

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و نکومايسين باروش E-test در ايزوله های استافیلو کوس اورئوس جدا شده بیمارستان های آموزشی شهرستان سنج، کردستان

• عباس منافی

کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران و گروه میکروب شناسی - مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

• دکتر مظاهر خدابنده لو

استادیار و بیروس شناسی پزشکی، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

• سمانه روحی

دانشجوی دوره دکترای اپیدمیولوژی مولکولی باکتری ها، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران و گروه میکروب شناسی - مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

• بهمن محمدی

دانشجوی دوره کارشناسی ارشد میکروب شناسی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران و گروه میکروب شناسی - مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

• دکتر رشید رمضانزاده

دانشیار باکتری شناسی پزشکی، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران (نویسنده مسئول)

atrop_t51@yahoo.com

چکیده

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم ترین باکتری ها در ایجاد عفونت های بیمارستانی و اکتسابی از جامعه است. بروز مقاومت های آنتی بیوتیکی ناشی از این باکتری آن را به یک مشکل مهم در بهداشت و درمان تبدیل نموده است. هدف از این تحقیق بررسی و تعیین حداقل غلظت مهارتی و نکومايسين به روش E-test در ايزوله های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده در دو بیمارستان آموزشی شهرستان سنج می باشد. این مطالعه به صورت توصیفی - مقطعی بر روی ۸۸ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه های بالینی بیماراران بستری در بیمارستان های توحید و بعثت شهرستان سنج (فروردین لغایت اسفند ماه ۱۳۹۰) صورت گرفت. شناسایی سويه ها به وسیله روش های استاندارد میکروب شناسی انجام شد. آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن و حداقل غلظت مهارکنندگی و نکومايسين با روش E-test انجام گرفت. در این بررسی تعداد ۴۰ سويه استافیلوکوک

اورئوس از بیمارستان توحید و تعداد ۴۸ سويه از بیمارستان بعثت جمع آوری شد. دامنه حداقل غلظت مهارکنندگی از میان ۸۸ ايزوله استافیلوکوکوس اورئوس بین ۱/۵ - ۰/۱۹ میلی گرم بر لیتر متغیر بود و مطابق استاندارد همه سويه ها حساس به و نکومايسين بودند ($2 \leq$ حداقل غلظت مهارکنندگی). در این مطالعه سويه های دارای مقاومت به و نکومايسين یافت نشد. نتایج حاصل از این تحقیق می تواند در ارزیابی وضعیت مقاومت به و نکومايسين در استان کردستان و نیز برنامه ریزی های نظام سلامت کشور جهت کاربرد صحیح این آنتی بیوتیک در درمان عفونت ها، نقش مهمی را ایفا نماید.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، و نکومايسين، حداقل غلظت مهارکنندگی، E-test

مقدمه

استافیلوکوکوس ها (Staphylococcus) متعلق به خانواده میکروکوکاسه بوده و به شکل کوسی های گرم مثبت، هوازی اختیاری و معمولاً بدون کپسول هستند (۱،۲). جنس

استافیلوکوکوس شامل ۵ گونه:

استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*)

استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (*Staphylococcus epidermidis*)

استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (*Staphylococcus saprophyticus*)

استافیلوکوکوس لوگدونسیس (*Staphylococcus lugdunensis*)

و استافیلوکوکوس همولیتیکوس (*Staphylococcus haemolyticus*)

است (۳). استافیلوکوکوس اورئوس عامل بیماری زای اصلی انسان است و میزان عفونت های بیمارستانی ایجاد شده توسط این باکتری در بخش های مختلف بیمارستان ۴۰-۵۰٪ است (۴). تقریباً همه انسان ها در طول زندگی خود نوعی عفونت استافیلوکوکوس اورئوس را تجربه می کنند که شدت آن از

