بررسی ژن mecA در سویه های استافیلوکوک اورئوس مقاوم به مقادیر بالای اگزاسیلین جدا شده از بیمارستانهای تهران

انسیه جوان[۱]، حمیدرضا فلاحتی [۲]، مهناز سیفی*[۳]، ملیحه طالبی [۴] ، غلامحسین ابراهیمی پور [۵]، محمدرضا پورشفیع [۶]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه شهید بهشتی
۲. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی انستیتو پاستور ایران
۳. استادیار بخش سل و تحقیقات ریوی انستیتو پاستور ایران
۴. استادیار گروه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایران
۵. استادیار گروه زیست شناسی دانشگاه شهید بهشتی
۶. دانشیار بخش میکروب شناسی انستیتو پاستور ایران

* نشانی برای مکاتبه: خیابان ۱۲ فروردین، انستیتوپاستور ایران، بخش سل و تحقیقات ریوی، mahsaifi@yahoo.com
دریافت مقاله: بهمن هشتاد و هشت پذیرش برای چاپ: فروردین هشتاد و نه

چکیده

سابقه و هدف: انتشار گسترده استافیلوکوک اورئوس های مقاوم به متی سیلین (MRSA) در محیط های بیمارستانی ، نیاز به کنترل آنهارا مطرح ساخته است. این مطالعه با هدف جداسازی سویه های استافیلوکوک اورئوس مقاوم به مقادیر بالای اگزاسیلین از بیمارستانهای تهران و بررسی ژن mecA در این سویه ها انجام گرفت.

روش کار: از آبان ۱۳۸۷ تا شهریور ۱۳۸۸ ، ۳۵۰ ایزوله استافیلوکوک، جداسازی شده و تشخیص سویه های استافیلوکوکوس ارئوس با استفاده از تست های بیوشیمیایی انجام گرفت. مقاومت سویه ها نسبت به اگزاسیلین با استفاده از دو روش دیسک دیفوزیون وتعیین MIC و شناسایی حضور ژن mecA با استفاده از روش PCR بررسی شد . الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های MRSA نیز نسبت به ۱۹ آنتی بیوتیک تعیین گردید.

یافته ها : درمجموع ۱۵۰ ایزوله استافیلوکوک اورئوس جداسازی شد که از این تعداد ، (۴۵٪)۶۸ سویه MRSA بودند. تمامی سویه های MRSA نسبت به پنی سیلین و آمیکاسین مقاوم ونسبت به کانامایسین ، سیپرو فلوکساسین ، توبرامایسین ، اریترومایسین ، جنتامایسین ،تتراسیکلین ، کلینداماسین و کوتریماکسازول بیش از ۸۰٪ مقاومت داشتند. تست MIC در (۳۷٪)۲۵ مورد از سویه های MRSA ≥۵۱۲µg/ml ودر(۶۳٪) ۴۰ مورد ازآنها ≥۲۵۶ µg/ml بود .نتایج تست PCR نشان داد که(۹۵٪) ۶۴ ازاین سویه ها حامل ژن mecA بودند.

نتیجه گیری: سویه های MRSA با MIC بالا نسبت به اگزاسیلین که نسبت به چند آنتی بیوتیک دیگر نیز مقاوم هستند دراین مطالعه شیوع بالایی داشتند که به نظر میرسد جهت جلوگیری از طغیان های ناشی از این گونه سویه های MRSA در مراکز بیمارستانی مراقبت ها و تدابیر ویژه ای باید بکار گرفته شود. تکنیک PCR که قادر به تشخیص سریع سویه های MRSA میباشد ، در کنار انجام آزمایش های فنوتیپی از قبیل کشت و بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی به روش MIC، از قابلیت بالایی جهت کنترل شیوع این سویه ها ، برخوردار میباشند.

واژگان کلیدی: استافیلوکوک اورئوس، اگزاسیلین، ژن mecA

مقدمه

با مشاهده اولین سویه های استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین (Methicillin Resistant Staphylococcus aureus) (MRSA) در سال ۱۹۶۱، به تدریج میزان شیوع عفونت های بیمارستانی و مرگ و میر ناشی از این عوامل، بشدت رو به افزایش نهاد. بر اساس تعریف، استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین به سویه هایی از استافیلوکوک اورئوس گفته میشود که یا حامل ژن mecA باشند و یا اینکه حداقل غلظت مهارکنندگی ۴µg/ml و یا بیشتر را از خود نشان دهند(۱) .

