

تعیین نوع کاست کروموزومی ژن mec در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین جمع‌آوری شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان‌ها در منطقه سیستان

اکرم وفادارنژاد^۱، احمد راشکی^{۲*}، محسن نجیمی^۲

تاریخ چاپ: ۹۶/۷/۱۵

تاریخ پذیرش: ۹۶/۵/۲۸

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۹

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: امروزه ظهور سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin-resistant Staphylococcus aureus) یا MRSA، به عنوان یکی از عوامل بیماری‌زای مهم دخیل در عفونت‌های بیمارستانی مورد توجه قرار گرفته است. تیپ‌بندی مولکولی باکتری‌ها، بخش مهمی از مطالعات اپیدمیولوژیک عفونت‌های بیمارستانی به شمار می‌رود. مطالعه حاضر با هدف تیپ‌بندی و افتراق MRSA با استفاده از روش تعیین کاست کروموزومی استافیلوکوکوس ژن mec (Staphylococcal Cassette Chromosome mec یا SCCmec) انجام شد.

شیوه مطالعه: این پژوهش بر روی ۷۲ ایزوله MRSA انجام گردید. بدین ترتیب، پس از بررسی‌های فنوتیپی و با استفاده از روش Multiplex polymerase chain reaction (Multiplex PCR)، انواع کاست SCCmec مورد شناسایی قرار گرفت.

یافته‌ها: تیپ‌بندی SCCmec نشان داد که از میان ۷۲ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس، ۵ درصد حاوی تیپ SCCmec I، ۴۵ درصد حاوی تیپ SCCmec II، ۳۰ درصد حاوی تیپ SCCmec III و ۲۰ درصد حاوی تیپ SCCmec V بودند.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به دست آمده، ایزوله‌های MRSA حامل انواع II و III SCCmec که شاخص سویه‌های اکتسابی از بیمارستان می‌باشند، غالب بودند.

کلمات کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، عفونت‌های بیمارستانی، پروتئین mecA، استافیلوکوکوس اورئوس

ارجاع: وفادارنژاد اکرم، راشکی احمد، نجیمی محسن. تعیین نوع کاست کروموزومی ژن mec در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین جمع‌آوری شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان‌ها در منطقه سیستان. مجله مطالعات بالینی دانشکده پزشکی افضلی پور ۱۳۹۶؛ ۲(۴-۳): ۱۱۷-۱۲۳.

۱- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲- دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

نویسنده مسؤول: احمد راشکی

آدرس: زابل، دانشگاه زابل، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی تلفن: ۰۹۱۵۱۹۷۰۸۷۷

مقدمه

نشان داده است که شیوع سویه‌های MRSA در سراسر ایران رو به افزایش است (۹-۱۱). با توجه به اهمیت سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس در جامعه و بیمارستان‌ها، بررسی ارتباط ژنتیکی ایزوله‌های جدا شده از منطقه کمتر مورد توجه قرار گرفته است. بنابراین، مطالعه حاضر با توجه به اهمیت سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین در جامعه و بیمارستان، با هدف تعیین میزان ناهمگونی کلاستر کاست ژن mec در ایزوله‌های شهرستان زابل انجام گرفت.

شیوه مطالعه

جمع‌آوری و نگهداری نمونه‌ها: در این تحقیق مقطعی - توصیفی که به مدت شش ماه از فروردین تا شهریور سال ۱۳۹۳ در بیمارستان‌های آموزشی شهرستان زابل انجام شد، ۲۵۰ نمونه بالینی از مکان‌هایی مانند زخم، آسپیره تراشه، خون، سواب بینی و ادرار بیماران بستری شده در بیمارستان‌های آموزشی زابل جداسازی گردید و مورد ارزیابی قرار گرفت. شناسایی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از تست‌های رایج رنگ‌آمیزی گرم، بررسی کاتالاز، اکسیداز و کواگولاز، مصرف مانیتول، رشد در محیط حاوی نمک و آزمون Deoxyribonuclease (DNase) انجام شد. نمونه‌های مورد تأیید در محیط حاوی آبگوشت مغذی حاوی ۱۵ درصد گلیسرول و پرل‌های شیشه‌ای با دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد تا انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری گردید (۱۲). ۱۰۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس از نمونه‌های بالینی جدا شد.