یک مسمومیت غذایی یا عفونت پوستی خفیف تا عفونت های تهدید کننده زندگی متغیر است (۷). آنتی بیوتیک گلیکوپپتیدی و نکومایسین در سال ۱۹۵۸ کشف شد، این دارو از جمله آنتی بیوتیک هایی است که به فراوانی در محیط های بیمارستان،

مخصوصاً در مورد استافیلوکوک های مقاوم به متی سیلین استفاده می شود و با وجود این که تا کنون تعداد معدودی از موارد استافیلوکوک اورئوس مقاوم به نکومایسین گزارش شده است، اما احتمال حضور بیشتر سویه های مقاوم آن در آینده

نزدیک بسیار زیاد است (۸-۱۲). مطالعات مختلف مقاومت سویه های استافیلوکوک اورئوس را به نکومایسین نشان داده اند: در مطالعه ای که توسط Havaei و همکارانش در ایران در سال

۲۰۱۲ به روش تعیین حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)* و *E-test* انجام گرفت نشان داده شد که از ۱۷۱ ایزوله استافیلوکوک اورئوس، ۶۷٪ به متی سیلین و ۲/۹٪ به نکومایسین مقاوم

بودند (۷). در مطالعه ای دیگر که توسط تیواری و همکاران در سال ۲۰۰۶ در هندوستان بر روی استافیلوکوکوس های مقاوم به وانکومایسین با روش تعیین حداقل غلظت ممانعت کنندگی و روش مولکولی واکنش زنجیره ای پلیمرز *Polymerase Chain Reaction (PCR)* انجام شد از میان

۷۸۳ سویه استافیلوکوکوس اورئوس دو سویه مقاوم به تیکوپلانیس و وانکومایسین یافت شد و همچنین شش سویه استافیلوکوکوس اورئوس با مقاومت متوسط به نکومایسین *Vancomycin-Intermediate Staphylococcus aureus (VISA)* گزارش گردید (۸). در مطالعه اسناک و همکاران در سال ۲۰۰۵

به وسیله روش *E-test* در ترکیه گزارش دادند که از میان ۲۵۶ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، ۴۶ نمونه حساسیت متوسط به وانکومایسین داشتند. مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی رشد وانکومایسین ۴-۰/۱۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شد و همه سویه ها نسبت به وانکومایسین حساس بودند (۹). بنابر مطالب گفته شده و با توجه به موارد افزایش مقاومت به وانکومایسین و مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها در بیمارستان ها، هدف از این بررسی تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد وانکومایسین به روش *E-test* در ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه های مختلف گرفته شده در بیمارستان های آموزشی سنندج می باشد.

مواد و روش ها

تعداد نمونه و روش نمونه گیری

در این مطالعه مقطعی، در طی یک سال (فروردین لغایت اسفند ماه ۱۳۹۰) جمع آوری نمونه های استافیلوکوکوس از سه طبقه بیماران، کارکنان بیمارستانی و محیط بیمارستان در بیمارستان های آموزشی در بخش های مختلف بیمارستان توحید و بعثت شهرستان سنندج انجام شد.

تعیین هویت و جداسازی استافیلوکوک اورئوس

تعیین هویت سویه ها با روش استاندارد نظیر تست کاتالاز، تست لوله ای کواگولاز، رشد روی محیط مانیتول سالت آگار و تست *DNAase* انجام پذیرفت. نمونه ها ابتدا در محیط بلاداگار (مرک، آلمان) حاوی ۰/۵٪ خون گوسفندی کشت داده شدند و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد مطابق روش های استاندارد میکروب شناسی مورد بررسی و شناسایی قرار گرفتند. استافیلوکوکوس های جمع آوری شده در محیط تریپتیک سویی برات *Tryptic soy Broth (TSB)* (مرک، آلمان) ۱۰٪ گلیسرول ذخیره شدند.

آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی

در ادامه الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله ها با روش انتشار دیسک در آگار (*Disc diffusion*) بر روی محیط مولر هیتون آگار *Mueller Hinton Agar (MHA)* مطابق استاندارد توصیه شده *Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)*



تجزیه و تحلیل آماری

در نهایت داده های حاصل از مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای این منظور از روش های آماری توصیفی (تعیین فراوانی، درصد و میانگین) استفاده شد. همچنین آزمون آماری K2 برای مقایسه یافته های کیفی و تست مثبت مستقل برای مقایسه یافته های کمی مورد استفاده قرار گرفتند. در این مطالعه مقدار $p < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

در این تحقیق تعداد ۴۰ سویه استافیلوکوک اورئوس از بیمارستان توحید و تعداد ۴۸ سویه از بیمارستان بعثت در طی یک سال جمع آوری شد. نمونه های مورد مطالعه از نمونه های بالینی، پرسنل و محیط بیمارستان جمع آوری شده بود، بیشترین سویه جدا شده استافیلوکوک اورئوس از نمونه های بالینی مربوط به ادرار (۲۰ سویه) و خون (۲۰ سویه) بود و کم ترین مربوط به آبسه و بیوپسی بود که از هر کدام یک سویه جدا شد. در مورد نمونه های پرسنل بیشترین سویه جدا شده از سواپ بینی (۱۳ سویه) و کم ترین سویه ایزوله از دست (۲ سویه) و در نمونه های محیطی بیشترین سویه جدا شده، تحت بیمار (۴ سویه) بود (جدول ۱).

جدول شماره ۱. نوع نمونه های اخذ شده از بیماران بالینی و تعداد سویه های جدا شده

تعداد سویه های جدا شده استافیلوکوک اورئوس	نوع نمونه
	بیماران بالینی
۲۰	ادرار
۲۰	خون
۳	تراشه
۲	زخم
۱	بیوپسی
۲	مایع مغزی نخاعی
۱	ترشحات چشم
۱	آبسه
۵۰	کل

با استفاده از دیسک آنتی بیوتیکی جنتامایسین (۱۰ mg میلی گرم) و نکومایسین (۳۰ mg میلی گرم)، سیپروفلوکسازین (۵ mg میلی گرم) و اریترومایسین (۱۵ mg میلی گرم) (مست، انگلستان) تعیین و مطابق جدول استاندارد تفسیر گردید (۱۲). ایزوله هایی که حداقل به سه دارو از خانواده های مختلف آنتی بیوتیکی مقاوم بودند به عنوان سویه های دارای مقاومت دارویی چندگانه یا Multi - Drug Resistant (MDR) انتخاب شدند (۱۷-۱۳).

روش E-test

علاوه بر این تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد آنتی بیوتیک و نکومایسین با استفاده از روش E-test تعیین گردید. برای این منظور از نوارهای E-test خریداری شده از شرکت Liofilchem Italy ایتالیا استفاده شد. جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد، بعد از رشد باکتری در پلیت های ۱۰ سانتی متری حاوی محیط مولر هیتتون آگار تعدادی از کلونی های خالص را به کمک یک سواپ استریل برداشته و در سرم فیزیولوژی استریل مخلوط کردیم تا سوسپانسیونی یکنواخت تهیه شود. بعد از تهیه سوسپانسیون از کشت تازه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با کدورتی معادل لوله ۰/۵ مک فارلند، شاهد تهیه گردید و سپس به کمک یک سواپ استریل از غلظت ۰/۵ مک فارلند باکتری بر روی محیط مولر هیتتون آگار از چهار جهت با چرخش ۶۰ درجه عمل کشت به صورت یکنواخت انجام شد. بعد از این که باکتری کاملاً جذب محیط شد به کمک یک پنس استریل، نوار حاوی گرادیان غلظت و نکومایسین بر روی محیط مولر هیتتون آگار قرار داده شد و محیط کشت به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری گردید (در این هنگام نوار E-test نایستی جابجا شود). نهایتاً با بررسی پلیت ها عددی که در مقابل محل تلاقی هاله عدم رشد با نوار E-test قرار داشت به عنوان مقدار کمی حداقل غلظت مهارکنندگی رشد در نظر گرفته شد (۱۸). براساس توصیه استاندارد در صورتی که مقدار عددی حداقل غلظت مهار کنندگی رشد برای ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس $\leq 8-4$ و ≥ 16 میکروگرم بر میلی لیتر باشد باکتری به ترتیب حساس، دارای مقاومت حد واسط و مقاوم به نکومایسین در نظر گرفته می شود (۲۰-۱۹).