اکثر سویه های MRSA و نوپدیدی سویه هایی با MIC بالا نسبت به اگزاسیلین، دارای مقاومت و یا کاهش حساسیت نسبت به دیگر عوامل آنتی بیوتیکی می باشند که این مساله باعث محدود شدن اختیارات درمانی و جلوگیری از انتشار این پاتوژنها میگردد. از طرف دیگر شیوع سویه های MRSA با MIC بالا ولزوم استفاده از داروهای دیگری نظیر وانکومایسین که سمی بوده و مصرف آن مقرون به صرفه نمی باشد، دلیلی برای تلاش در جلوگیری از گسترش آنها می باشد. طبق گزارشات اخیر در میان بیماران بیمارستانی مبتلا به باکتریمی MRSA میزان MIC بالای وانکومایسین نیزگزارش شده است(۲).

مسوولین مراقبت های بهداشتی و کنترل عفونت در بیمارستانها باید ضمن بررسی میزان شیوع این باکتری، برنامه هایی جهت جلوگیری از انتشار این ارگانیسم ارائه نمایند که در این راستا دانستن الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و نقش عوامل مرتبط با بروز مقاومت می تواند در برنامه های کنترل عفونت مفید باشد(۳).

مقاومت به متی سیلین و دیگر مشتقات خانواده آنتی بیوتیکهای خانواده بتالاکتام، ناشی از وجود ژن mecA به طول kb ۲/۱ میباشد (۳). با وجود دارا بودن ژن mecA ، سویه های MRSA ممکن است دارای MIC متفاوتی از هم باشند و در مواردی سویه هایی با MIC= ۴-۸ µg/ml مشاهده شده که دارای ژن mecA نیستند ، از این رو PCR بعنوان روش استاندارد برای تشخیص ژن mecA در نظر گرفته می شود(۴).

این مطالعه با هدف جداسازی سویه های استافیلوکوک اورئوس مقاوم به مقادیر بالای اگزاسیلین از بیمارستانهای تهران و بررسی ژن mecA در این سویه ها انجام گرفت.

روش کار

۳۵۰ ایزوله استافیلوکوکوس از چند بیمارستان دولتی درتهران جداسازی شده و مورد بررسی قرار گرفتند. برای تعیین جنس و گونه از روشهای استاندارد آزمایشات رنگ آمیزی گرم، کاتالاز، DNase، کواگولاز و تخمیر مانیتول استفاده شد(۵).

جهت تعیین مقاومت سویه های استافیلوکوکوس ارئوس نسبت به آنتی بیوتیک متی سیلین، سویه ها بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار حاوی ۴ درصد نمک کشت داده شد و مقاومت به متی سیلین به روش دیسک دیفوزیون و با استفاده از دیسک حاوی اگزاسیلین ازشرکت Mast ، مورد بررسی قرار گرفت. سپس الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های MRSA بر اساس جدول CLSI نسبت به ۱۹ آنتی بیوتیک شامل آمیکاسین، کانامایسین ، پنی سیلین، کلیندامایسین ونیتروفورانتوئین از شرکت DIFCO، ریفامپین ، سینرسید، کلرامفنیکل ، جنتامایسین و تیکوپلانین، از شرکت Bio Rad ، کوتریموکسازول، سیپروفلوکسازین، توبرامایسین، تتراسیکلین، اریترومایسین، فوزیدیک اسید ، وانکومایسین و لینه زولید از شرکت Mast و مینوسیکلین از شرکت Sanofi تعیین گردید (۶) .

تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی Minimal Inhibitory Concentration (MIC) دربین سویه های MRSA نسبت به آنتی بیوتیک اگزاسیلین با استفاده از روش Broth Microdilution تا غلظت آنتی بیوتیکی µg/ml ۱۰۲۴ انجام شد (۶).