مقاومت به متی‌سیلین با استفاده از دیسک اگزاسیلین ۱ میکروگرمی (شرکت پادتن طب، ایران) بر اساس استانداردهای Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) تعیین گردید (۱۴، ۱۳). از سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC۲۵۹۲۳ نیز جهت تأیید نتایج استفاده شد. MRSA جهت بررسی‌های بعدی در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin-resistant Staphylococcus aureus یا MRSA)، مدت طولانی است که به عنوان عامل مهم عفونت بیمارستانی در جهان شناخته شده است (۱). این باکتری توانایی زیادی در ایجاد تطابق با محیط‌های گوناگون دارد. عوامل ضد باکتریایی گوناگونی در درمان عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس به کار می‌روند، اما به دلیل توانایی زیاد این باکتری در خنثی‌سازی آن‌ها، این عوامل ضد میکروبی خیلی زود در برابر باکتری بی‌تأثیر می‌شوند. با این حال، مکانیزم مقاومت در برابر متی‌سیلین به خوبی در MRSA مورد مطالعه قرار گرفته است. یکی از علل مهم مقاومت به متی‌سیلین در استافیلوکوکوس اورئوس، بیان ژن mecA کد کننده Penicillin binding protein 2A (PBP2a) می‌باشد (۲).

گسترش سویه‌های MRSA به دلیل کاهش تمایل پروتئین PBP2a برای اتصال به پنی‌سیلین و سایر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام است (۳). تحقیقات صورت گرفته نشان داده است که ژن mecA کد کننده پروتئین PBP2a می‌باشد که در ناحیه متحرک ژنومیک به نام کاست کروموزوم استافیلوکوکوس ژن mec (Staphylococcal Cassette Chromosome mec یا SCCmec) قرار دارد و طی درمان با متی‌سیلین غیر فعال نمی‌گردد. در حال حاضر ۱۱ تیپ کاست از SCCmec از I تا XI شناسایی شده است که دارای اندازه‌های متفاوتی بین ۲۱ تا ۶۷ کیلو باز می‌باشد (۴). به طور کلی، انواع IV، V و VII به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس کسب شده از جامعه (Community-associated MRSA یا CA-MRSA) و انواع I، II، III، VI و VIII به نام استافیلوکوکوس اورئوس به دست آمده از بیمارستان (Hospital-associated MRSA یا HA-MRSA) نامگذاری شده‌اند (۵-۸). نتایج پژوهش‌های متعدد

جدول ۱: ژن‌های مورد ارزیابی، توالی پرایمر، اندازه محصولات PCR (Polymerase chain reaction) مطالعه حاضر و منبع مورد استفاده (۱۶)

