

بررسی مقاومت دارویی و ژنوتیپ کاست کروموزومی mec استافیلوکوکی (SCCmec) در سویه‌های استاف اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۰/۴/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۰/۱۱

چکیده

عباس عبداللہی^{۱*}، سیدامین کوهپایه^۲، سہراب نجفی پور^۱، یاسر منصور^۱، سارا عبداللہی خیرآبادی^۱، سمیہ جعفری^۱

^۱گروه میکروبی‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فارس، ایران
^۲گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فارس، ایران
^۳گروه ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فارس، ایران
^۴گروه میکروبی‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی جہرم، فارس، ایران

زمینہ و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زا در جوامع است. اخیراً افزایش مقاومت دارویی آن بر معضلات درمانی افزوده است. مقاومت به متی‌سیلین در این میان اهمیت ویژه‌ای به دلیل محدود کردن درمان عہدہ دار است. بہ همین علت در این مطالعه بہ ارزیابی مقاومت دارویی و بررسی ژنوتیپی کاست کروموزومی mec استافیلوکوکی (SCCmec) در سویه‌های استاف اورئوس مقاوم بہ متی‌سیلین (MRSA) پرداختہ ایم. مواد و روش‌ها: در یک مطالعه مقطعی - توصیفی بہ جمع‌آوری یکسالہ سویہ‌ها پرداختیم. تست‌های رایج شناسایی، حساسیت دارویی، تعیین MIC و بررسی ملکولی ژنوتایپ‌های SCCmec جهت ارزیابی و بررسی میزان شیوع مقاومت و تایپ‌بندی سویہ‌ها انجام گرفت.

یافته‌ها: از میان ۱۶۴ نمونه استاف، ۷۸ مورد مقاوم بہ متی‌سیلین بودند. هیچ مورد مقاومتی بہ ونکومایسین شناسایی نشد، درحالی‌کہ مقاومت بہ تمامی سایر آنتی‌بیوتیک‌ها وجود داشت. بیش‌ترین ژنوتایپ میان سویہ‌ها از تایپ II و کم‌ترین نیز از تایپ IV شناسایی گردید.

نتیجہ‌گیری: نتایج مطالعه حاضر در مقایسہ با نتایج سایر مطالعات نشانگر افزایش میزان مقاومت دارویی در سویہ‌های استاف است، کہ تا حدودی دلیل آن مصرف بی‌رویہ آنتی‌بیوتیک‌ها است کہ در صورت عدم مراعات تجویز دارو ممکن است منجر بہ ایجاد بن بست درمانی، در درمان گردد.

کلمات کلیدی: استاف اورئوس، ژنوتیپی کاست کروموزومی، استافیلوکوک، PBPs

* نویسنده مسئول: گروه میکروبی‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فارس، ایران
۰۷۳۱-۲۲۲۷۰۹۳
E-mail: a_abdollahi1360@yahoo.com

مقدمه

مکانیسم اصلی مقاومت بہ متی‌سیلین در استافیلوکوکوس اورئوس تولید پروتئین جدیدی بہ نام PBP2 است کہ میل ترکیبی کم با بتالاکتام‌ها دارد و سبب مقاومت بہ بتالاکتام‌ها می‌گردد. تولید این پروتئین جدید با ژن‌های mec موجود در کروموزوم باکتری مرتبط است و بروز سویہ‌های مقاوم بہ متی‌سیلین MRSA استافیلوکوکوس اورئوس از معضلات درمانی در بیماران است.^{۱-۷} ژن mecA بر روی یک المنت ژنتیکی سیار قرار دارد کہ بہ آن کاست کروموزومی mec استافیلوکوکی (SCCmec) می‌گویند. بر اساس خصوصیات این منطقه ژنی پنج تیپ اصلی از SCCmec (تیپ‌های I-V) وجود دارد؛ تیپ‌های I و IV و V عمدتاً سبب مقاومت بہ متی‌سیلین و سایر بتالاکتام‌ها می‌شوند، در حالی‌کہ تیپ‌های II و III غالباً باعث ایجاد مقاومت‌های چندگانه نسبت بہ آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی و