برای استخراج Total DNA یک کلنی از کشت خالص باکتری را درون ml ۱۰ از محیط کشت BHI broth تلقیح کرده و یک شب در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار دادیم. پس ازسانتیریفیوژ (ده دقیقه در ۴۵۰۰rpm) بر روی رسوب حاصل ۳۰۰ میکرولیتراز بافر لیز شامل: , EDTA 1mM Lysozyme 20mg/ml, Sucrose 50%, Tris-Hcl 1mM , Lysostaphyn 5 mg/ml ریخته و برای ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده سپس سوسپانسیون حاصل را به لوله اپندروف منتقل کرده و پس از سانتریفیوژ(۱۵دقیقه در ۱۳۰۰۰rpm)مایع رویی را به درون یک لوله اپندروف منتقل کرده و DNA باکتری بعد طی دو مرحله تخلیص توسط مخلوط فنل ، کلروفرم وایزوآمیل الکل ویک مرحله کلروفرم و باافزودن اتانل سرد بمدت ۲۴ ساعت در^{o}C۲۰- وسانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه در دورrpm ۱۳۰۰۰ و حل کردن رسوب بدست آمده در۵۰ میکرولیتر بافر TE حاوی RNase بدست آمد (۷) .

جهت بررسی وجود ژن مقاومت به متی سیلین (mecA) از پرایمرهای اختصاصی با سکانس 5'-GTA GAA ATG ACT GAA CGT و mecA1: CCG ATA A-3' 5'-CCA ATT CCA CAT mecA2: TGT TTC GGT CTA A-3' استفاده گردید(۸).

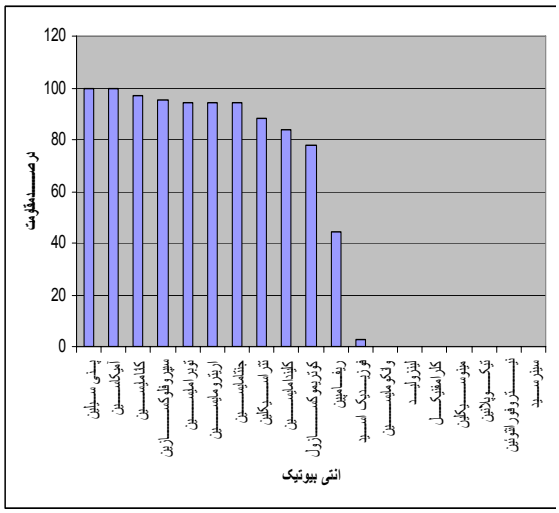
سیکل حرارتی مورد استفاده در دستگاه ترموسایکلر ابتدا یک دناتوراسیون اولیه به مدت ´۵ در^{o}۹۴و سپس ۳۰ سیکل بصورت ۱۵ثانیه در^{o}C۹۴، ۱۵ ثانیه در^{o}C۶۱ و ۳۰ثانیه در دمای ^{o}C۷۲ و سپس Final Extention در دمای ^{o}C۷۲بمدت ۵ دقیقه انجام گرفت .حجم مخلوط واکنش PCR برای هر سویهµl ۲۵ بود که شامل: PCR dNTPs(0.16 mM)،buffer(2.5µl) ، MgCL2(0.8 mM) Taq Polymerase(1u/µL) ، Primers(16 pmol of each) وهمچنین µl ۲ از نمونه DNA تخلیص شده باکتریایی بود(۹).

جهت مشاهده محصول PCR(۳۱۰bp) از ژل آگاروز ۱ درصد والکتروفورز در ولتاژ ۷۰ به مدت ۴۰ دقیقه استفاده شد و در نهایت رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید برای رویت باندهای DNA انجام گردید .