نام پرایمر	توالی	اندازه محصول (جفت باز)	ویژگی
Type I-F Type I- R	5-GCTTAAAGAGTGTCTACAGG-3' 5-GTTCTCTCATAGTATGACGTCC-3'	۶۱۳	SCCmec I
Type II-F Type II- R	5-CGTTGAAGATGATGAAGCG-3' 5-CGAAATCAATGGTTAATGGACC-3'	۳۹۸	SCCmec II
Type III-F Type III- R	5-CCATATTGTGTACGATGCG-3' 5-CCTTAGTTGTCGTAACAGATCG-3'	۲۸۰	SCCmec III
Type IVa-F Type IVa-R	5-GCCTTATTGGAAGAAACCG-3' 5-CTACTCTTCTGAAAAGCGTGC-3'	۷۷۶	SCCmec IVa
Type IVb-F Type IVb- R	5-TCTGGAATTACTTCAGCTGC-3' 5-AAACAATATTGCTCTCCCTC-3'	۴۹۳	SCCmec IVb
Type IVc-F Type IVc- R	5-ACAATATTTGTATTATCGGAGAGC-3' 5-TTGGTATGAGGTATTGCTGG-3'	۲۰۰	SCCmec IVc
Type IVd-F5 Type IVd- R6	5-CTCAAAAATACGGACCCCAATACA-3' 5-TGCTCCAGTAATTGCTAAAAG-3'	۸۸۱	SCCmec IVd
Type V-F Type V- R	5-GAACATTGTTACTTAAATGAGCG-3' 5-TGAAAGTTGTACCCTTGACACC-3'	۳۲۵	SCCmec V

PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (شرکت Eppendorf، آلمان) انجام گردید. برای انجام فرایند PCR، آنزیم Master Mix RED ۲× (شرکت پیشگام، ایران) خریداری گردید. در این واکنش، ۲ میکرولیتر از DNA الگو، ۱۲/۵ میکرولیتر از آنزیم Master Mix RED ۲× و ۱ میکرولیتر از پرایمرهای Forward و Reverse (۲۰ پیکومول در میکرولیتر) با هم مخلوط شد و حجم نهایی آن با آب مقطر دو بار تقطیر به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. برنامه Multiplex PCR در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲: برنامه دمایی-زمانی واکنش Polymerase chain reaction (PCR) در حجم ۲۵ میکرولیتر

مراحل	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان (ثانیه)	سیکل
واشرستگی اولیه	۹۵	۳۶۰	۱
واشرستگی ثانویه	۹۴	۳۰	۳۵
اتصال پرایمرها	۵۸	۳۰	
طویل شدن زنجیره	۷۲	۳۰	
طویل شدن نهایی	۷۲	۴۲۰	

پس از انجام واکنش، ۵ میکرولیتر از محصولات واکنش به مدت ۴۰ دقیقه در ژل آگارز ۲ درصد تحت تأثیر ولتاژ ۷۵ الکتروفورز شد و قطعات تکثیر شده پس از رنگ‌آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید، با استفاده از دستگاه Gel documentation تصویربرداری گردید.

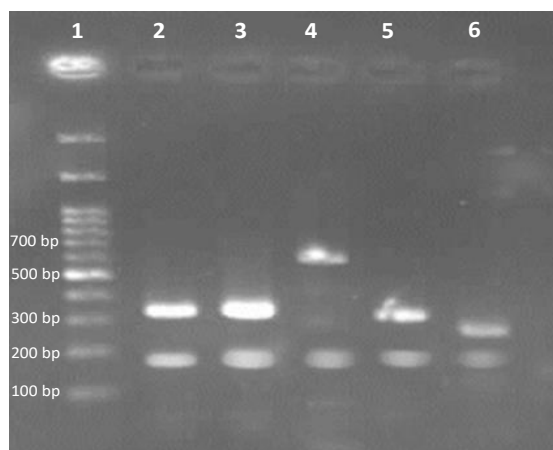
با توجه به این که قطعات محصول با اندازه ۲۸۰ و ۳۲۵ به هم نزدیک بود، قطعات محصول PCR به

ارزیابی ژنوتیپی ایزوله‌ها: استخراج DNA

ژنومی با استفاده از روش جوشاندن انجام گرفت (۱۵). بدین منظور، ابتدا ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس در لوله‌های حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط مایع Brain heart infusion (BHI) تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری گردید. سپس باکتری با کمک سانتریفوژ از محیط مایع جدا شد و به لوله‌های میکروتیوب انتقال یافت و طی دو مرحله با ۵۰۰ میکرولیتر محلول ۱ درصد Phosphate buffered saline (PBS) به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید و شستشو داده شد. سپس به رسوب به دست آمده ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۸ درجه سانتی‌گراد جوشانده شد. تیوب‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. محلول رویی حاوی DNA ژنومی جهت انجام واکنش Polymerase chain reaction (PCR) در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. ارزیابی میزان حضور کاست‌های ژن mecA در تمام ایزوله‌ها با استفاده از پرایمرهای جدول ۱ و واکنش PCR انجام گرفت.