استافیلوکوکوس اورئوس یک پاتوژن چند ظرفیتی و یکی از عوامل عفونت‌های بیمارستانی و اکتسابی از جامعه است کہ از عفونت‌های نسبتاً خفیف پوست و بافت نرم تا عفونت‌های سیستمیک تهدیدکننده انسانی را ایجاد می‌کند.^{۱،۲} استافیلوکوکوس اورئوس از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی است. شیوع بالای استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم بہ متی‌سیلین (MRSA) در نمونه‌های بالینی و وجود استافیلوکوک‌های مقاوم بہ آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در سطح جامعه در افرادی کہ از سلامتی کامل برخوردارند، باعث اهمیت روز افزون این باکتری در سال‌های اخیر شده است.^{۳،۴}

ونکومایسین (AB BioDisk- Biomeriux) نیز میزان MIC این دو آنتی‌بیوتیک در سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین تعیین گردید. سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923 نیز جهت تأیید نتایج مورد بررسی قرار گرفت. سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین جهت بررسی‌های بعدی نگهداری شدند.^{۱۲-۱۴}

ارزیابی ژنوتیپی سویه‌ها

پس از استخراج محتوای DNA سویه‌های باکتریایی توسط کیت استخراج DNA (سیناژن، ایران)، با توجه به هدف تحقیق، به ارزیابی ژنوتیپی ژن *mecA* و *SCCmec* با استفاده از پرایمرهای ذیل (سیناژن، ایران) و شرایط خاص واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) پرداختیم.^{۱۵،۱۶}

جفت پرایمر مورد استفاده جهت تأیید *mecA* شامل این موارد

بود:

MRS-1: 5'- GAA ATG ACT GAA CGT CCG AT 3'
MRS-2: 5'- GCG ATC AAT GTT ACC GTA GT 3'

جفت پرایمرهای مورد استفاده جهت تأیید تایپ‌های *SCCmec*

نیز شامل این موارد بودند:

3' F- type I 5'- TTT GGC ACG TAA TAC TTC CGA TT
R- type I 5'- AAA ATT CAA CAT TTT GGC GAT GA 3'
F- type II 5'- AAC GAC ACG TGC CCA AGA AG 3'
CAT CAG TTC ATG TTT ACT ATT AGG TAT TTT GTC
3' R- type II 5'-
ACA ATC CAC AGT CAT TAC AT 3' F- type III 5'-
AGT TAC GAC TTT CTG TTT CA 3' R- type III 5'-
TCT GGA ATT ACT TCA GCT GC 3' F- type IV 5'-
CTA CTC TTC TGA AAA GCG TCG 3' R- type IV 5'-
GAA CAG ACC TGA GCT CCA ACG T 3' F- type V 5'-
TCG GTT TGT TTT GTA GAT CAT AAC ACA 3' R- type
V 5'-

چرخه‌های دمایی و زمانی نیز مطابق جدول ۱ انجام پذیرفت. در نهایت محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز شده و پس از رنگ‌آمیزی با اتدیوم بروماید طول قطعات و میزان تشکیل یا عدم تشکیل باندهای الکتروفورزی در مقایسه با نشانگرهای مارکر وزن مولکولی (Fermentas، آمریکا) مورد ارزیابی قرار گرفتند. به دلیل عدم دسترسی به سویه‌های استاندارد واجد ژن‌های مذکور نتایج PCR جهت تأیید مورد تعیین سکانس ژنی قرار گرفتند (سیناژن، ایران) که نتایج با BLAST کردن در پایگاه بانک ژنی مورد تأیید قرار گرفته و به‌عنوان سویه‌های مثبت تلقی شدند.^{۱۵،۱۶}