جدول ۲. نوع نمونه های اخذ شده از کارکنان بیمارستان و تعداد سویه های جدا شده را نشان می دهد.

نوع نمونه	تعداد سویه های جدا شده استافیلوکوک اورئوس
کارکنان بیمارستان	
سوپاب بینی	۱۳
سوپاب گلو	۳
دست	۲
کل	۱۸

جدول ۳- تعیین میزان مقاومت به ونکومايسين در نمونه های بیماران در دو بیمارستان آموزشی توحید و بعثت

بیمارستان	نوع نمونه گرفته شده	شماره فرم	حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (میلی گرم بر لیتر)	بیمارستان		نوع نمونه گرفته شده	شماره فرم	حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (میلی گرم بر لیتر)
				توحید	بعثت			
	بیماران بالینی					بیماران بالینی		
	خون	H113	۱		+	ادرار	H1	۰/۵
	خون	H121	۱		+	ادرار	H2	۰/۵
	خون	H123	۱		+	ادرار	H3	۱
	خون	H124	۱/۵		+	خون	H9	۰/۵
	خون	H125	۱		+	ادرار	H27	۰/۵
	خلط	H126	۰/۷۵		+	خون	H32	۰/۱۹
	خون	H127	۰/۷۵		+	زخم	H35	۰/۵
	ادرار	H129	۰/۷۵		+	آبسه	H47	۰/۷۵
	ادرار	H136	۱		+	ادرار	H51	۱
	ادرار	H137	۰/۷۵		+	ادرار	H55	۱
	ادرار	H139	۰/۵		+	خون	H79	۰/۷۵
	ادرار	H140	۰/۷۵		+	ادرار	H80	۰/۷۵
	ادرار	H141	۱/۵		+	زخم	H81	۰/۵
	خون	H143	۰/۵		+	ادرار	H82	۰/۵
	خون	H144	۱		+	ادرار	H83	۰/۷۵
	خون	H146	۱/۵		+	ادرار	H84	۰/۵
	خون	H148	۰/۵		+	ادرار	H85	۰/۱۹
	بیوپسی	H150	۰/۷۵		+	خون	H77	۰/۵
	خراط	H151	۱		+	خون	H78	۱
	ادرار	H152	۰/۵		+	خون	H88	۱
	CSF	H153	۰/۵		+	خون	H92	۰/۷۵
	CSF	H154	۰/۵		+	ادرار	H103	۰/۷۵
	ترشحات چشم	H155	۰/۷۵		+	خون	H104	۰/۷۵
					+	خون	H105	۰/۵
	خون	H156			+	خون	H106	۱
					+	ادرار	H111	۰/۷۵



جدول ۴- تعیین میزان مقاومت به ونکومايسين در نمونه های محیط بیمارستان در دو بیمارستان آموزشی توحید و بعثت به روش حداقل غلظت مهارکنندگی رشد

بیمارستان	بخش مربوط به وسایل بیمارستان	نوع نمونه گرفته شده	شماره فرم	حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (میلی گرم بر لیتر)
بعثت	توحید			
	+	اتاق عمل	M9	۱
	+	اتاق عمل	M10	۰/۷۵
	+	اتاق عمل	M12	۰/۷۵
+		اورژانس ۲	M17	۰/۵
+		اورژانس کودکان	M27	۰/۳۸
+		اورژانس کودکان	M30	۰/۷۵
+		داخلی کودکان	M31	۱
+		ICU 1	M32	۰/۵
+		ICU 1	M33	۰/۵
+		ICU 1	M34	۰/۵
+		ICU 1	M35	۰/۷۵
+		ICU 2	M36	۱
+		ارتوپدی مردان	M39	۰/۷۵
+		مغز و اعصاب	M42	۰/۵
+		PICU	M46	۰/۷۵
+		اتاق ۱ جراحی	M47	۱
+		اتاق ۱ جراحی	M48	۰/۵
+		اتاق ۳ جراحی	M49	۰/۳۸
+		اتاق ۳ جراحی	M50	۱
	+	CCU	M55	۱/۵