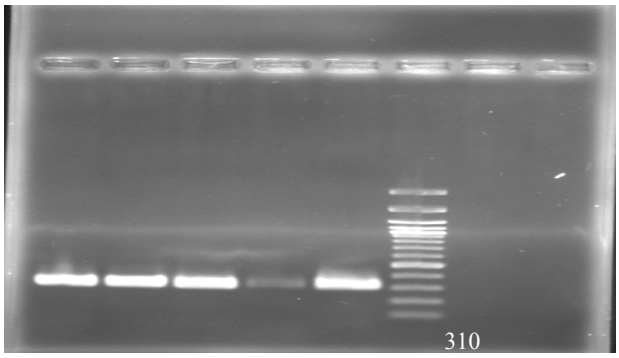
یافته ها

از مجموع ۳۵۰ ایزوله استافیلوکوک جمع آوری شده، ۱۵۰ سویه به عنوان S.aureus شناسایی شدند که از مجموع آنها ۶۸ سویه (۴۵٪) نسبت به دیسک اگزاسیلین مقاوم بودند و به عنوان سویه های MRSA مورد بررسی های تکمیلی قرار گرفتند . نمودار۱ نشان دهنده درصد مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های MRSA می باشد. بر این اساس مشخص است که تمامی سویه های MRSA مورد بررسی نسبت به آنتی بیوتیکهای ونکومایسین، تیکوپلانین، لینه زولید، کلرامفنیکل و نیتروفورانتوئین حساس بودند. این در حالی است که تمامی این سویه ها نسبت به آنتی بیوتیکهای پنی سیلین و آمیکاسین مقاومت نشان دادند. نتایج MIC این سویه ها نسبت به اگزاسیلین نشان دادکه حداقل غلظت مهارکنندگی برای حدود ۳۷٪ از ایزوله ها بیشتر یا مساوی ۵۱۲ µg/ml و برای ۵۹٪ از سویه ها بیشتر یا مساوی ۲۵۶µg/ml بود .

به دنبال انجام آزمون PCR جهت تعیین ژن mecA مشخص گردید که ۹۵٪ سویه ها واجد ژن mecA بودند (تصویر۱) ولی ۵٪ از سویه ها علی رغم دارا بودن مقاومت نسبت به دیسک اگزاسیلین و داشتن MIC بالا، با پرایمرهای مورد استفاده جهت ژن mecA منفی بودند .



نمودار ۱: درصد مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های MRSA



تصویر شماره ۱: محصول ژن mecA در سویه های MRSA
۱و۲و۳و۴و۵ : محصولات PCR ژن mecA (310bp)
M : مارکر وزن مولکولی

بحث

سویه های MRSA یکی از شایعترین عوامل مطرح در بروز عفونتهای بیمارستانی می باشند. افزایش حداقل غلظت مهارکنندگی در برابر اگزاسیلین و کاهش حساسیت نسبت به دیگر عوامل آنتی بیوتیکی، درمان و مهار انتقال عفونت های بیمارستانی ناشی از MRSA را با چالش بسیار بزرگی روبرو ساخته است.سویه های MRSA در بیمارستانهای مورد مطالعه از گستردگی بالایی برخوردار می باشند. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه میزان شیوع MRSA در جامعه آماری مورد بررسی ما، ۴۵٪ است و این در حالیست که نرخ فراوانی MRSA در کشورهای آسیایی از قبیل عربستان سعودی، هند و ژاپن به ترتیب۸٪(۱۰)، ۴۴٪(۱۱) و بیش از ۶۰٪ (۱۲) گزارش گردیده است .

طبق آمارهای موجود درایالات متحده میزان شیوع MRSA از ۲٪ در سال ۱۹۸۰ به ۶۰٪ در سال ۲۰۰۴ رسیده است(۱۳). در کشورهای اروپایی این رقم به کمتر از ۱٪ در هلند و اسکاندیناوی و به ۳۷٪ در انگلستان و لهستان و بیش از ۵۰٪ در پرتغال و ایتالیا رسیده است (۱۲).در مطالعه ای که درسال ۱۳۸۳ در شیراز انجام گرفته است، میزان سویه های MRSA مقاومت ۳۸٪ (۱۴) گزارش شد. طی مطالعه ای در بیمارستان لقمان در سال ۱۳۸۳ ، میزان شیوع MRSA ،۹۰٪ گزارش شده است (۱۵). در مطالعه دکتر امین زاده ۱۰۰٪ سویه ها مقاوم به متی سیلین و ۹۵٪ مقاوم به اگزاسیلین بودند (۹). در مطالعه ای در کاشان در سال ۱۳۸۱ میزان مقاومت به اگزاسیلین ۹۶٪ گزارش شد (۱۶). متفاوت بودن میزان مقاومت به متی سیلین در گزارشات مختلف میتواند ناشی از تفاوت در مدت زمان استفاده از این دارو، روشهای مختلف انجام آزمایشات سنجش مقاومت، جمعیتهای متنوع مورد مطالعه و بررسی بر روی بیماران با سابقه متفاوت آنتی بیوتیک درمانی باشد.