آزمون Multiplex PCR جهت شناسایی وجود

تیپ‌های مختلف SCCmec از روش Multiplex PCR با ۸ جفت پرایمر استفاده شد. توالی پرایمرها و اندازه محصولات PCR در جدول ۱ ارایه شده است. واکنش



شکل ۱: نمای ژل الکتروفورس و نمایش ژن‌های I, II, III, V (SCCmec) Staphylococcal Cassette Chromosome mec روی آن

ردیف ۱: نردبان DNA، ردیف ۲ و ۳: SCCmec II با ۳۹۸ جفت باز، ردیف ۴: SCCmec I با ۶۱۳ جفت باز، ردیف ۵: SCCmec V با ۳۲۵ جفت باز و ردیف ۶: SCCmec III با ۲۸۰ جفت باز

نتایج نشان داد که از میان ۷۲ ایزوله MRSA، ۵ درصد حاوی تیپ SCCmec I، ۴۵ درصد حاوی تیپ SCCmec II، ۳۰ درصد حاوی تیپ SCCmec III و ۲۰ درصد حاوی تیپ SCCmec V بودند و تیپ SCCmec IV در هیچ کدام از ایزوله‌ها مشاهده نشد. بیشترین میزان فراوانی به تیپ SCCmec II اختصاص داشت. این یافته‌ها با نتایج پژوهش افروغ و همکاران (۱۸) مطابقت داشت. آن‌ها گزارش کردند که از ۷۸ ایزوله MRSA مورد بررسی، فراوان‌ترین تیپ جدا شده مربوط به SCCmec II بود (۱۸). همچنین، همسو با تحقیق حاضر، عبداللهی و همکاران به این نتیجه رسیدند که از ۷۸ سویه MRSA مورد مطالعه، ۳۴ ایزوله حاوی تیپ SCCmec II و ۲۹ ایزوله حاوی تیپ SCCmec III بودند (۱۹).

در مطالعه Zhang و همکاران مشخص گردید که ۵۲ و ۲۷ درصد از ایزوله‌های MRSA مورد بررسی، به ترتیب حاوی کاست II و III SCCmec بودند (۱۶) که این نتایج می‌تواند افزایش حرکت کلون‌های Healthcare-associated MRSA (HA-MRSA) در بین بیماران مبتلا به عفونت‌های باکتریایی در جوامع مختلف را نشان دهد. نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های

صورت جداگانه تعیین توالی شد که طول قطعه با توالی قطعه مورد نظر تطابق داشت.

یافته‌ها

آزمون غربالگری MRSA به روش دیسک دیفیوژن انجام گرفت. یافته‌های حاصل از این غربالگری نشان داد که از مجموع ۱۰۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس، ۷۲ ایزوله نسبت به متی‌سیلین مقاومت داشتند که تمام آن‌ها حامل ژن mecA بودند. از ۷۲ ایزوله MRSA مورد بررسی، تیپ SCCmec II با ۴۵ درصد بیشترین فراوانی و تیپ SCCmec I با ۵ درصد کمترین فراوانی را به خود اختصاص داد. تیپ‌های SCCmec III و SCCmec V به ترتیب فراوانی ۳۰ و ۲۰ درصد را نشان دادند. هیچ کدام از ایزوله‌ها حاوی تیپ SCCmec IV نبودند (جدول ۳). شکل ۱ نمای ژل الکتروفورس محصولات Multiplex PCR را نشان می‌دهد.

