF Water. For each of the nine primers, 0.25 µL of DNA Ex-Taq polymerase and 7.3 µL of distilled water were used. For PCR, denaturation was performed at 94°C in 15 minutes, followed by ten denaturation cycles, and for reconnection for 45 seconds at 94°C.

Table 1. Primer sequences used for Multiplex PCR testing for typing and determination of MSRA SCCmec subunit

Primers	Oligonucleotide sequences (50–30)	Concentration (mM)	Amplicon size (bp)	Specifity
Type I-F **Type I-R**	5′-GCTTTAAAGAGTGTCGTTACAGG-3′ 3′-GTTCTCTCATAGTATGACGTCC-5′	0.2	613	sccmec I
Type II-F **Type II-R**	5′-CGTTGAAGATGATGAAGCG-3′ 3′-CGAAATCAATGGTTAATGGACC-5′	0.2	398	SCCmec
Type III-F **Type III-R**	5′-CCATATTGTGTACGATGCG-3′ 3′-CCTTAGTTGTCGTAACAGATCG-5	0.2	280	SCCmec
Type IVa-F **Type IVa-d**	5′-GCCTTATTCGAAGAAACCG-3′ 3′-CTACTCTTCTGAAAAGCGTCG-5′	0.2	776	SCCmec I
Type IVb-F **Type IVb-R**	5′-TCTGGAATTACTTCAGCTGC-3′ 3′- AAACAATATTGCTCTCCCTC-5′	0.2	493	SCCmec
Type IVc-F **Type IVc-R**	5′-ACAATATTTGTATTATCGGAGAGC-3′ 3′-TTGGTATGAGGTATTGCTGG-5′	0.2	200	sccmec
Type IVd-F **Type IVd-R**	5′-CTCAAAATACGGACCCCAATACA-3′ 3′-TGCTCCAGTAATTGCTAAAG-5′	0.2	881	SCCmec
Type V-F **Type V-R**	5′-GAACATTGTTACTTAAATGAGCG-3′ 3′-TGAAAGTTGTACCCTTGACACC-5′	0.2	335	SCCme
MecA147-F **MecA147-R**	5′-GTGAAGATATACCAAGTGATT-3′ 3′-ATGCGCTATAGATTGAAAGGAT-5′	0.2	147	mecA

3. Results

Isolation and detection of strains from clinical specimens

In this study, a total of 56 samples of sputum, blood, wounds, urine were collected from burn patients in Tehran, Gorgan, and Sari. The frequency of samples by type of sample is listed in Table 2. Using Grams staining, mannitol medium, Salt agar, catalase, and coagulase enzyme, 56 collected samples were found to be infected with *S. aureus*.

Table 2. Frequency of clinical samples based on sample type

Origin of sampling	Phlegm	Blood	Ulcer	Urinary
N=56	6	4	31	15
Percent	10	7.1	55.3	26.7

Assessment of Microbial Susceptibility

Antibiogram results showed that 37 of the 56 strains studied were resistant to the antibiotic cefoxitin. In this study, evaluation of the pattern of antibiotic resistance of *S. aureus* strains showed that there was the highest resistance to methicillin antibiotics (100%) followed by cefoxitin (60%) and the lowest resistance to vancomycin (15%). Also, 47% of strains were resistant to oxacillin (Table 3).

***Spa* Gene Amplification Results**

Figure 1 demonstrates the PCR results for the spa gene in *S. aureus* samples isolated from the patient. The results showed that the *spa* distribution was present in 82% (46 samples). Out of 46 samples, 40 samples belonged to wound samples.

Table 3. Results of microbial susceptibility assessment

Antibiotics	Cefoxitin	Erythromycin	Gentamicin	Vancomycin	Methicillin	Oxacillin
Number of sensitives	19	27	34	49	0	24
Number of Resistances	37	29	22	7	56	32

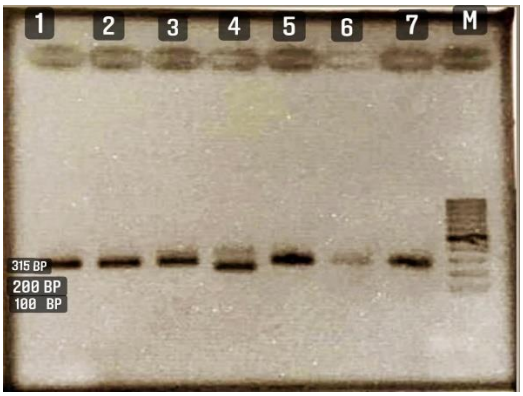


Figure 1. Electrophoresis results of PCR product for spa gene of lane M; marker bp100, lane1; standard strain, ATCC25923. Lanes 2 to 7 show clinical *S. aureus* strains with 315bp fragment length.

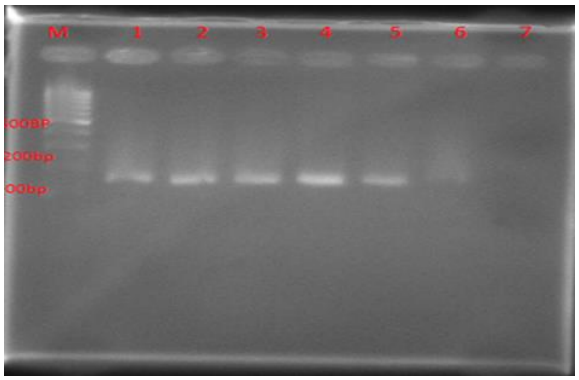


Figure 2. Results of PCR product electrophoresis on gel electrophoresis for *pvl* gene: 100 bp marker was used in lane M. Lane1 was a standard strain, 29213 ATCC. Lanes 2 to 6 strains of *S. aureus* clinically containing *pvl* gene (fragment length 180).

Results for *pvl* Gene Amplification

In order to investigate the presence of the *PVL* gene in *S. aureus* strains, specific primers of this gene were used, and the results were evaluated by a 180 bp band (Figure 2). The results showed that the *pvl* gene is observed in 12% of samples (7 samples).

In this study, no significant relationship was found between the presence of the *pvl* gene and sample type and pathogenic *spa* gene.