در مطالعه ما مقاومت به وانکومایسین در بین سویه های MRSA مشاهده نشد. نخستین سویه VRSA (Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus) نخستین بار درسال ۲۰۰۲ در آمریکا گزارش شد (۱۷) و نخستین سویه با مقاومت کاهش یافته به ونکومایسین نیز در سال ۱۹۹۷ در ژاپن گزارش گردید و پس از آن در کشورهای انگلستان، فرانسه و ایالات متحده گزارشاتی از شیوع سویه های VRSA مشاهده گردید (۱۸). در مطالعات مختلفی نیزکه تاکنون در ایران انجام گرفته، گزارشات متفاوتی از شیوع سویه های استافیلوکک مقاوم به ونکومایسین مشاهده شده است. در طی مطالعاتی درایران درسالهای ۱۳۸۱ و ۱۳۸۴ میزان مقاومت نسبت به ونکومایسین بترتیب در حدود ۱۸/۴٪ و ۳٪ گزارش شده است (۱۶و۱۹). در مطالعات دیگری در سالهای ۱۳۸۰ و ۱۳۸۴ تمامی سویه ها حساس به ونکومایسین بودند (۹و۲۰و۲۱) بنابراین با توجه به اطلاعات بدست آمده از تمامی مطالعات انجام گرفته در ایران و مقایسه با سایر کشورهای جهان می توان گفت که با توجه به پایین بودن میزان مقاومت به ونکومایسین در میان سویه های S. aureus در سراسر جهان، نتایج مطالعه حاضر همخوانی کامل دارد .با بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی بدست آمده از سویه های MRSA حاصل از این مطالعه و دیگر تحقیقات صورت گرفته مشابه مشخص میگردد که این سویه ها در برابر آنتی بیوتیک هایی از قبیل پنی سیلین، آمیکاسین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، توبرامایسین، اریترومایسین و تتراسیکلین مقاومت بالایی را نشان میدهند. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، ۸۴٪ ایزوله های MRSA به کلیندامایسین از خود مقاومت نشان دادند که با توجه به نقش این دارو در درمان عفونت های حاصل از MRSA ، مقاومت بالای به آن می تواند نگرانی هایی را در پی داشته باشد. میزان مقاومت به کلیندامایسین در طی مطالعه ای در عربستان در سال ۲۰۰۴ ، ۲۱/۶٪ و در نیجریه در سال ۲۰۰۵ ، مقاومت ۹۲٪ نسبت به کلیندامایسین گزارش گردیده است(۲۲).

کلرامفنیکل می تواند یکی از آنتی بیوتیکهای مؤثر در مواجه با سویه هـای MRSA باشد. شاید بتوان گفت که در مطالعـه حاضـر حساسـیت ۱۰۰٪ سویه های MRSA نسبت به این دارو ناشی از پایین بودن میزان استفاده از این آنتی بیوتیک بواسطه اثرات و عوارض جـانبی متعـدد آن اسـت کـه باعث شده تقریبا استفاده از این آنتی بیوتیک بدست فراموشی سپرده شود. اما با این وجود این آنتی بیوتیک همچنان جهت درمان عفونتهای ناشی از مننژیت مورد توجه می باشد (۱۵) .

دراین مطالعه میزان مقاومـت نسـبت بـه آنتـی بیوتیکهـای پنـی سـیلین، آمیکاسین،کانامایسین، جنتامایسین، توبراماسین بالاست و می توان گفـت که در استفاده های درمانی نمـی تواننـد اثـرات قابـل ملاحظـه ای داشـته باشند که این امر میتواند ناشی از اسـتفاده بـالای ایـن آنتـی بیوتیکهـا در عفونتهای ناشی از باکتریهای مختلف در کشور باشد .

درسـویه هـای MRSA مـورد مطالعـه در ۳۶/۹٪ MIC بیشـتراز ۵۱۲µg/ml و در ۵۹٪ از سویه ها بیشـتر از ۲۵۶ µg/ml بـود. در تحقیقات دیگر انجام شده در کشـور سـری لانکـا در سـال ۲۰۰۷ ، MIC سویه های مورد مطالعه بیشتر یا مساوی ۱۲۸ µg/ml گزارش شـد (۲۲). همچنین در مطالعه ایی که در سال ۲۰۰۸ در ژاپن صورت گرفت ۲۹٪ از ایزوله های MRSA ، دارای MIC بیشتر یا مساوی ۵۱۲ µg/ml بودند (۲۴).

نتیجه گیری

درمان عفونت های ناشی از سویه هـای MRSA بـا MIC بـالا نیازمنـد تجویز دوز بالای آنتی بیوتیک در مبتلایان به این عفونت ها میباشـد کـه میتواند علاوه بر گسترش میزان مقاومت ، باعث ایجاد عوارض جـانبی نیـز گردد .