دامنه حداقل غلظت مهارکنندگی رشد از میان ۸۸ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس بین ۱/۵-۰/۱۹ متغیر بود و مطابق استاندارد CLSI همه سویه ها حساس به ونکومايسين بودند (حداقل غلظت مهارکنندگی رشد ≤ 2) (تصویر ۱).

این مطالعه به منظور تعیین الگوی حساسیت استافیلوکوک‌های اورئوس ایزوله شده از نمونه های بیماران بالینی، کارکنان و محیط بیمارستان های آموزشی شهرستان سنندج نسبت به ونکومایسین و تعیین حداقل غلظت مهار کننده ونکومایسین به روش E-test طراحی و انجام شد. بدیهی است نتایج حاصل از این تحقیق می تواند در ارزیابی وضعیت مقاومت به ونکومایسین در استان کردستان و نیز برنامه ریزی های نظام سلامت کشور جهت کاربرد صحیح این آنتی بیوتیک در درمان عفونت ها، نقش مهمی را ایفا نماید. از آنجایی که عفونت با باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بسیار شایع بوده و توکسین های تولید کننده این باکتری مشکلات و معضلات فراوانی را در سطح جامعه به وجود می آورد و همچنین بروز مقاومت های آنتی بیوتیکی آن را به یک معضل در درمان تبدیل نموده است (۱۴)، لذا ضرورت دارد با استفاده از روش های تشخیصی مناسب، عامل عفونت به درستی شناسایی گردد.

پس انجام مطالعات مولکولی می تواند در این زمینه بسیار کمک کننده باشد.

به نظر می رسد که دست یابی به یک روش سریع و تکرار پذیر در مراکز پزشکی به تشخیص سریع و کنترل به موقع سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک این باکتری کمک خواهد کرد. با مطالعات بیشتر و دقیق تر در مراکز تحقیقاتی می توان گام های اساسی در این زمینه برداشت.

تشکر و قدردانی

این مقاله بر گرفته از پایان نامه آقای عباس منافی، کارشناس ارشد میکروبیولوژی شناسی پزشکی می باشد. بدین وسیله نویسندگان از حمایت معاونت آموزش و تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کردستان صمیمانه تقدیر و تشکر به عمل می آورند.