غیربتالاکتامی می‌گردند. اغلب سویه‌های MRSA، سویه‌های اکتسابی از بیمارستان (HA-MRSA) هستند ولی بعضی از آن‌ها نیز سویه‌های اکتسابی از جامعه (CA-MRSA) می‌باشند؛ سویه‌های CA-MRSA به لحاظ فنوتیپی و ژنوتیپی از HA-MRSA متفاوتند (CA-MRSA واجد ژنوتیپ‌های IV و V هستند).^{۸-۱۱}

بنابر اهمیت موضوع مقاومت‌های دارویی در سویه‌های باکتریایی مولد عفونت‌های بالینی هدف از این تحقیق ارزیابی مقاومت دارویی و تایپینگ ژن *mecA* و کاست کروموزومی *mec* استافیلوکوکی (SCCmec) در سویه‌های استاف اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) بوده است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و نگهداری نمونه‌ها

در این بررسی مقطعی - تحلیلی که به مدت یکسال از اردیبهشت سال ۱۳۸۸ تا اردیبهشت سال ۱۳۸۹ در بیمارستان‌ها و درمانگاه‌های شهرستان فسا انجام شد، نمونه‌های عفونی از مکان‌هایی مانند زخم، آسپیره تراشه، خون، سواب بینی، مایع مغزی- نخاعی، آبسه‌های پریتون، گوش، چشم و مایع مفصلی جداسازی و مورد ارزیابی قرار گرفتند. شناسایی سویه‌های استاف توسط تست‌های رایج رنگ‌آمیزی گرم، بررسی کاتالاز، اکسیداز و کواگولاز، مصرف مانیتول، رشد در محیط حاوی نمک و DNase انجام شد. نمونه‌های مورد تأیید در محیط حاوی آبگوشت مغذی حاوی ۱۵٪ گلیسرول، اسکیم میلک و پرل‌های شیشه‌ای در دمای زیر ۷۰ درجه سانتیگراد تا انجام آزمایشات بعدی نگهداری شدند.^{۱۲}

تست حساسیت دارویی

از روش انتشار از دیسک Kirby-Bauer جهت بررسی مقاومت دارویی اولیه استفاده شد؛ دیسک‌های مورد استفاده (MAST، انگلیس) شامل دیسک‌های با غلظت استاندارد ونکومایسین (30μg)، سیپروفلوکساسین (5μg)، تری متوپریم (2.5μg)، تتراسایکلین (10μg)، جنتامایسین (10μg)، اریترومایسین (15μg)، متی‌سیلین (5μg)، کانامایسین (30μg) و کلرامفنیکل (30μg) بودند. با استفاده از نوارهای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد E-test متی‌سیلین و

جدول ۱. چرخه‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

تعداد سیکل	زمان و دمای پلیمریزاسیون نهایی دقیقه/ درجه سانتی‌گراد	زمان و دمای پلیمریزاسیون ثانیه/ درجه سانتی‌گراد	زمان و دمای اتصال ثانیه/ درجه سانتی‌گراد	زمان و دمای دناتوراسیون ثانیه/ درجه سانتی‌گراد	زمان و دمای دناتوراسیون اولیه دقیقه/ درجه سانتی‌گراد	ژن مورد بررسی
۳۰	۷۰-۱۰	۷۰-۵۰	۶۰-۴۵	۹۳-۵۰	۹۴-۶	SCC type I
۳۰	۷۱-۱۰	۷۱-۵۰	۶۲-۴۵	۹۴-۴۵	۹۵-۷	SCC type II
۳۰	۷۲-۱۰	۷۲-۵۰	۶۱-۴۵	۹۴-۵۰	۹۵-۶	SCC type III
۳۰	۷۰-۱۰	۷۰-۴۵	۶۳-۵۰	۹۵-۵۰	۹۶-۷	SCC type IV
۳۰	۷۱-۱۰	۷۱-۵۰	۶۲-۴۵	۹۴-۵۰	۹۵-۷	SCC type V
۳۵	۷۱-۸	۷۱-۴۵	۶۲-۵۰	۹۵-۵۵	۹۶-۶	mecA

