

تایپینگ و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلیم واجد مقاومت دارویی چندگانه جداسازی شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در تهران در سالهای ۱۴۰۰ و ۱۴۰۱

فاتح رحیمی^{۱*}، ساناز خاشعی^۲

۱- دکتری تخصصی باکتری شناسی، دانشیار بخش میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوریهای زیستی، دانشگاه اصفهان

۲- دانشجوی دکتری تخصصی باکتری شناسی، گروه میکروبیشناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

*نشانی برای مکاتبه: f.rahimi@sci.ui.ac.ir

پذیرش برای چاپ: پاییز ۱۴۰۳

دریافت مقاله: تابستان ۱۴۰۳

چکیده

سابقه و هدف: عفونتهای دستگاه ادراری از شایعترین عفونتهای باکتریایی در انسان محسوب می شوند و تشکیل بیوفیلیم یکی از مهمترین سازوکارهای نرخ بالای عود عفونت و مقاومت ضد میکروبی مرتبط با عفونتهای ادراری به شمار می رود. استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین به عنوان یک باکتری بیماریزای بسیار مهم شناخته می شود که می تواند باعث ایجاد عفونتهای ادراری اکتسابی از جامعه و بیمارستان با میزان مرگ و میر بالا شود. در مطالعه حاضر، فراوانی، الگوهای مقاومت آنتی بیوتیکی و انتشار کلونال سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلیم مقاوم به چند دارو در بیماران مبتلا به عفونت ادراری در تهران تعیین شدند.

روش کار: در سالهای ۱۴۰۱-۱۴۰۰ در مجموع ۲۹۱ ایزوله مشکوک به استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شده از نمونه های ادراری بیماران مبتلا به عفونت ادراری از یک آزمایشگاه پاتوبیولوژی در شهر تهران جمع آوری گردید و با استفاده از آزمون واکنش زنجیره ای پلی مرز (PCR) توسط پرایمرهای اختصاصی ژن *nucA* مورد تأیید قرار گرفتند. توانایی تولید بیوفیلیم در میان سویه های تأیید شده با استفاده از آزمونهای کیفی ژلوز قرمز کنگو و کمی میکروتیتزر پلیت مورد ارزیابی قرار گرفت. مقاومت سویه های مولد بیوفیلیم نسبت به دیسک سفوکسی تین بر اساس دستورالعملهای موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) تعیین گردید و سپس مقاومت سویه های مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلیم نسبت به ۱۶ آنتی بیوتیک به روش انتشار دیسک مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین، حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد آنتی بیوتیکهای اگزاسیلین و ونکومايسين نیز به روش *E-test* مشخص گردید. جهت تایپینگ سویه ها از روشهای *PhiP* تایپینگ، پروفاز تایپینگ، *SCCmec* تایپینگ و *CCR* تایپینگ استفاده شد.

یافته ها: در این مطالعه تمام سویه ها به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس مورد شناسایی قرار گرفتند و ۱۰۵ سویه (۳۶ درصد) نیز به عنوان سویه های مولد بیوفیلیم انتخاب شدند که در این میان ۶۶ درصد (۵۷ سویه) مقاوم به متی سیلین و واجد ژن *meCA* بودند. تمامی سویه ها نسبت به ۱۳-۸ آنتی بیوتیک مقاومت نشان دادند و واجد مقاومت دارویی چندگانه بودند. مقاومت نسبت به آنتی بیوتیکهای پنی سیلین *G*، اریترومايسين، سیپروفلوکساسین، تورامایسین، کلیندامایسین و کانامایسین، ۱۰۰ درصد بود و هیچکدام از سویه ها نیز نسبت به ونکومايسين، لینزولاید، کلرامفنیکل و کینوپریستین-دالفوپریستین مقاوم نبودند. در مجموع بیست و یک *PhiP* تایپ متشکل از هفت *CT* و چهارده *ST* نیز در میان سویه ها شناسایی شد که *CT1* و *CT2* فراوانترین تایپها بودند. همچنین، *SCCmec* تایپهای *I-III*، تایپهای *1-3 ccr*، ۴ پروفاز تایپ (*SGF*، *SGB*) و *SGFb* و *SGFa* ۲ الگوی پروفازی نیز در میان سویه ها شناسایی گردید که مؤید منشاء بیمارستانی این سویه ها بود.