SCC mec Typing Results

Of the 56 strains analyzed by PCR, 100% were positive for the *mecA* gene. Type SCCmec in *S. aureus* were examined to determine the type of SCCmec MRSA isolates. As the findings showed, 16 (28.5%), 10 (17.8%), 5 (8.9%), 7 (12.5%) and 2 (3.5%), 3 (5.3%), 0 (0%), 3 (5.3%) MRSA isolates contained SCCmec type III, type I, type II, type Iva, type IVb, type IVc, type IVd and type V. In addition, 10 isolates (17.8%) could not be typed. Our study also showed that the number of HA-MRSA-related strains was higher than CA-MRSA in the isolates under study (Figure 3).

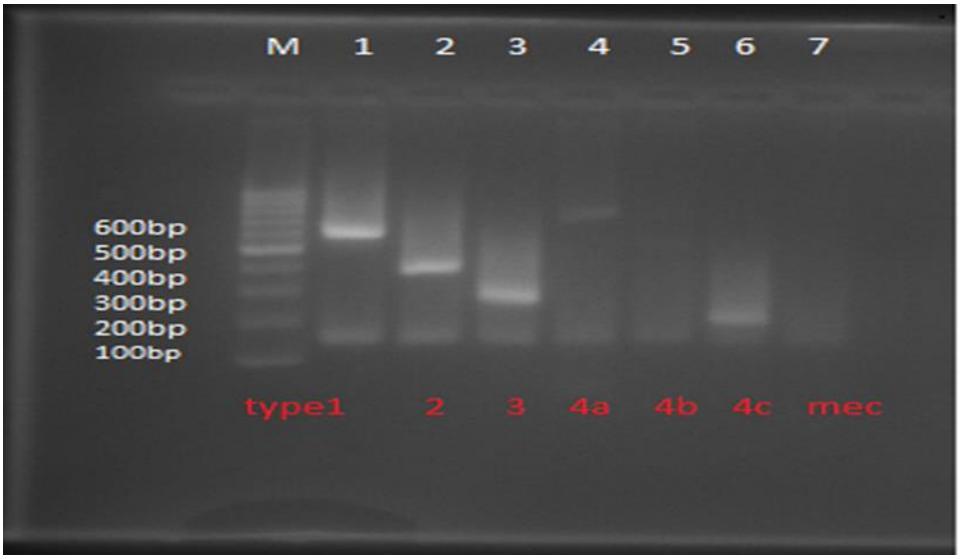


Figure 3. Multiplex PCR agarose electrophoresis. Lane 1, type SCC mecI (613 bp), Lane 2, SCC mec type II (398 bp), lane3, SCC mec Type III (280 bp), lane 4, SCCmec type Iva (776bp), lane 5, c Type IVb (493bp) SCC me, lane 6, type IVc (200bp) SCCmec.

4. Discussion

S. aureus is one of the most important human pathogens. It has been a major cause of hospital infections over the past decades **(18, 19)**. Prompt detection and treatment of MRSA infections are the most important measures to prevent the spread of infection and reduce the risk of mortality in patients **(12)**. MRSA infections are divided into two groups: HA-MRSA and CA-MRSA. These classifications can be

identified by the source of mobile genetic elements, SCCmec. **(20,21)**.

SCCmec is the most important determinant of the source of MRSA infection. If HA-MRSAS or CA-MRSA is detected, we will manage MRSA infections and choose the best treatment protocol **(22)**. Each type of SCCmec has unique genetic elements, and the determination of the *mecA* gene by PCR is more sensitive and accurate than the oxacillin disk test **(23)**. Therefore, the *mecA* gene was identified by PCR. According to the results, the presence of the *mecA* gene in 56 studied strains was 100%. At the same time, oxacillin resistance was more than 50% **(24)**, which is comparable to the results of the study of Ionescu *et al.* Ionescu research showed in 57 strains of *S. aureus*, phenotypically 22 strains were resistant to oxacillin, and 28 strains contained *mecA* gene **(25)**. In another study by Hammad *et al.*, All MRSA strains isolated from clinical specimens contained the *mecA* gene **(26)**.

Also, antibiotic susceptibility testing showed that 12.5% of the samples were sensitive to vancomycin. Resistance to oxacillin was less than 60%, and gentamicin, amikacin, cephalexin, cefoxitin, clindamycin, and erythromycin was between 30% and 70%. However, some antibiotics, such as vancomycin, are still effective for treatment.

In this study, the highest resistance was to oxacillin, methicillin and erythromycin. Also, five types of SCCmec were identified, and among them, type III was the most common in isolates, and multi-drug resistance was higher in type I and III strains than in other types. A similar study in 2016 in northern Iran showed that only SCCmec type III had the highest drug resistance **(13)**. In this study, the other type was SCCmec I (17.8%) and type IVa (12.5%) **(27)**.

A 2009 study by Vazquez on a variety of samples in Spain found that the highest percentage of isolates belonged to SCCmec type IV, while in a similar study in 2019 by Zhang*et al*, performed clinical trials and the dominant type and SCCmec type III were reported **(28)**. Some researchers examined SCCmec typing patterns in different samples, except for the 2011 study by Goss and Muhlebach in which patients with cystic fibrosis were selected as the study population, most had SCCmec type I. According to other studies, SCCmec types I, II, III are known as HA-MRSA, while CA MRSA strains are associated with SCCmec types IV and V **(16)**. The prevalence of HA-MRSA in this study was 57.7 (55 patients), higher than CA-MRSA. In this regard Rainard *et al*, and Abdi *et al.* **(17, 18)** have reported similar cases.

5. Conclusion

This study aimed to obtain the epidemiology and SCCmec typing of MRSA in patients in three different hospitals in Tehran, Gorgan, and Sari. Of the 56 MRSA isolates studied during 2019 using Multiplex PCR, SCCmec type III (28.5%) and SCCmec type I (17.8%) were studied. The present study results indicated that MRSA isolates may have originated from HA-MRSA or clonal aberration of MRSA.