جدول ۲. مشخصات کلی نمونه‌ها با میزان فراوانی و تایپ SCCmec هر کدام از آنها

تعداد نمونه	محل جداسازی نمونه	نوع بیمار (بستری/ سرپایی) و تایپ SCCmec, I, II, III, (HA-MRSA) و IV, V (CA-MRSA)
۳۹	زخم	بستری/ ۳۱ مورد (۲ مورد تایپ ۱، ۱۹ مورد تایپ ۲، ۱۲ مورد تایپ ۳) سرپایی/ ۸ مورد (۳ مورد تایپ ۴، ۳ مورد تایپ ۵)
۱۷	خون	بستری/ ۱۷ مورد (۲ مورد تایپ ۱، ۱۰ مورد تایپ ۲، ۵ مورد تایپ ۳) سرپایی/ -
۷	آسپیره تراشه	بستری/ ۷ مورد (۱ مورد تایپ ۲، ۶ مورد تایپ ۳) سرپایی/ -
۵	سواب بینی	بستری/ ۵ مورد (۴ مورد تایپ ۳، ۱ مورد تایپ ۵) سرپایی/ -
۴	مایع مغزی- نخاعی	بستری/ ۴ مورد (۲ مورد تایپ ۱، ۲ مورد تایپ ۲) سرپایی/ -
۳	آبسه پری‌توان	بستری/ ۲ مورد (۲ مورد تایپ ۲) سرپایی/ ۱ مورد (۱ مورد تایپ ۵)
۱	گوش	بستری/ ۱ مورد (۱ مورد تایپ ۳) سرپایی/ -
۱	چشم	بستری/ ۱ مورد (۱ مورد تایپ ۳) سرپایی/ -
۱	مایع مفصلی	بستری/ - سرپایی/ ۱ مورد (۱ مورد تایپ ۵)
تعداد کل ۷۸ مورد		بستری/ ۶۸ مورد، سرپایی/ ۱۰ مورد
		تعداد کل تایپ‌ها (تایپ ۱، ۶ مورد/ تایپ ۲، ۳۴ مورد/ تایپ ۳، ۲۹ مورد/ تایپ ۴، ۳ مورد/ تایپ ۵، ۶ مورد)

جدول ۳. میزان مقاومت و وابستگی به تایپ‌های مولکولی مقاومت

تعداد سویه‌ها	SCC type	الگوی مقاومتی
۴	I, IV, V	کانامایسین
۲	I, IV, V	کانامایسین، تتراسایکلین، سیپروفلوکسازین
۳	II, III	کانامایسین، تتراسایکلین، سیپروفلوکسازین، اریترومایسین، تری‌متوپریم
۷	I, IV, V	اریترومایسین، تتراسایکلین، سیپروفلوکسازین، تری‌متوپریم
۴	II, III	اریترومایسین، تتراسایکلین، سیپروفلوکسازین، تری‌متوپریم، کلرامفنیکل
۲	I, IV, V	جتتامایسین، کانامایسین، تری‌متوپریم
۴۵	II, III	جتتامایسین، کانامایسین، تری‌متوپریم، تتراسایکلین، سیپروفلوکسازین، اریترومایسین
۱۱	II, III	جتتامایسین، کانامایسین، تری‌متوپریم، تتراسایکلین، سیپروفلوکسازین، اریترومایسین، کلرامفنیکل

یافته‌ها

از تعداد کل نمونه‌های جمع‌آوری شده، ۱۶۴ مورد استافیلوکوکوس اورئوس بودند؛ که از این تعداد ۷۸ سویه (۴۷/۵۶٪) MRSA از نمونه‌های حاصل شناسایی گردید که به ترتیب فراوانی بدین ترتیب بودند: نمونه زخم ۳۹ مورد، خون ۱۷ مورد، آسپیره تراشه ۷ مورد، سواب بینی ۵ مورد، مایع مغزی- نخاعی ۴ مورد، آبسه‌های پری‌توان ۳ مورد، گوش، چشم و مایع مفصلی هر کدام یک مورد (جدول ۲).