جدول ۳: تیپ‌های گوناگون Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) یافت شده در ۷۲ ایزوله (MRSA) Methicillin-resistant Staphylococcus aureus

جدا شده از نمونه‌های بالینی		
نوع کاست	تعداد (درصد)	اندازه (جفت باز)
SCCmec I	۴ (۵)	۶۱۵
SCCmec II	۳۲ (۴۵)	۲۸۰
SCCmec III	۲۲ (۳۰)	۳۹۸
SCCmec V	۱۴ (۲۰)	۳۲۵

بحث و نتیجه‌گیری

گونه‌های MRSA اولین بار در سال ۱۹۶۱ و پس از مصرف این آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت‌های حاصل از این باکتری شناسایی شد (۱۷).

مطالعه حاضر برای اولین بار بر روی MRSA جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های منطقه زابل انجام گرفت و در آن از روش Multiplex PCR جهت بررسی حضور تیپ‌های کاست SCCmec استفاده گردید (۱۶).

تحقیقات Buntaran و همکاران در جاکارتای اندونزی (۲۰) و Takata و همکاران در ژاپن (۲۱) نیز مطابقت داشت. آن‌ها عنوان کردند که تیپ SCCmec II به ترتیب در ۷۵ و ۹۴ درصد ایزوله‌های MRSA مورد بررسی در جاکارتای اندونزی (۲۰) و ژاپن (۲۱) مشاهده شد. از مجموع ۱۳۱۵ ایزوله MRSA در کشور ترکیه، تنها دو تیپ II و SCCmec IV به ترتیب با فراوانی ۳۴ و ۶۴ درصد وجود داشت (۲۲).

نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های پژوهش‌های Boye و همکاران در دانمارک (۲۳)، Valsesia و همکاران در هلند (۲۴)، Jimenez و همکاران در کلمبیا (۲۵)، Asghar در بیمارستان‌های شهر مکه (۲۶) و ابراهیم سرایی و همکاران در ایران (۲۷) همخوانی نداشت. نتایج تحقیقات مذکور نشان داد که در دانمارک تیپ SCCmec IV، در هلند تیپ SCCmec IV، در کلمبیا تیپ SCCmec IV، در بیمارستان‌های شهر مکه تیپ SCCmec III و در ایران تیپ SCCmec I به ترتیب ۸۴، ۷۴، ۶۰، ۴۷ و ۵۵ درصد ایزوله‌های MRSA را به خود اختصاص دادند (۲۳-۲۷). فراوانی تیپ‌های I، III و SCCmec IV در این مطالعات با بررسی حاضر متفاوت بود که شاید دلیل آن به محل جداسازی ایزوله‌ها (اکتسابی از جامعه یا بیمارستان) و تفاوت در

جمعیت باکتری جایگزین شده در افراد منطقه مورد مطالعه مربوط باشد. افزایش سالانه این ایزوله‌ها چالش جدی را برای پزشکان و مدیریت کنترل عفونت‌های بیمارستانی ایجاد می‌کند. علاوه بر این، در مناطقی با شاخص بهداشتی و مراقبتی پایین، درصد فزاینده تیپ‌های سویه‌های MRSA در سطح جامعه و به خصوص بیمارستان‌ها مشاهده می‌گردد. به منظور جلوگیری از آلودگی‌های متقاطع، نیاز به سیستم‌های نظارتی مؤثری برای کنترل عفونت‌های ناشی از تیپ‌های مختلف سویه‌های MRSA احساس می‌گردد. بر اساس نتایج به دست آمده از بررسی تیپ‌های SCCmec ایزوله‌های MRSA، تنها تیپ‌های II و III که شاخص سویه‌های HA-MRSA می‌باشند، غالب بودند. بنابراین، تیپ‌های II و III به عنوان نوع غالب در ایزوله‌های MRSA در منطقه معرفی گردید. با توجه به این که تیپ‌های مذکور منشأ بیمارستانی دارند، کنترل عفونت‌های بیمارستانی به منظور جلوگیری از انتشار آلودگی احساس می‌گردد.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر برگرفته از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد با شماره ۱۰۰۰۸۶ می‌باشد که توسط معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه زابل تأمین اعتبار گردید.