The results of this study showed high resistance to methicillin among *S. aureus* isolates. Therefore, to select an appropriate antibiotic to treat *S. aureus* infections and prevent antibiotic resistance, doctors should prescribe appropriate antibiotics based on their effectiveness and availability.

The *pvl* gene causes permeability and antibiotic resistance in this bacterium. The *spa* gene also causes adhesion and increases bacterial resistance, and has a high polymorphism whose unique number and sequence of replication varies among strains. Molecular typing of this protein can investigate the possibility of a common source of infection that circulates or is transmitted from person to person in hospitals.

Acknowledgment

None.

Funding

None.

Conflict of Interest

There is no conflict of interest between the authors.

References

1. Kwiecinski JM, Horswill AR. Staphylococcus aureus bloodstream infections: pathogenesis and regulatory mechanisms. Curr Opin Microbiol. 2020;53:51-60. [PMID] [PMCID] [DOI:10.1016/j.mib.2020.02.005]
2. Otto M, editor Molecular basis of Staphylococcus epidermidis infections. Seminars in immunopathology; 2012: Springer. [PMID] [PMCID] [DOI:10.1007/s00281-011-0296-2]
3. Haddad Kashani H, Schmelcher M, Sabzalipoor H, Seyed Hosseini E, Moniri R. Recombinant endolysins as potential therapeutics against antibiotic-resistant Staphylococcus aureus: current status of research and novel delivery strategies. Clin Microbiol Rev. 2018;31 (1):e00071-17. [DOI:10.1128/CMR.00071-17] [PMID] [PMCID]
4. Polivkova M, Hubacek T, Staszek M, Svorcik V, Siegel J. Antimicrobial Treatment of Polymeric Medical Devices by Silver Nanomaterials and Related Technology. Int J Mol Sci. 2017;18(2):419. [DOI:10.3390/ijms18020419] [PMID] [PMCID]

5. Millan B. Fecal Microbial Transplantation and its Expansion into the Treatment of Other Diseases. 2016.
6. Biirgmann H, Sarum H. A brief multi-disciplinary review on antimicrobial resistance in medicine and its linkage to the global environmental microbiota. Front Microbiol. 2013 May 14;4:96.
7. Mohammadzadeh R, Mohammadi-Gollou A, Salehabadi Y. The Prevalence of CTX-M Beta-Lactamase Gene in Urinary Tract Infections in Patients Referring to Bonab City Hospitals. Iran J Med Microbiol. 2019;13(03). [DOI:10.30699/ijmm.13.4.302]
8. Aslam B, Wang W, Arshad MI, Khurshid M, Muzammil S, Rasool MH, et al. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. Infect Drug Resist. 2018;11:1645-58. [DOI:10.2147/IDR.S173867] [PMID] [PMCID]
9. Rashmi S, Chaman L, Bhuvneshwar K. Antibacterial resistance: current problems and possible solutions. Indian J Med Sci. 2005; 59:120-9. [DOI:10.4103/0019-5359.15091] [PMID]
10. Gurib-Fakim A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Mol Aspects Med. 2006;27(1):1-93.
11. Fischer H-D. Medical and Health-Related Coverage in Print-Media: Pulitzer Prize Winning Articles, Books, Cartoons and Photos: LIT Verlag Münster; 2020.
12. Gradmann C. From lighthouse to hothouse: hospital hygiene, antibiotics and the evolution of infectious disease, 1950-1990. Hist Philos Life Sci. 2018;40(1):1-25. [DOI:10.1007/s40656-017-0176-8] [PMID]
13. Luque Paz D, Lakbar I, Tattevin P. A review of current treatment strategies for infective endocarditis. Expert Rev Anti Infect Ther. 2021;19(3):297-307. [DOI:10.1080/14787210.2020.1822165] [PMID]
14. Peacock SJ, Paterson GK. Mechanisms of Methicillin Resistance in Staphylococcus aureus. Annu Rev Biochem. 2015;84:577-601. [DOI:10.1146/annurev-biochem-060614-034516] [PMID]
15. Foster TJ, Geoghegan JA, Ganesh VK, Hook M. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of Staphylococcus aureus. Nat Rev Microbiol. 2014;12(1):49-62. [DOI:10.1038/nrmicro3161] [PMID] [PMCID]
16. Afrough P, Pourmand MR, Zeinalinia N, Yousefi M, Abdossamadi Z, Bagherzadeh Yazdchi S. Molecular typing of clinical and nasal carriage isolates of Staphylococcus aureus by spa gene patterns. J Maz Univ Med Sci. 2012;22(94):28-34.
17. Rainard P, Foucras G, Fitzgerald JR, Watts JL, Koop G, Middleton JR. Knowledge gaps and research priorities in Staphylococcus aureus mastitis control. Transbound Emerg Dis. 2018;65 Suppl 1:149-65. [DOI:10.1111/tbed.12698] [PMID]
18. Abdi P, Mahdavi Ourtakand M, Honarmand Jahromy S. The Effect of Matricaria chamomilla Alcoholic Extract on Phenotype Detection of Efflux Pumps of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Isolated from Skin Lesions. Iran J Med Microbiol. 2019;13(3):220-31. [DOI:10.30699/ijmm.13.3.220]
19. De Oliveira DMP, Forde BM, Kidd TJ, Harris PNA, Schembri MA, Beatson SA, et al. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. Clin Microbiol Rev. 2020;33(3):e00181-19. [DOI:10.1128/CMR.00181-19] [PMID] [PMCID]
20. Rasigade JP, Vandenesch F. Staphylococcus aureus: a pathogen with still unresolved issues. Infect Genet Evol. 2014;21:510-4. [DOI:10.1016/j.meegid.2013.08.018] [PMID]
21. Bai Z, Chen M, Lin Q, Ye Y, Fan H, Wen K, et al. Identification of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus From Methicillin-Sensitive Staphylococcus Aureus and Molecular Characterization in Quanzhou, China. Front Cell Dev Biol. 2021;9:629681.[PMID] [PMCID] [DOI:10.3389/fcell.2021.629681]
22. Liu J, Chen D, Peters BM, Li L, Li B, Xu Z, et al. Staphylococcal chromosomal cassettes mec (SCCmec): A mobile genetic element in methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Microb Pathog. 2016;101:56-67. [DOI:10.1016/j.micpath.2016.10.028] [PMID]
23. Hashemizadeh Z, Hadi N, Mohebi S, Kalantar-Neyestanaki D, Bazargani A. Characterization of SCCmec, spa types and Multi Drug Resistant of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates among inpatients and outpatients in a referral hospital in Shiraz, Iran. BMC Res Notes. 2019;12(1):1-6. [DOI:10.1186/s13104-019-4627-z] [PMID] [PMCID]
24. Choi SM, Kim SH, Kim HJ, Lee DG, Choi JH, Yoo JH, et al. Multiplex PCR for the detection of genes encoding aminoglycoside modifying enzymes and methicillin resistance among Staphylococcus

species. J Korean Med Sci. 2003;18(5):631-6. [PMID] [PMCID] [DOI:10.3346/jkms.2003.18.5.631]