نتایج حاصل از تست حساسیت دارویی نیز در جدول ۳ بیان گردیده است. همانطور که مشخص است نمونه مقاوم به ونکومایسین وجود ندارد و میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده نیز به این ترتیب است: متی‌سیلین ۱۰۰٪، تتراسایکلین، سیپروفلوکسازین و تری‌متوپریم ۹۲/۳٪، اریترومایسین ۸۹/۷٪، کانامایسین ۸۵/۹٪، جتتامایسین ۷۴/۴٪ و کلرامفنیکل ۱۹/۲٪. از میان این موارد مقاوم ۱۵ مورد مربوط به تایپ‌های I، IV و V که عمدتاً در CA-MRSA قابل ردگیری و عامل مقاومت به متی‌سیلین و برخی دیگر از بتالاکتام‌ها هستند و ۶۳ مورد مربوط به تایپ‌های II و III بودند که غالباً عامل عفونت‌های HA-MRSA و مقاومت چندگانه به بتالاکتام‌ها و سایر آنتی‌بیوتیک‌ها هستند. در کل، ۶ مورد از ایزوله‌ها واجد تایپ ۱، ۳۴ مورد واجد تایپ ۲، ۲۹ مورد واجد تایپ ۳، ۳ مورد واجد تایپ ۴ و ۶ مورد نیز واجد تایپ ۵ از تایپ‌های SCCmec بودند (جدول ۲).

بحث

طبق بررسی حاضر میزان شیوع استاف‌اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در جامعه مورد بررسی معادل با ۴۷/۵۶٪ کل استاف‌های جداسازی شده بوده است؛ این میزان با توجه به مطالعاتی که در اکثر نقاط کشور و سایر نقاط دنیا صورت گرفته است، نشانگر میزان افزایش شیوع این سویه‌های مقاوم است. همان‌طور که نیز اشاره شد، تایپ‌های مختلف SCCmec وابستگی‌های به محل جداسازی سویه‌ها (اکتسابی از جامعه یا بیمارستان) و تفاوت‌هایی در نوع و میزان شدت مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف دارد؛ از میان ۷۸ سویه جداسازی شده، بیش‌ترین میزان تایپ‌های مختلف به ترتیب مربوط به تایپ‌های II (۳۴ مورد)، III (۲۹ مورد)، I (۶ مورد)، V (۶ مورد) و IV (۳ مورد) بود که با توجه به محل جداسازی شده از بیمارستان و جامعه و همچنین با توجه به نوع و میزان شدت مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف، مشابه با سایر گزارشاتی که شده است، دارا بوده است. نکته حایز اهمیت، جداسازی چندین سویه با مقاومت‌های مختلف بود که به‌عنوان زنگ خطری در درمان عفونت‌های استافی بشمار می‌آید؛ بدین معنا که تنها به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین حساس بودند. همان‌طور که اشاره شد بیش‌ترین تایپ‌های شناسایی شده در این تحقیق مربوط به تایپ‌های ۲ و ۳ بوده است، که این تایپ‌ها عمدتاً ایجاد سویه‌هایی می‌کنند که عامل بروز مقاومت‌های چندگانه دارویی هستند، که باعث دو چندان شدن مشکلات درمانی به‌خصوص در بخش‌های بیمارستانی می‌شوند.

شیوع MRSAها ۴۲٪ و در بررسی سال ۱۳۸۶ در شهر تهران میزان سویه‌های MRSA ۴۷/۶٪ مشخص گردید. این نتایج به این نکته اشاره دارند که شیوع سویه‌های MRSA با گذشت زمان در کشور ما نیز رو به افزایش است.^{۱۹-۲۴}