که همه سویه ها به ونکومایسین حساس هستند. در این مطالعه همچنین شیوع ژن پنتون - والتین لکوسیدین در میان سویه های اکتسابی از جامعه ۱۴/۳٪ بود (۲۴). همچنین مطالعه ای در سال ۲۰۱۲ در اصفهان با عنوان فراوانی و مقاومت آنتی بیوتیکی استافیلوکوک اورئوس ناقلین بین افراد بزرگسال نشان داد که از بین ۴۲ سویه ایزوله شده از افراد ناقل هیچ سویه ای مقاوم به ونکومایسین گزارش نگردید (۱). اما در مطالعه ای که در مالزی با عنوان شیوع سویه های استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین ایزوله شده از دانشجویان، از میان ۸۵ نمونه اخذ شده ۸٪ این سویه ها به ونکومایسین مقاوم بودند. این نتیجه متفاوت با نتیجه مطالعه حاضر می باشد (۲۵). همچنین چندین گزارش دیگر از سویه های با مقاومت بینابینی در ایالات متحده (۲۶) فرانسه (۲۷) برزیل (۲۸) کره (۲۹) و در مورد سویه های مقاوم عمدتاً از آمریکا و هند گزارش هایی وجود دارد (۲۴). گزارش های زیادی راجع به میزان شیوع سویه های با مقاومت بینابینی در ایران وجود ندارد. به هر حال در سال ۲۰۰۸ صادقی و همکاران میانگین شیوع سویه ها با مقاومت بینابینی در چهار بیمارستان آموزشی تهران را ۱/۸٪ گزارش کردند. در این مطالعه ۵ سویه با مقاومت بینابینی (۲/۹٪) در میان ۱۷۱ ایزوله استافیلوکوک اورئوس گزارش گردید (۳۰). با توجه به گزارش های متفاوت از شیوع ژن مقاومت به وانکومایسین و این که میزان شیوع در شرایط مختلف جغرافیایی بسیار متفاوت است (۱۸). با توجه به این که در سال های اخیر مواردی از جداسازی سویه های استافیلوکوکی با حساسیت کاهش یافته نسبت به ونکومایسین از نقاط مختلف ایران گزارش شده و از سوی دیگر این آنتی بیوتیک به عنوان داروی انتخابی در درمان عفونت های استافیلوکوک اورئوس و استافیلوکوک های کوآگولاز مطرح است (۴). پایش مداوم وضعیت ایزوله های کشور از این نظر برای اتخاذ استراتژی های مناسب درمانی به ویژه در عفونت های بیمارستانی اهمیت بالایی خواهد داشت.



References

- 1- Moghadam SO, Havaei SA, Pourmand MR. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying panton-valentine leukocidin gene in cutaneous infections in the city of Isfahan. *J Med Bacteriol* 2012;1:9-16.
- 2- O'Sullivan MV, Cai Y, Kong F, Zeng X, Gilbert GL. Influence of disk separation distance on accuracy of the disk approximation test for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus* spp. *J Clin Microbiol* 2006;44:4072-6.
- 3- Xu Z, Li L, Shi L, Shirtliff ME. Class 1 integron in staphylococci. *Molecul Biol Rep* 2011;38:5261-79.
- 4- Holmes A, Ganner M, McGuane S, Pitt T, Cookson B, Kearns A. *Staphylococcus aureus* isolates carrying Panton-Valentine leukocidin genes in England and Wales: frequency, characterization, and association with clinical disease. *J Clin Microbiol* 2005;43:2384-90.
- 5- Malachowa N, Kohler PL, Schlievert PM, Chuang ON, Dunny GM, Kobayashi SD, et al. Characterization of a *Staphylococcus aureus* surface virulence factor that promotes resistance to oxidative killing and infectious endocarditis. *Infect Immun* 2011;79:342-52.
- 6- Lina G, Piémont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter M-O, Gauduchon V, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin—producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis* 1999;29:1128-32.
- 7- Havaei SA, Azimian A, Fazeli H, Naderi M, Ghazvini K, Samiee SM, et al. Genetic characterization of methicillin resistant and sensitive, vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* strains isolated from different Iranian Hospitals. *ISRN Microbiol* 2012; 1-6.
- 8- Tiwari HK, Sen MR. Emergence of vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) from a tertiary care hospital from northern part of India. *BMC Infect Dis* 2006;6:156.
- 9- Sancak B, Ercis S, Menemenlioğlu D, Çolakoğlu Ş, Haşçelik G. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin in a Turkish university hospital. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:519-23.
- 10- Leonard SN, Cheung CM, Rybak MJ. Activities of ceftobiprole, linezolid, vancomycin, and daptomycin against community-associated and hospital-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:2974-6.
- 11- Ahmadishoar S, Nahaei M, Amirmozafari N. [Sensitivity of staphylococcus aureus strains isolated from clinical specimens against vancomycin by using E-test in Tabriz]. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences of Health Services* 2008; 30:17-23.
- 12- Facklam R, Collins M. Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. *J Clin Microbiol* 1989;27:731-4.
- 13- Sadeghi J, Mansouri S. [Molecular characterization and antibiotic resistance of clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* obtained from Southeast of Iran (Kerman)]. *APMIS* 2014;122(5):405-11.
- 14- Howden BP, Davies JK, Johnson PD, Stinear TP, Grayson ML. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23: 99-139.
- 15- Andersson DI, Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance?. *Nat Rev Microbiol* 2010;8(4): 260-71.
- 16- Oliveira PS, Souza SG, Campos GB, da Silva DC, Sousa DS, Araújo SP, et al. Isolation, pathogenicity and disinfection of *Staphylococcus aureus* carried by insects in two public hospitals of Vitória da Conquista, Bahia, Brazil. *Braz J Infect Dis* 2014;18:129-36.
- 17- Dezfulian A, Aslani MM, Oskoui M, Farrokhi P, Azimirad M, Dabiri H, et al. Identification and characterization of a high vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* harboring VanA gene cluster isolated from diabetic foot ulcer. *Iran J Basic Med Sci* 2012;15:803-6.
- 18- Walsh TR, Bolmström A, Qwärnström A, Ho P, Wootton M, Howe RA, et al. Evaluation of current methods for detection of staphylococci with reduced susceptibility to glycopeptides. *J Clin Microbiol* 2001;39:2439-44.
- 19- Facklam R, Collins M. Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. *J Clin Microbiol* 1989;27:731-4.