25. Ionescu R, Mediavilla JR, Chen L, Grigorescu DO, Idomir M, Kreiswirth BN, et al. Molecular characterization and antibiotic susceptibility of Staphylococcus aureus from a multidisciplinary hospital in Romania. Microb Drug Resist. 2010;16(4):263-72. [DOI:10.1089/mdr.2010.0059] [PMID]
26. Hammad AM, Watanabe W, Fujii T, Shimamoto T. Occurrence and characteristics of methicillin-resistant and -susceptible Staphylococcus aureus and methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from Japanese retail ready-to-eat raw fish. Int J Food Microbiol. 2012;156(3):286-9. [DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.022] [PMID]
27. Ghanbari F, Saberianpour S, Zarkesh-Esfahani F-s, Ghanbari N, Taraghian A, Khademi F. Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) typing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains isolated from community-and hospital-acquired infections. Avicenna J Clin Microbiol Infect. 2017;4(2):42244-. [DOI:10.5812/ajcmi.42244]
28. Zhang K, McClure J-A, Conly JM. Corrigendum to" Enhanced multiplex PCR assay for the typing of staphylococcal cassette chromosome mec types I to V in methicillin-resistant Staphylococcus aureus". Mol Cell Probes. 2019;45:68-. [DOI:10.1016/j.mcp.2019.03.004] [PMID]

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۱۵ شماره ۶ آذر و دی ۱۴۰۰

Journal homepage: www.ijmm.ir

بررسی مولکولی حضور ژن‌های *pvl*، *spa* و *mecA* و همبستگی آنها با طیفی از آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* جمع‌آوری‌شده از بیماران سوختگی

مهسا رضا شاطری[۱]، مهسا اهرابی[۲]، میترا صالحی*[۳]

۱. کارشناس ارشد ژنتیک، گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. دکترای تخصصی میکروبیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳. استادیار ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال،دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچهٔ مقاله

دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۰۹

پذیرش:۱۴۰۰/۰۶/۱۰

انتشار آنلاین: ۱۴۰۰/۰۹/۱۷

موضوع: باکتری‌شناسی پزشکی

نویسندهٔ مسئول:

میترا صالحی

استادیار ژنتیک، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران

ایمیل:

mitra_salehi_microbiology@yahoo.com

چکیده

زمینه و اهداف: باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌های انسانی و یکی از عوامل شایع عفونت‌های بیمارستانی اکتسابی در جهان است. هدف از این مطالعه، بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) و ویژگی‌های مولکولی سویه‌های باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* است.

مواد و روش کار: این مطالعه توصیفی بر روی ۵۶ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا سازی شده از نمونه‌های بالینی در سال ۱۳۹۷، انجام پذیرفت. تعیین الگوی مقاومت سویه‌ها نسبت به آنتی بیوتیک با روش دیسک دیفیوژن انجام شد. همچنین زیر رده‌های mecA توسط واکنش Multiplex RCR تعیین گردید. ژن pvl و spa در این سویه‌ها با واکنش PCR تعیین گردیدند.

یافته‌ها: بیشترین مقاومت سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های اگزاسیلین، سفوکسیتیم و اریترومایسین و ونکومایسین (۱۲/۵٪) مشاهده شد. ۱۰۰درصد از سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین، حاوی ژن *mecA* بودند و بیش از ۵۰ درصد سویه‌های ایزوله شده مرتبط با عفونت‌های بیمارستانی بودند. علاوه براین، SCCmec type۳ و SCCmec type۱ به‌عنوان ساب تیپ‌های غالب در این تحقیق شناسایی شدند و ۱۰ (۱۷/۸٪) سویه از سویه‌های جداسازی‌شده غیر قابل تایپ بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان دادند که توزیع ژن spa در ۸۲ درصد از نمونه‌ها وجود داشت. از مجموع ۴۶ نمونه ۴۰ نمونه متعلق به نمونه‌های زخم بودند. همچنین، ژن *pvl* در ۱۲ درصد (۷ نمونه) نمونه‌ها مشاهده شد. ارتباط میان ژن *mecA* با مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های اگزاسیلین، سفوکسیتین، اریترومایسین در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین وجود دارد

کلید واژه‌ها: *استافیلوکوکوس اورئوس*، *pvl*، *spa*، *mecA*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

کپی‌رایت © مجله میکروب شناسی پزشکی ایران: دسترسی آزاد؛ کپی برداری، توزیع و نشر برای استفاده غیرتجاری با ذکر منبع آزاد است.

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم‌ترین عوامل شناخته شده‌ای است که باعث عفونت‌های جدی و مرگ‌آوری در جامعه انسانی به ویژه بیمارستان‌ها می‌شود (۱). امروزه باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* به‌عنوان عامل مهم بیماری زا در بیمارستان‌ها شناخته شده است (۲). این باکتری موجب ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌ها می‌شود و برای داشتن ژنوم با استعداد جهش بالا، در چند دهه اخیر، تغییرات ژنتیکی زیادی را متحمل شده و چون دارای ژنوم انعطاف پذیری است، سویه‌*های* بیماری زا و مقاوم به داروی آن گسترش یافته است. کلونیزاسیون *استافیلوکوکوس اورئوس* به ویژه انواع مقاوم به متی‌سیلین آن، راهی برای گسترش این باکتری در سطح جامعه و ایجاد بیماری در افراد است (۳-۵).

مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، یکی از بزرگترین چالش‌هایی است که سلامت انسان عصر مدرن را تهدید می‌کند.

در دهه‌های اخیر، مصرف آنتی‌بیوتیک، علاوه بر پزشکی در کشاورزی هم افزایش چشمگیری داشته و محیط زیست را هم تحت تاثیر قرار داده است (۶ و ۷). از مقاومت دارویی در برابر آنتی بیوتیک‌ها می‌توان به‌عنوان یک تهدید بزرگ جهانی نام برد که توسط مقاومت باکتریایی و به دنبال ایجاد ژن‌های مقاومت در پلاسمید باکتری‌ها ایجاد می‌گردد (۸و۹).

پس از کشف پنی‌سیلین، در ابتدا از این دارو برای درمان عفونت‌های استافیلوکوکی استفاده می‌شد اما روز به روز مقاومت سویه‌های باکتری نسبت به آن افزوده شد به‌طوری‌که در سال ۱۹۵۰، تنها۴۰ درصد سویه‌های بیمارستانی به پنی‌سیلین مقاوم شدند و این میزان درسال ۱۹۶۰ به ۸۰ درصد رسید (۱۰و۱۱). علت این پدیده تولید پلی‌سیلیناز توسط باکتری بود که پنی‌سیلین را تجزیه می‌کند؛ بنابراین از آنتی‌بیوتیک‌های جدیدتر یعنی پنی‌سیلین‌های مقاوم به پنی‌سیلیناز (مانند اگزاسیلین و متی‌سیلین) استفاده می‌شود. متأسفانه به مرور زمان باکتری به این آنتی‌بیوتیک‌ها نیز مقاوم شده است (۱۲و۱۳).

مقاومت به متی‌سیلین و سایر پنی‌سیلین‌های مقاوم به پنی‌سیلیناز به دلیل وجود اپرون mec است. این اپرون، بخشی از کاست کروموزومی استافیلوکوکی (SCCmec) است. ژن mecA، پروتئین متصل شونده به پنی‌سیلین با نام PBP2a را کد می‌کند که میل پیوندی پایینی برای آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام دارد (۷). پروتئین‌های PBP در ساخت و ساز دیواره سلولی باکتریایی نقش دارند (۱۲). از این رو، وجود چنین پروتئین جدیدی تحت تأثیر آنتی‌بیوتیک نخواهد بود و باکتری به راحتی به زندگی خود ادامه می‌دهد. به این سویه‌ها در اصطلاح استافیلوکوک‌های مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) می‌گویند. برای درمان، از آنتی‌بیوتیک دیگری به نام ونکومایسین و از آنتی‌بیوتیک جدیدی به نام لینزولید استفاده شده است (۱۴).

spa از جمله پروتئین‌های سطحی *استافیلوکوکوس اورئوس* است که علاوه بر این که فاکتور ویرولانس باکتری محسوب می‌شود، جهت تعیین هویت اختصاصی *استافیلوکوکوس اورئوس* نیز استفاده می‌گردد که تعداد و توالی منحصر به فرد تکراری آن در میان سویه ها متفاوت است. با تایپینگ مولکولی این پروتئین، می‌توان موجب جلوگیری از بروز اپیدمی‌ها و کاهش تعداد عفونت ها و همین طور کاهش هزینه ناشی از عفونت‌*های* بیمارستانی شد (۱۵).

وجود الگوهای مشابه ژن *spa* بیانگر منبع مشترک عفونت در بخش‌های بیمارستانی می باشد. تجزیه و تحلیل این الگوها می‌تواند به شکستن زنجیره انتقال عفونت در بیمارستان کمک کند (۱۶). تنوع موجود در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌تواند پاسخ به درمان را تحت شعاع قرار دهد. یعنی شناسایی سویه‌ها می‌تواند در نحوهٔ انتخاب آنتی‌بیوتیک موثر باشد لذا تایپینگ مولکولی استافیلوکوک‌ها برای تعیین خصوصیت و افتراق آنها حائز اهمیت است (۱۷).

به‌منظور بررسی جامعه آماری در این مطالعه، پس از استخراج ژنوم استافیلکوکوس اورئوس از بیماران سوختگی، ژنوم *spa* و *pvl* توسط واکنش PCR شناسایی و الگوی حساسیت و مقاومت به آنتی‌بیوتیک در این سویه‌ها با روش دیسک دیفیوژن تعیین، سپس احتمال ارتباط میان ژن بیماری‌زایی و مقاومت به آنتی‌بیوتیک بررسی شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و نگهداری باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*

در این مطالعه آزمایشگاهی تعداد ۵۶ نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس* مثبت از بیماران سوختگی از بیمارستان‌های شهید مطهری تهران، ۵ آذر گرگان و شهید زارع ساری درسال ۱۳۹۷جمع‌آوری گردید. این نمونه‌ها جهت کشت بر روی محیط های بلاد آگار و مانیتول سالت آگار انتقال داده شده و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور نگهداری شد. برای تعیین هویت گونه های باکتریایی از تست‌های بیوشیمیایی شامل رنگ‌آمیزی گرم، کواگولاز، کاتالاز، Danse و تخمیر مانیتول استفاده شد.

تست آنتی بیوگرام

آزمون آنتی بیوگرام از روش دیسک دیفیوژن و طبق دستورالعمل CLSI انجام شد. بدین این منظور تعدادی از کلونی باکتری را به وسیله آنس برداشته و در سرم فیزیولوژی استریل حل نموده تا برابر با کدورت استاندارد نیم مک‌فارلند گردد. سپس بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد و دیسک‌های آنتی‌بیوتیک با فاصله استاندارد روی محیط کشت قرار داده و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه گردید و بعد از ۲۴ ساعت نتایج قرائت شد.