بررسی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی کمک می‌کند تا بتوانیم از پخش سویه‌های مقاوم و یا انتقال مقاومت به سویه‌های حساس جلوگیری نماییم. آگاهی از فراوانی سویه‌های MRSA در نمونه‌های بالینی بیماران، نمونه‌های پرسنل پزشکی بیمارستان و افراد سالم حامل سویه‌های MRSA این امکان را فراهم می‌سازد تا رژیم درمانی مناسب برای درمان بیماران انجام گیرد و عفونت‌های بیمارستانی کنترل گردد. درمان افراد حامل باکتری در بین پرسنل پزشکی و ایزوله نمودن بیماران آلوده به سویه‌های MRSA می‌تواند از عفونت‌های بیمارستانی جلوگیری کند. بنابر این نتایج تحقیق حاضر می‌تواند مورد استفاده پزشکان برای انتخاب تدابیر مناسب در جهت درمان، جلوگیری و کنترل عفونت‌های بیمارستانی با سویه‌های MRSA قرار بگیرد. همچنین این نتایج می‌تواند دانش پایه در زمینه میکرب شناسی و اپیدمیولوژی بیماری‌های عفونی در منطقه و شهرستان فسا را ارتقا ببخشد.

سپاسگزاری

نتایج مطالعه حاضر مشتق از طرح تحقیقاتی مصوب معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی فسا به شماره ۸۸-۲۳ است. نویسندگان مقاله کمال تشکر را از دانشجویان علوم آزمایشگاهی ۱۳۸۷ و تمامی کارکنان و پرسنل حوزه بهداشتی-درمانی دانشگاه که در انجام این پروژه همکاری کرده‌اند، دارند.

اولین بار شیوع عفونت‌های ناشی از MRSA در سال ۱۹۶۱ در اروپا گزارش شد و از سال ۱۹۸۰ به بعد نیز در سرتاسر جهان گزارش شده است به طوری که امروزه ۲۵٪ عفونت‌های بیمارستانی که توسط استافیلوکوکوس اورئوس در آمریکا ایجاد می‌شود مربوط به MRSA است. در تحقیق جامعی که در انگلستان بین سال‌های ۱۹۹۱ تا ۲۰۰۱ صورت گرفته نشان می‌دهد که عفونت‌های ناشی از MRSA و شیوع آن در این سال‌ها تقریباً سال به سال در حال افزایش است به طوری که در سال‌های ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۱ میزان شیوع MRSA در بین عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس از حدود ۳۰٪ به حدود ۴۵٪ افزایش یافته بود. در تحقیقی که در آمریکا انجام شد مشخص گردید که میزان سویه‌های MRSA از ۲/۹٪ در سال ۱۹۷۵ به ۲۹٪ در سال ۱۹۹۱ رسیده است. همچنین مشخص گردید که میزان شیوع MRSA های جدا شده از خون از ۱۸/۱٪ در سال ۱۹۹۶ به ۲۶/۱٪ در سال ۱۹۹۹ رسیده است. در مطالعه‌ای که در هلند انجام گرفت مشخص شد که ۴۲٪ از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس MRSA بوده‌اند و در مطالعه دیگری در آمریکا که در سال‌های ۲۰۰۴ تا ۲۰۰۵ انجام شد شیوع سویه‌های MRSA در مناطق مختلف بین ۱۰ تا ۴۹٪ گزارش گردید.^{۱۸-۱۴}

در مطالعاتی نیز که در کشورمان انجام شده است، نیز میزان مقاومت در نقاط مختلف از جمله تهران، همدان، شیراز، بابل و سایر نقاط، تفاوت‌هایی داشته است که به آنها اشاره‌ای می‌شود: در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۸۰ در شهر تهران انجام شد شیوع MRSA ۳۳/۴٪ گزارش گردید. در مطالعه دیگری که در سال ۱۳۸۳ در شهر تهران انجام شد MRSAها ۳۹٪ گزارش شدند، در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۸۴ در همدان انجام شد مشخص گردید که شیوع MRSAها ۵۰٪ می‌باشد. در مطالعه دیگری که در سال ۱۳۸۵ بابل انجام گرفت