References

- Bhutia KO, Singh T, Adhikari L, Biswas S. Molecular characterization of community- and hospital-acquired methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* isolates in Sikkim. *Indian J Med Res* 2015; 142(3): 330-5.
- Rodriguez M, Hogan PG, Satola SW, Crispell E, Wylie T, Gao H, et al. Discriminatory indices of typing methods for epidemiologic analysis of contemporary *Staphylococcus aureus* strains. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94(37): e1534.
- Oteo J, Baquero F, Vindel A, Campos J. Antibiotic resistance in 3113 blood isolates of *Staphylococcus aureus* in 40 Spanish hospitals participating in the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (2000-2002). *J Antimicrob Chemother* 2004; 53(6): 1033-8.
- Ito T, Kuwahara-Arai K, Katayama Y, Uehara Y, Han X, Kondo Y, et al. Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) analysis of MRSA. *Methods Mol Biol* 2014; 1085: 131-48.
- Gill SR, Fouts DE, Archer GL, Mongodin EF, Deboy RT, Ravel J, et al. Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain and a biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strain. *J Bacteriol* 2005; 187(7): 2426-38.
- Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7(9): 629-41.
- Ma XX, Ito T, Tiensasitorn C, Jamklang M, Chongtrakool P, Boyle-Vavra S, et al. Novel

- type of staphylococcal cassette chromosome mec identified in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(4): 1147-52.
8. Baba T, Takeuchi F, Kuroda M, Yuzawa H, Aoki K, Oguchi A, et al. Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *Lancet* 2002; 359(9320): 1819-27.
 9. Ekrami A, Kalantar E. Bacterial infections in burn patients at a burn hospital in Iran. *Indian J Med Res* 2007; 126(6): 541-4.
 10. Japoni A, Alborzi A, Rasouli M, Pourabbas B. Modified DNA extraction for rapid PCR detection of methicillin-resistant staphylococci. *Iran Biomed J* 2004; 8(3): 161-5.
 11. Shahkarami F, Rashki A, Rashki GZ. Microbial susceptibility and plasmid profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-susceptible *S. aureus*. *Jundishapur J Microbiol* 2014; 7(7): e16984.
 12. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. *Textbook of diagnostic microbiology*. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2007.p. 369-72.
 13. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals: Second Informational Supplement VET01-S2*. Wayne, PA: CLSI; 2013.
 14. Pourmand MR, Abdossamadi Z, Salari MH, Hosseini M. Slime layer formation and the prevalence of *mecA* and *aap* genes in *Staphylococcus epidermidis* isolates. *J Infect Dev Ctries* 2011; 5(1): 34-40.
 15. Rashki A. Cervico-vaginopathogenic *Escherichia coli* in Iran: Serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. *Microb Pathog* 2014; 75: 29-34.
 16. Zhang K, McClure JA, Elsayed S, Louie T, Conly JM. Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome mec types I to V in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2005; 43(10): 5026-33.
 17. Park SD, Lee G, Wang HY, Park M, Kim S, Kim H, et al. Evaluation of PCR-reverse blot hybridization assay, REBA Sepsis-ID test, for simultaneous identification of bacterial pathogens and *mecA* and *van* genes from blood culture bottles. *Ann Lab Med* 2014; 34(6): 446-55.
 18. 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 Mazandaran Univ Med Sci* 2012; 22(94): 28-34.
 19. Abdollahi A, Koohpayeh SA, Najafipoor S, Mansoori Y, Abdollahi S, Jaafari S. Evaluation of drug resistance and Staphylococcal cassette chromosome (SCCmec) types among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA). *Alborz Univ Med J* 2012; 1(1): 47-52.
 20. Buntaran L, Hatta M, Sultan AR, Dwiyantri R, Sabir M. Sccmec type II gene is common among clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Jakarta, Indonesia. *BMC Res Notes* 2013; 6: 110.
 21. Takata T, Shirakawa T, Ito J, Okamoto A, Massi MN, Kinoshita S, et al. SCCmec typing and detection of VISA-related genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains from Kobe University Hospital, Japan. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2006; 37(6): 1149-55.
 22. Kilic A, Li H, Stratton CW, Tang YW. Antimicrobial susceptibility patterns and staphylococcal cassette chromosome mec types of, as well as Pantone-Valentine leukocidin occurrence among, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from children and adults in middle Tennessee. *J Clin Microbiol* 2006; 44(12): 4436-40.
 23. Boye K, Bartels MD, Andersen IS, Moller JA, Westh H. A new multiplex PCR for easy screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SCCmec types I-V. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13(7): 725-7.
 24. Valsesia G, Rossi M, Bertschy S, Pfyffer GE. Emergence of SCCmec type IV and SCCmec type V methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the Pantone-Valentine leukocidin genes in a large academic teaching hospital in central Switzerland: external invaders or persisting circulators? *J Clin Microbiol* 2010; 48(3): 720-7.
 25. Jimenez JN, Ocampo AM, Vanegas JM, Rodriguez EA, Garces CG, Patino LA, et al. Characterisation of virulence genes in methicillin susceptible and resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a paediatric population in a university hospital of Medellin, Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2011; 106(8): 980-5.
 26. Asghar AH. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from tertiary care hospitals. *Pak J Med Sci* 2014; 30(4): 698-702.
 27. Ebrahim-Saraie HS, Motamedifar M, Sarvari J, Hoseini Alfatemi SM. Emergence of SCCmec type I obtained from clinical samples in Shiraz teaching hospitals, south-west of Iran. *Jundishapur J Microbiol* 2015; 8(6): e16998.

Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) Typing of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Isolates Collected from Clinical Samples in the Sistan Region, Iran

Akram Vafadar-Nejad¹, Ahmad Rashki^{2*}, Mohsen Najimi²

Received: 29 Apr. 2017

Accepted: 19 Aug. 2017

Published: 07 Oct. 2017

Original Article

Abstract

Background: Today, the emerged methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) is considered as one of the most important pathogens involved in hospital-acquired infection. Typing of bacteria is an important part of epidemiological studies on nosocomial infections. In this study, Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) analysis was used to identify types and differentiates MRSA clinical isolates collected from clinical samples in Sistan Region, Iran.

Methods: In this study, seventy-two MRSA isolates were obtained and the presence of SCCmec cassette chromosome mec (SCCmec) types was investigated using multiplex polymerase chain reaction (PCR) technique.

Results: Of 72 tested MRSA isolates, 5% had SCCmec type I, 45% SCCmec type II, 30% SCCmec type III, and 20% SCCmec type V.

Conclusion: According to the results of this study, SCCmec types II and III, which are the characteristics of hospital-acquired MRSA, were the most dominant types.

Keywords: Methicillin-resistant staphylococcus aureus, Hospital infections, mecA protein, Staphylococcus aureus

Citation: Vafadar-Nejad A, Rashki A, Najimi M. **Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) Typing of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Isolates Collected from Clinical Samples in the Sistan Region, Iran.** Afzalipour J Clin Res 2017; 2(3-4): 117-23.

1- Department of Biology, School of Basic Sciences, Zabol University, Zabol, Iran

2- Associate Professor, Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Zabol University, Zabol, Iran

Corresponding Author: Ahmad Raseki

Email: ah_rashki@usal.es

Address: Zabol University, School of Veterinary Medicine, Department of Pathobiology **Tel:** +98 915 197 0877