برای انجام این مطالعه دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی ۳۰µg ونکومایسین، ۱۰µg جنتامایسین، ۵µg متی‌سیلین، µg

اگزاسیلیسن ۱، ۳۰µg سفوکسیتین و ۱۵µg اریترومایسین ، از شرکت پادتن طب تهیه گردید. جهت بررسی کنترل کیفی آزمایشات ازسویه استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC25923 به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

استخراج DNA و تست PCR

جهت استخراج DNA از کیت باکتری‌های گرم مثبت سیناژن (Cinna Pure DNA KIT-PR881614) استفاده گردید. تایپ SCCmec برای۵۶ سویه MRSA با استفاده از روش Multiplex PCR انجام شد. برای این منظور از آغازگرهای نشان داده شده در جدول ۱ استفاده شد. هر دور PCR در حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر انجام شد که متشکل از ۲ میکرولیتر پرایمر، ۱/۵ میکرولیتر از بافر (10X)PCR ،۷۵ میکرولیتر MgCl2 ، ۰/۶ میکرولیتر dNTPs و ۰/۳میکرومولار ازNF Water بود. برای هر۹ پرایمر، ۰/۲۵ میکرولیتر پلیمراز DNA Ex-Taq و ۷/۳ میکرولیتر آب مقطر استفاده شده است. جهت انجام PCR دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سلسیوس در ۱۵ دقیقه انجام شده و به دنبال آن ۱۰ چرخه دناتوراسیون و برای اتصال مجدد ۴۵ثانیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس انجام گرفت.

جدول۱. توالی‌های پرایمر استفاده شده برای تست Multiplex PCR جهت تایپینگ و تعیین ساب یونیت MSRA SCCmec

Primers	Oligonucleotide sequences (50–30)	Concentration (mM)	Amplicon size (bp)	Specifity
Type I-F **Type I-R**	5′-GCTTTAAAGAGTGTCGTTACAGG-3′ 3′-GTTCTCTCATAGTATGACGTCC-5′	0.2	613	sccmec I
Type II-F **Type II-R**	5′-CGTTGAAGATGATGAAGCG-3′ 3′-CGAAATCAATGGTTAATGGACC-5′	0.2	398	SCCmec
Type III-F **Type III-R**	5′-CCATATTGTGTACGATGCG-3′ 3′-CCTTAGTTGTCGTAACAGATCG-5	0.2	280	SCCmec
Type IVa-F **Type IVa-d**	5′-GCCTTATTCGAAGAAACCG-3′ 3′-CTACTCTTCTGAAAAGCGTCG-5′	0.2	776	SCCmec I
Type IVb-F **Type IVb-R**	5′-TCTGGAATTACTTCAGCTGC-3′ 3′- AAACAATATTGCTCTCCCTC-5′	0.2	493	SCCmec
Type IVc-F **Type IVc-R**	5′-ACAATATTTGTATTATCGGAGAGC-3′ 3′-TTGGTATGAGGTATTGCTGG-5′	0.2	200	sccmec
Type IVd-F **Type IVd-R**	5′-CTCAAAATACGGACCCCAATACA-3′ 3′-TGCTCCAGTAATTGCTAAAG-5′	0.2	881	SCCmec
Type V-F **Type V-R**	5′-GAACATTGTTACTTAAATGAGCG-3′ 3′-TGAAAGTTGTACCCTTGACACC-5′	0.2	335	SCCme
MecA147-F **MecA147-R**	5′-GTGAAGATATACCAAGTGATT-3′ 3′-ATGCGCTATAGATTGAAAGGAT-5′	0.2	147	mecA

یافته‌ها

جداسازی و تشخیص سویه‌ها از نمونه‌های بالینی

دراین مطالعه در مجموع ۵۶ نمونه خلط، خون، زخم، ادرار از بیماران سوختگی در شهر تهران وگرگان و ساری جمع‌آوری شد. فراوانی نمونه‌ها بر حسب نوع نمونه در جدول ۱ ذکر شده است. با استفاده از آزمون‌های میکروبی رنگ‌آمیزی گرم، محیط مانیتول سالت آگار، آنزیم کاتالاز و کوآگولاز تعداد ۵۶ نمونه آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند..

جدول ۲. فراوانی نمونه‌های بالینی بر حسب نوع نمونه

منشا نمونه‌برداری	خلط	خون	زخم	ادرار
تعداد (n= ۵۶)	۶	۴	۳۱	۱۵
درصد	۱۰	۷/۱	۵۵/۳	۲۶/۷

ارزیابی حساسیت میکروبی

نتایج آنتی بیوگرام نشان داد که ۳۷ سویه از ۵۶ سویه مورد بررسی نسبت به آنتی‌بیوتیک سفوکسیتین مقاوم بودند. در این

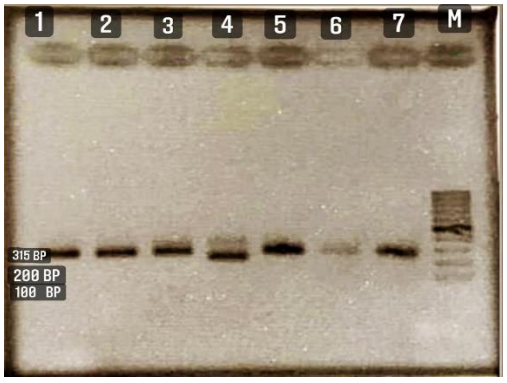
مطالعه ارزیابی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌*های استافیلوکوکوس ارئوس* نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های متی‌سیلین (۱۰۰ درصد) و سپس به سفوکسیتین (۶۰ درصد) وکمترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین (۱۵ درصد) وجود دارد. همچنین ۴۷٪ سویه ها به اگزاسیلین مقاوم بودند (جدول ۲).

جدول۲. نتایج ارزیابی حساسیت میکروبی

آنتی‌بیوتیک	سفوکسیتین	اریترومایسین	جنتامایسین	ونکومایسین	متی‌سیلین	اگزاسیلین
تعداد حساس(n)	۱۹	۲۷	۳۴	۴۹	۰	۲۴
تعداد مقاوم(n)	۳۷	۲۹	۲۲	۷	۵۶	۳۲

نتایج تکثیر ژن *spa*

شکل ۸ نتایج PCR را برای ژن spa در نمونه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه‌های بیماران نشان می‌دهد. (شکل ۱). نتایج نشان داد که توزیع ژن spa در ۸۲ درصد (۴۶ نمونه) نمونه ها وجود دارد. از مجموع ۴۶ نمونه ۴۰ نمونه متعلق به نمونه‌های زخم بودند.