References

1. J. Foster T. The Staphylococcus aureus "super bug". J Clinical Investigate 2004; 114(12):1693-96.
2. Chang FY. Staphylococcal bacteremia and endocarditis. J Microbial Immunol Infect 2000; 33:63-68.
3. Lodise TP. Burden of methicillin-resistant Staphylococcus aureus: focus on clinical and economic outcomes. Pharmacotherapy 2007; 27:1001-12.
4. K.Shukla S. Community-associated Methicillin Resistant Staphylococcus aureus and its emerging virulence. Clin Med Research 2005; 3(2):57-60.
5. Klevens RM, A.Morisson M, Nadle J, et al. Invasive Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Infections in the United States. JAMA 2007; 298(15): 234-40.
6. Tosun I, Udo EE, Noronha B, et al. Emergence of rifampicin resistance in methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated at a Turkish university hospital. Microb Drug Resist 2005; 11(1):48-52.

7. Zanelli G, Pollini S, Sansoni A, et al. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* isolates from an intensive care unit. *New Microbiol* 2004 Jul; 27(3):293-99.
8. Berglund C, Molling P, Joberg L. Predominance of Staphylococcal cassette chromosome (SCCmec) type IV among methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) in a Swedish country and presence of unknown SCCmec types with Panton-Valentine Leukocidin genes. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11:447-456.
9. Shukla SK, Ramaswamy SV, Conradt J, et al. Novel polymorphisms in mec genes and a new mec complex type in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates obtained in rural Wisconsin. *Antimicrob Agents Chemother* 2004 Aug; 48(8):3080-85.
10. Moise-Broder PA, Sakoulas G, Eliopoulos GM, et al. Accessory gene regulator group II polymorphism in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is predictive of failure of vancomycin therapy. *Clin Infect Dis* 2004 Jun15; 38(12):1700-5. Epub 2004 May 21.
11. Hiramatsu K, Watanabe S, Takeuchi F, et al. Genetic Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Vaccine* 2004; 22S,S5-S8.
12. Brown DFJ, Edwards DI, Hawkey PM, et al. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA). *J Antimicrob chemther* 2005; 56:1000-1018.
13. Blandino G, Marchese A, Ardito F, et al. Antimicrobial susceptibility profiles of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* isolated in Italy from patients with hospital-acquired infections. *Int J Antimicrob Agents* 2004 Nov; 24(5):515-18.
14. NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard 2000 7th ed. NCCLS document M2-A7. NCCLS, Wayne, Pa.
15. Vivoni AM. Application of molecular techniques in the study of staphylococcus aureus clonal evolution- a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005; 100(7):693-8.
16. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, et al. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–1999. *Clin Infect Dis* 2001; 32(Suppl 2):S114–32.
17. Naimi TS, LeDell KH, Boxrud DJ, et al. Epidemiology and clonality of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Minnesota, 1996–1998. *Clin Infect Dis* 2001; 33:990–6.
18. Dufour P, Gillet Y, Bes M, et al. Community- acquired methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. *Clin Infect Dis* 2002;35:819–24.
19. Zamani A, Sadeghian S, Qaderkhani J. Evaluation of mec-A *S. aureus* by PCR and resistance rate. *JHUMS* 2008; (in Persian).
20. Shokoohi Sh, Aminzadeh Z, Sharafi K, et al. Prevalence of methicillin resistant in HA-MRSA in Tehran. *Iran J Microbiol* 2009; 2(1): 87.
21. Zohorinia M, Soleymani E, Nobari H, et al. Frequency of nasal and hand carriage of staphylococcus aureus among the medical and non medical staffs in Iranian air force Be'saat Medical center. *JAUMS* 2006; 4(3):901-907.
22. Davoud Zadeh M. Frequency of methicillin resistant staphylococcus aureus infection in staff of Shohadyee Ashayer hospital. *Yaft-e FALL* 2001; 3(10): 27-32.
23. Khoddami E, Jamshidi AA. Oxacilin resistant staphylococcus aureus isolated from patients and personel in Babol hospital. *JBUMS* 2001; 3[4(12)]:43-46.