درتحقیق حاضر ۵ درصد از سویه های MRSA ، PCR منفی داشتند و MIC آنها ≤۲۵۶ بود. این مسئله می تواند مربوط به پیدایش موتاسـیون در ژن مقاومت به متی سیلین در بـین ایـن سـویه هـا یـا وجودتفاوتهـای فیزیولوژیکی مانند تغییر در دیواره باکتری باشد (۱۷). با وجود مقاومت بالا نسبت به اگزاسیلین در بین این سویه ها شـاید مشـکل درژنهـای تنظـیم کننده بیان ژن mecA هم وجود داشته باشد که در حال حاضر تحقیقات در این موارد ادامه دارد .

مقاومت بالای آنتی بیوتیکی در سویه های استافیلوکوک اورئوس در بیماران بیمارستانی می تواند در نتیجه مصرف نادرست آنتی بیوتیکها، رعایت نکردن اصول بهداشتی در محیطهای بیمارستانی و در بین کارکنان و پرسنل بیمارستان باشد .

از اینرو لزوم تشخیص به موقع و صحیح این سویه ها بخصوص در محیط های بیمارستانی احساس می شود و از طرفی درمان با آنتی بیوتیکهایی نظیر وانکومایسین و تیکوپلانین که آخرین درمان محسوب می شود، پر هزینه ودارای عوارض جانبی بسیاری برای بیماران میباشد.با در دست داشتن الگوی مقاومت سویه های MRSA می توان قدمهای موثری در جهت کنترل روند مقاومت این سویه ها و جلوگیری از شیوع بیشترعفونتهای ناشی از آنها شد .

REFERENCES

1.Hososaka Y,Hanaki H,Endo H,Suzuki Y,Nagasava Z,et al.Characterization of Oxacillin-susceptible mecA-positive Sataphylooccus aureus:a new type of MRSA,Tokyo,Japan.J Infect Chemoter; 2007 April 26;13:79-86

2 .Jarzembowski T,Wisniewska K,Jozwik A,Witkowski J.Heterogeneity of Methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains(MRSA)characterized by flow cytometry,Gdansk,Poland.Curr Microbiol; 2009 Mar 28;59(1):78-80.

۳. منیری رضوان،شفیعی محمد. بررسی شیوع و عوامل پیشگیری کننده ی مقاومـت دارویـی اسـتافیلوکوکوس اورئـوس جـدا شـده از نمونـه هـای بیمارستان های کاشان،ایران. مجله ی علمی،پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زنجان پاییز ۱۳۸۷،دوره ی ۱۶:شماره ۶۴ صفحات ۷۳ تا ۸۲ .

4.Anand KB,Agrawal P,Kumar S,Kapila K.comparison of cefoxitin disc diffusion test,oxacillin screen agar, and pcr for mecA gene for detection of MRSA,Pune,India.Indian J Med Microbiol; 2009;27(1):27-9.

5. Martins A, Cunha ML.Methicillin Resistance in Staphylococcus aureus and coagulase-negative Staphylococci:Epidemiology Logical and Molecular Aspects,Botucatu,Brasil.Microbial.Immunol; 2007 March 29;51(9):787-95 .

6.National Committee for clinical Laboratory Standards (2000) performance Standard for Antimicrobial Susceptibility tests approved Standard 7th edn. Villanoa:National Committee for Clinical Laboratory Standards.

7. Menon PK,Nagendra A.Comparison of rapid method of DNA extraction using microwave irradiation with conventional phenol chloroform technique for use in multiplex pcr for mecA and femB genes to identify genotypes of MRSA from cultures,Pune,India.Med J Armed Forces India; 2001 Jul;57(3):194-96.

8.Jonas D, Speck M, Daschner FD, Grundmann H. Rapid PCR-Based Identification of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus from Screening Swabs, Nottingham, United Kingdom. J CLIN MICROBIOL;2002 May;40(5):1821-23.

۹. امین زاده زهره، ماستری فراهانی علی، گچکارلطیف . بررسی شیوع ناقلین استافیلوکوکوس اورئوس در بیماران همودیالیزی مزمن مراجعه کننده به بخش همودیالیز بیمارستان شهید دکتر لبافی نژاد در و تعیین الگوی مقاومت آنتی میکروبیال . فصلنامه بیماریهای عفونی و گرمسیری تابستان ۱۳۸۳ ، سال نهم: شماره ۲۵ صفحات ۷۱ تا ۷۳.