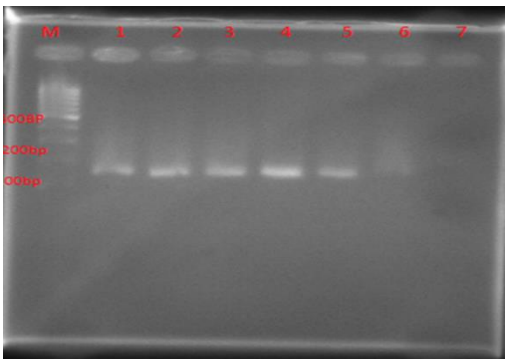


شکل ۱. نتایج الکتروفورز محصول PCRبرای ژن spaچاهک M مارکر ۱۰۰bp .چاهک ۱ سویه استاندارد ۲۵۹۲۳ATCC. چاهک ۲تا۷ سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* بالینی با طول قطعه315bp را نشان می‌هند.

نتایج تکثیر ژن *pvl*

به‌منظور بررسی وجود ژن پنتون ولنتین لوکوسیدین (*pvl*) در سویه‌*های استافیلوکوکوس ارئوس*، از پرایمرهای اختصاصی این ژن استفاده شد و نتایج با ارزیابی باند ۱۸۰bp جفت باز بررسی شد (شکل ۲). نتایج نشان دادند که ژن *pvl* در ۱۲ درصد (۷ نمونه) مشاهده می‌شود.

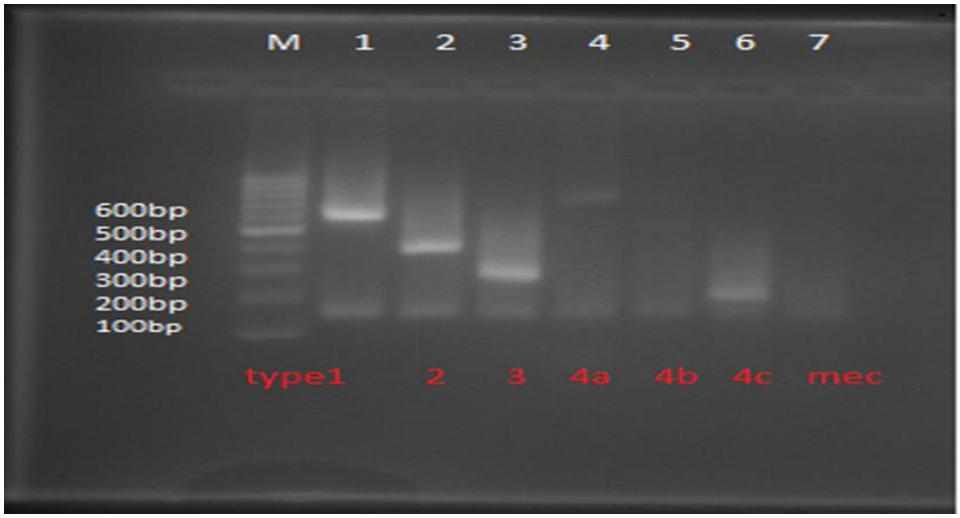
در این مطالعه ارتباط معناداری بین وجود ژن *pvl* و نوع نمونه و ژن بیماری‌زای *spa* حاصل نشد.



شکل ۲. نتایج الکتروفورز محصول PCR بروی ژل الکتروفورزبرای ژن pvl. در چاهک M از مارکر ۱۰۰bpاستفاده گردید. چاهک ۱ سویه استاندارد 29213ATCC. چاهک ۲ تا۶ سویه‌های *استافیلوکوکوس ارئوس* بالینی حاوی ژن *pvl* (طول قطعه 180 bp).

نتایج SCC mec typing

از بین۵۶ سویه آزمایش شده با روش PCR، ۱۰۰٪ از نظر ژن mecA مثبت بودند. که برای تعیین نوع SCCmec ایزوله‌های MRSA ، تایپSCCmec در ایزوله‌های *S. aureus* بررسی شدند. همانطور که یافته‌ها نشان دادند، ۱۶ (۲۸/۵٪) ، ۱۰ (۱۷/۸٪) ، ۵ (۸/۹٪) ، ۷ (۱۲/۵٪) و ۲ (۳/۵٪) ، ۳ (۵/۳٪) ، صفر (۰٪) ، ۳ (۵٪/۳) از جدایه‌های MRSA حاوی SCCmec نوع III، نوع I ، نوع II ، نوع IVa، نوع IVb ، نوع IVc، نوع IVd و نوع Vبودند. علاوه بر این، ۱۰ جدایه (۱۷/۸٪) قابل تایپ نبودند. همچنین مطالعه ما نشان داد که تعداد سویه‌های مرتبط با HA-MRSA نسبت به CA-MRSA در جدایه‌های تحت بررسی بیشتر بود.



شکل ۳. الکتروفورز آگارزMultiplex PCRچاهک ۱، نوع SCC mecI (613 bp)، چاهک ۲، SCC mec type II (398 bp)، چاهک ۳، SCC mec Type III (280 bp)، چاهک۴، SCCmec نوع Iva (776bp)، چاهک ۵، c نوع SCC me(493bp)IVb، چاهک ۶، نوع IVc SCCmec (200bp).

بحث

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای انسان است. این عامل اصلی عفونت‌ها در جامعه و بیمارستان‌ها طی دهه‌های گذشته است (۱۹و ۱۸). شناسایی سریع درمان عفونت‌های MRSA از مهم‌ترین اقدامات برای جلوگیری از شیوع عفونت و کاهش خطر مرگ و میر در بیماران است (۱۲). عفونت‌های MRSA به دو گروه HA-MRSA و CA-MRSA تقسیم می‌شوند. این طبقه‌بندی‌ها را می‌توان با منبع عناصر ژنتیکی متحرک، SCCmec شناخت (۲۱و۲۰).