- 20- Saffari M, Jokar M, Shajary GR, Piroozmand A, Mousavi SGA. [Minimum inhibitory concentration of vancomycin in *Staphylococcus aureus* isolates collected from clinical samples of Shahid Beheshti hospital, kashan during 2009]. *Feyz Journals of Kashan University of Medical Sciences* 2010;14: 234-41.
- 21- Rennie R, Turnbull L, Brosnikoff C, Cloke J. First comprehensive evaluation of the MIC evaluator device compared to Etest and CLSI broth microdilution for MIC testing of aerobic Gram-positive and Gram-negative bacterial species. *J Clin Microbiol* 2012;50:1147-52.
- 22- Japoni-Nejad A, Rezazadeh M, Kazemian H, Fardmousavi N, van Belkum A, Ghaznavi-Rad E. Molecular characterization of the first community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from Central Iran. *Int J Infect Dis* 2013;17:e949-e54.
- 23- Aligholi M, Emaneini M, Jabalameli F, Shahsavan S, Dabiri H, Sedaght H. Emergence of high-level vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the Imam Khomeini Hospital in Tehran. *Med Princ Pract* 2008;17:432-4.
- 24- Japoni-Nejad A, Rezazadeh M, Kazemian H, Fardmousavi N, van Belkum A, Ghaznavi-Rad E. Molecular characterization of the first community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from Central Iran. *Int J Infect Dis* 2013;17(11):e949-e54.
- 25- Alamin BM, Ibrahim N, Nuru ST-FMH, Adnan IM. prevalence of methicillin resistant *staphylococcus aureus* (MRSA) among healthy university students. *GJBB* 2013;2: 75-81.
- 26- Walsh TR, Howe RA. The prevalence and mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Ann Rev Microbiol* 2002;56: 657-75.
- 27- Ploy M, Grelaud C, Martin C, De Lumley L, Denis F. First clinical isolate of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a French hospital. *The Lancet*. 1998;351:1212.
- 28- Oliveira GA, Dell'Aquila AM, Masiero RL, Levy CE, Gomes MS, Cui L, et al. Isolation in Brazil of nosocomial *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin. *Infect Cont Hosp Ep* 2001;22:443-8.
- 29- Kim M-N, Pai CH, Woo JH, Ryu JS, Hiramatsu K. Vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in Korea. *J Clin Microbiol* 2000;38:3879-81.
- 30- Saderi H, Owlia P, Maleki Z, Habibi M, Rahmati N. Susceptibility to vancomycin in *Staphylococcus aureus* isolated from patients of four university-affiliated hospitals in Tehran. *Iran J Pathol* 2008;3:161-9.