10. Jaffar A, MBBS, FACP. Incidence and Epidemiology of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Infection in a Saudi Arabian
Hospital,Saudi Arabian. Infect Control Hosp Epidemiol; 2006 october; 27:1137-1139.

11. Arti T, Arti K, Padma S. Incidence of Methicillin Resistant Stahylococcus aureus (MRSA) in pus Samples at a Tertiary Care Hospital, AIIMS, New Delhi,India. JIACM; 2008; 9(1): 33-5.

12. Daniel L,Natalie C.Structural basis for the β-Lactam resistance of PBP2a from methicillin-resistant staphylococcus aureus,British Columbia,Canada.Nature satructur bio;2002 November;9(11):870-76.

13.Lin Y, Lauderdale T, Lin H, Chen P, Cheng M ,et al.An outbreak of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection in patients of pediatric intensive care unit and high carriage rate among health care workers, Kaohsiung, Taiwan.J Microbial Immunol Infect; 2007 August; 40:325-334.

14.Japooni A, Alborzi A, Orafa F, Rasouli M, Farshad S.Distribution Patterns
of Methicillin Resistance Genes (mecA) in Staphylococcus aureus Isolated from Clinical Specimens,Shiraz,Iran.Iranian Biomedical Journal; 2004 June 6;173-178.

15.Vahdani P,Saifi M, Aslani MM, Asarian AA, Sharafi K. Antibiotic Resistant Patterns in MRSA Isolates from Patients Admitted in ICU and Infectious Ward,Tehran,Iran.Tanaffos;2004;3(11):37-44.

۱۶. شجری غلامرضا، منیری رضوان . بررسی الگوی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه های ارسالی به آزمایشگاه مرکزی کاشان . فیض پاییز ۱۳۸۱ ، سال ششم : شماره ۳ صفحه ۲ .

17. Centers for Disease Control and Prevention.Staphylococcus aureus resistant to vancomycin,United State.Morb Mortal Wkly Rep;2002 July 5;51(26):565-67.

18.Tenover FC, Biddle JW,Lancaster MV.Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in Staphylococcus aureus,Georgia,USA.Emerg Infect Dis;2001 Mar-Apr;7(2):327-32.

۱۹. ستاری مرتضی، زندی فاطمه . شناسایی و تعیین الگوی مقاومت دارویی و بررسی تولید بتالاکتاماز در سویه های استافیلوکوکی جدا شده از عفونتهای ادراری . فصلنامه بیماریهای عفونی و گرمسیری بهار ۱۳۸۴ ، سال دهم : شماره ۲۸ صفحات ۲۳ تا ۲۶ .

۲۰. علوی نائینی رویا، درویشی محمد، ایزدی مرتضی، ایلامی اورنگ، حاتمی حسین . بررسی فراوانی ناقلین بینی استافیلوکوک آرئوس و مقاومت دارویی آن در پرسنل بخش جراحی و گروه شاهد آنان . فصلنامه بیماریهای عفونی و گرمسیری زمستان ۱۳۸۴ ، سال دهم : شماره ۳۱ صفحات ۴۳ تا ۴۶ .

۲۱. محمد علیزاده بختوری افشین ، یادگاری داوود ، رفیع زاده رضا ، حسینی مقدم سید محمد مهدی ، جهان بین مهرنوش . الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در میکروارگانیسمهای گرم مثبت بیمارستانی در طی سالهای ۸۳-۷۹ . فصلنامه بیماریهای عفونی و گرمسیری زمستان ۱۳۸۴ ، سال دهم ، شماره ۳۱ صفحات ۴۷ تا ۵۱. .

22.Zorgani A, Shawerf O, Tawil K, EI-Turki E ,Ghenghesh KS. Inducible Clindamycin resistance among staphylococci isolated from burn patients, Tripoli,Libya. DOI: 10.4176/090128.

23.Kumbukgolla WW,Thevanesam V,Kumar NS,Bandar BMR. Antibacterial Activity of Oxacillin against Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Pre-Incubated with Tea Catechins, Peradeniya, Sri Lanka. Proceedings of the Peradeniya University Research Sessions; 2007 November;12:82-3.

24. Kato Y, Suzuki T, Ida T, Maebashi K, Sakurai M,et al. Microbiological and clinical study of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) carrying VraS mutation: changes in susceptibility to glycopeptides and clinical significance, Tokyo, Japan. Inter J Antimicrob Agents; 2008;31: 64–70 .