مهم‌ترین عامل تعیین‌کنندهٔ منبع عفونت MRSA در جامعه SCCmec است. اگر HA-MRSASیاCA-MRSA شناسایی شود، ما قادر خواهیم بود عفونت‌های MRSA را مدیریت کنیم و بهترین پروتکل درمانی را انتخاب کنیم (۲۲). هر نوع SCCmec دارای عناصر ژنتیکی منحصر به فردی است و تعیین ژن mecA توسط تست PCR نسبت به تست دیسک اگزاسیلین حساسیت و دقت بالاتری دارد (۲۳). بنابراین، ژن *mecA* با روش PCR مشخص شد. طبق نتایج به‌دست‌آمده حضور ژن *mecA* در ۵۶ سویه مورد مطالعه ۱۰۰٪ بود، درحالی‌که مقاومت به اگزاسیلین بیشتر از ۵۰ درصد بود (۲۴) که این نتیجه با نتایج مطالعه اینسکو و همکاران قابل مقایسه است. تحقیق فوق نشان داد که از بین ۵۷ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* به روش فنوتیپی، ۲۲ سویه در برابر اگزاسیلین مقاوم بوده و ۲۸ سویه نیز حاوی ژن *mecA* هست (۲۵). در یک مطالعه دیگر توسط حمد و همکاران، تمام سویه‌هایMRSA جدا شده از نمونه‌های بالینی حاوی ژن mecA بودند (۲۶).

همانطور که قبلا ذکر شد، تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که ۱۲/۵ درصد نمونه‌ها به ونکومایسین حساس هستند. مقاومت به اگزاسیلین کمتر از ۶۰٪ و به جنتامایسین، آمیکاسین، سفالکسین، سفوکسیتین، کلیندامایسین و اریترومایسین بین ۳۰٪ و ۷۰٪ بود. با این حال، برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها مانند وانکومایسین هنوز آنتی‌بیوتیک مؤثری برای درمان محسوب می‌شوند.

در این مطالعه، بالاترین مقاومت در برابر اگزاسیلین، متی‌سیلین و اریترومایسین است. در این تحقیق پنج نوع SCCmec را شناسایی شده و از بین آنها، تیپ III شایع‌ترین تیپ در ایزوله‌های جدا شده در این مطالعه بود و مقاومت چند دارویی در سویه‌های نوع I و III نسبت به سایر انواع آن بیشتر بود. در یک مطالعهٔ مشابه در سال ۲۰۱۶ در شمال ایران نشان داده که فقط SCCmec نوع III داراس بیشترین مقاومت در در برابر دارو دارد (۱۳). در این مطالعه تیپ غالب بعدی SCCmec I (۱۷/۸٪) و تیپ IVa (۵/۱۲٪) بودند (۲۷).

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۹ توسط Vazquez روی نمونه‌های مختلف در اسپانیا انجام شد، بیشترین درصد ایزوله‌ها متعلق به SCCmec نوع IV بود، درحالی‌که در یک مطالعهٔ مشابه در سال ۲۰۱۹ توسط Zhang و همکاران روی نمونه‌های بالینی

انجام گرفت تیپ غالب SCCmec نوع III گزارش گردید (۲۹و۲۸).

همانطور که قبلاً نیز اشاره شد، بیشتر محققان علمی برای بررسی الگوهای تایپ SCCmec که در نمونه‌های مختلف انجام شده اند، به جز مطالعه Goss و Muhlebach در سال ۲۰۱۱، که در آن بیماران مبتلا به فیبروز کیستیک به‌عنوان جامعه مورد مطالعه انتخاب شدند که بیشترین SCCmec نوع I را داشتند (۳۰). طبق مطالعات دیگر، SCCmec انواع I، II، III به‌عنوان HA-MRSA شناخته می‌شوند در حالی که سویه‌های CA MRSA با انواع SCCmec IV و V همراه هستند (۲۹). شیوع HA-MRSA در این مطالعه ۵۷/۷ (۵۵ نفر) بود که بیشتر از CA-MRSA است. در این رابطه، رینارد و همکاران و نیز عبدی و همکاران (۱۷، ۱۸)، موارد مشابهی را گزارش کرده‌اند.

نتیجه‌گیری

هدف از پژوهش حاضر دستیابی به اپیدمیولوژی و تایپ SCCmec از MRSA در بیماران در سه بیمارستان مختلف در بیمارستان‌های شهرهای تهران، گرگان و ساری بود. از ۵۶ MRSA جدا شده مورد مطالعه در طول سال ۲۰۱۹ با استفاده از روش Multiplex PCR، SCCmec نوع III (۲۸/۵ ٪) و SCCmec نوع I (۱۷/۸٪) مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ایزوله‌های MRSA ممکن است از HA-MRSA یا انحراف کلونال MRSA سرچشمه گرفته باشند.

نتایج این مطالعه مقاومت بالایی در برابر متی‌سیلین در بین جدا شده‌*های استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد. بنابراین، به منظور انتخاب یک آنتی‌بیوتیک مناسب برای درمان عفونت‌*های استافیلوکوکوس اورئوس* و جلوگیری از مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها، پزشکان باید بر اساس میزان کارآیی و در دسترس بودن آن، آنتی‌بیوتیک‌های مناسب را تجویز کنند.

ژن *pvl* باعث خاصیت نفوذپذیری و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این باکتری می‌شود. ژن *spa* نیز باعث چسبندگی و افزایش مقاومت پذیری باکتری می‌شود و دارای پلی‌مورفیسم بالایی است که تعداد و توالی منحصر به فرد تکراری آن در میان سویه‌ها متفاوت است. با استفاده از تایپینگ مولکولی این پروتئین، می‌توان احتمال یک منبع عفونت مشترک که در چرخش یا انتقال از فرد به فرد در بیمارستان‌ها وجود دارد را بررسی کرد.

سپاسگزاری

وجود ندارد.

تعارض در منافع

بین نویسندگان تعارضی در منافع وجود ندارد.

منابع مالی

وجود ندارد.