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده فراوانی بالای سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلیم و واجد مقاومت دارویی چندگانه در میان بیماران مبتلا به عفونت ادراری در شهر تهران است. این سویه ها که اکتسابی از بیمارستان بوده و به طور بالقوه قادر به تولید طیف گسترده ای از عوامل حدت می باشند یک نگرانی عمده بهداشتی در شهر تهران محسوب می شوند و مؤید اهمیت اجرای صحیح سیاستها و اقدامات مؤثر در زمینه کنترل و پیشگیری از عفونت به منظور کاهش میزان انتشار کلونال این سویه ها از بیمارستانها در جامعه می باشد.

واژگان کلیدی: عفونت ادراری، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، بیوفیلیم، تایپینگ، ژلوز قرمز کنگو، میکروتیتزر پلیت، مقاومت

دارویی چندگانه

مقدمه

عفونتهای دستگاه ادراری، پس از عفونتهای دستگاه تنفسی، به عنوان دومین عفونت شایع باکتریایی در جوامع انسانی در تمامی سنین (کودکان، بزرگسالان و افراد مسن) و به ویژه در خانمها به شمار می روند که سالیانه تقریباً ۲۵۰ میلیون نفر در جهان به این عفونت مبتلا می شوند و به عنوان یک معضل بهداشتی مهم در سراسر جهان از اهمیت فراوانی برخوردار می باشد. تخمین زده می شود که در سال حدود شش میلیون بیمار به صورت سرپایی با عفونت ادراری به آزمایشگاه ها مراجعه می کنند که از این تعداد سیصد هزار نفر نیازمند بستری و درمان در بیمارستانها هستند (۱). خانمها به دلیل ساختار آناتومیک و فیزیولوژیکی خاص معمولاً بیشتر در معرض ابتلا به عفونتهای ادراری قرار دارند و تخمین زده می شود که حدود ۴۰ درصد از خانمها در طول زندگی خود حداقل سابقه یک مرتبه ابتلا به عفونت ادراری را دارند (۲). عفونتهای ادراری مشتمل بر عفونت مجرای سیستمیت^۱ (عفونت مثانه)، پیلونفریت^۲ (عفونت کلیه ها) و پروستاتیت^۳ (التهاب پروستات) می باشند (۳). طیف وسیعی از باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی از عوامل ایجاد عفونت ادراری شناخته می شوند، که در این میان *استافیلوکوکوس اورئوس*^۴ به عنوان بیماریزاترین گونه جنس *استافیلوکوکوس* در انسان به دلیل داشتن طیف وسیعی از عوامل حدت^۵ مختلف امکان حضور در نقاط مختلف بدن از جمله دستگاه ادراری و تناسلی را داشته و باعث ایجاد مشکلات عدیده ای در جامعه و بیمارستانها در سراسر جهان می شود (۴). در مقایسه با سایر باکتریها، عفونتهای ادراری ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* از شیوع پایینتری (۵-۱۰ درصد) برخوردار می باشد، اما با این وجود این باکتری در گروه های جمعیتی خاصی مانند افراد مسن و واجد سوند در مجاری ادراری از شیوع بالاتری برخوردار می باشد. با توجه به مقاومت آنتی بیوتیکی بالا، وجود مجموعه گسترده ای از عوامل حدت و همچنین توانایی تشکیل بیوفیلم، عدم درمان مناسب عفونتهای ادراری ناشی از این سویه ها می تواند منجر به مرگ و میر بیماران شود (۵).

سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* معمولاً به صورت منفرد و جداگانه رشد نمی کنند بلکه در طی کلونیزاسیون^۶ و ایجاد عفونت قادر به تشکیل اجتماعات میکروبی پیچیده و منحصر به فردی با عنوان بیوفیلم می باشند که به باکتریها توانایی بقاء در شرایط نامناسب دستگاه ادراری و تناسلی، مقاومت در برابر عوامل ضد میکروبی و همچنین فرار از سیستم ایمنی میزبان را می دهد و به گسترش عفونت کمک شایانی می نماید. بیوفیلماهای باکتریایی نقش مهمی در عفونتهای ادراری دارند و به عنوان عامل ایجاد عفونتهای حاد و پایدار شناخته می شوند. یکی از مهمترین چالشها و نگرانیهای نظام سلامت در ارتباط با بیوفیلم، مقاومت ضد میکروبی بالای این ساختارها است، زیرا سویه های حاضر در کنسرسیوم^۸ تشکیل شده با داشتن عوامل مقاومتی مختلف نسبت به آنتی بیوتیکها و بسیاری از عوامل ضد میکروبی، به عنوان یک مخزن بسیار مهم عناصر ژنتیکی مقاومت محسوب می شوند که از طریق انتشار و انتقال مقاومت به سایر سویه های کامسال^۹ و بیماریزا منجر به گسترش مقاومت آنتی بیوتیکی می شوند (۶). به دلیل سازوکارهای مختلف، بیوفیلم می تواند تا ۱۰۰۰ برابر بیشتر از حالت پلانکتونیک^۷ در برابر آنتی بیوتیکهای مختلف از جمله متی سیلین مقاومت نشان دهد (۷).

متی سیلین نخستین بار در سال ۱۹۶۰ جهت درمان عفونتهای ناشی از سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به پنی سیلین مورد استفاده قرار گرفت و مدت کوتاهی پس از آن اولین سویه مقاوم به متی سیلین شناسایی گردید (۸). مقاومت نسبت به متی سیلین ناشی از حضور ژنهای *mecA* و *mecC* است که به عنوان بخشی از یک کاست ژنتیکی بزرگ و متحرک (کاست کروموزومی ژن *mec* *استافیلوکوکوس*)^{۱۰} شناخته می شوند (۹). *SCCmec* به طور کلی متشکل از دو مجموعه ژنی *ccr* (۹ تایپ) و مجموعه ژنی *mec* (کلاس A-E) می باشد. تا این لحظه ۱۵ تایپ مختلف از *SCCmec* بر اساس آرایش مجموعه های ژنی *mec* و *ccr* گزارش شده است که می تواند به عنوان یک ابزار مناسب و سریع جهت دسته بندی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی

^۱ Urethritis

^۲ Cystitis

^۳ Pyelonephritis

^۴ Prostatitis

^۵ *Staphylococcus aureus*

^۶ Virulence factors

^۷ Colonization

^۸ Consortium

^۹ Commensal

^{۱۰} Planktonic

^۱ *Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec)*

پاتوبیولوژی خصوصی در مرکز شهر تهران، در نهایت ۲۹۱ ایزوله /استافیلوکوکوس اورئوس (۳ درصد) جداسازی و جمع آوری گردید و پلیتهای کشت باکتریایی به صورت هفتگی به آزمایشگاه باکتری شناسی دانشگاه اصفهان ارسال شدند. تمامی ایزوله ها در آزمایشگاه مربوطه با استفاده از آزمونهای معمول بیوشیمیایی از قبیل رنگ آمیزی گرم، آزمونهای کاتالاز و اکسیداز، کشت بر روی محیطهای مانیتول سالت آگار و DNase و آزمون کواگولاز (به روش لوله) مورد شناسایی و تأیید قرار گرفته بودند. بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه نیز همگی بیماران سرپایی و فاقد سوند در مجرای ادراری بودند که با علائم اولیه عفونت ادراری شامل کدورت یا تغییر رنگ ادرار، تب، بعضاً لرز، سوزش به هنگام دفع و تکرر ادرار توسط متخصص اورولوژیست یا متخصص زنان به آزمایشگاه مورد نظر ارجاع داده شدند. همچنین، ۱۵۴ ایزوله (۵۳ درصد) از نمونه های ادراری خانمها و ۱۳۷ ایزوله (۴۷ درصد) از نمونه های آقایان جداسازی شده بودند. در آزمایشگاه باکتری شناسی دانشگاه اصفهان، در ابتدا تمامی ایزوله ها بر روی محیط کلمبیا آگار (Merck, Germany) کشت داده شدند و پس از اطمینان از خالص بودن کلنیها، به منظور شناسایی و تأیید آنها از آزمون PCR و پرایمرهای اختصاصی ژن *nucA* استفاده گردید (۱۲) و سویه های تأیید شده جهت بررسی بیشتر در لوله های کرایو^{۱۴} واجد محیط مغذی (نوترینت برات^{۱۵} Merck, Germany) و گلیسرول و در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره شدند.

بررسی تشکیل بیوفیلم

در این مطالعه جهت بررسی توانایی تشکیل بیوفیلم در سویه های /استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شده از نمونه های ادراری که مورد تأیید قرار گرفته بودند، از دو آزمون کیفی ژلوز قرمز کنگو و کمی میکروتیتر پلیت بر اساس پروتکل پیشین رحیمی و همکاران استفاده شد (۱۲). بر این اساس در آزمون کیفی سویه های /استافیلوکوکوس اورئوس به سه دسته اسلایم مثبت (کلنیهای مشکی)، اسلایم مشکوک (کلنیهای قرمز تیره) و اسلایم منفی (کلنیهای قرمز روشن) و با استفاده از آزمون کمی نیز سویه ها به ۴ دسته بیوفیلم قوی ($570 \leq OD$)، متوسط ($0.2 < OD < 570$)، ضعیف ($0.2 \leq OD$) و منفی ($OD \leq 0.2$)، تقسیم بندی شدند.

سیلین مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به شیوع و گسترش روزافزون سویه های /استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در بیمارستانها و در جامعه در شهرها و کشورهای مختلف، تایپینگ سویه ها و آگاهی از انتشار کلونال این سویه ها می تواند به کنترل، کاهش و حذف آنها کمک شایانی نماید. سیستم Phene Plate (PhP) یا PHP تایپینگ یکی از روشهای استاندارد فنوتایپی جهت تایپینگ و دسته بندی سویه های بیماریزا بر اساس واکنشهای بیوشیمیایی مختلف است که در این روش تمامی سویه های متعلق به یک گروه کلونال واجد خصوصیتهای متابولیکی مشابهی هستند. برای این منظور، کینتیک^{۱۶} واکنشهای بیوشیمیایی مختلف (انگشت نگاری بیوشیمیایی) با استفاده از پلیتهای ۹۶ خانه واجد سوسترهای مشخص و از پیش آماده شده که در انتهای هر چاهک اندود شده اند در بازه های زمانی ۱۶، ۴۰ و ۶۴ ساعت مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار می گیرد و در انتها دندروگرام^{۱۷} مربوطه با استفاده از نرم افزار PhP Win رسم خواهد شد (۱۰).

علیرغم اهمیت مطالعات اپیدمیولوژیک در به کارگیری رویکردهای مناسب جهت پیشگیری، کنترل و درمان عفونتهای ناشی از سویه های /استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شده از نمونه های ادراری، اما همچنان داده های کافی در ارتباط با توانایی تشکیل بیوفیلم توسط آنها، الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و کلون تایپهای غالب و در گردش در مراکز درمانی در ایران وجود ندارد (۱۱). بنابراین، این مطالعه با هدف تایپینگ با روشهای مولکولی و مقایسه آن با روش بیوشیمیایی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های /استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلم جداسازی شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری مراجعه کننده به یک آزمایشگاه پاتوبیولوژی خصوصی در شهر تهران در سالهای ۱۴۰۰-۱۴۰۱ به انجام رسیده است.

مواد و روشها

جمع آوری و شناسایی ایزوله های /استافیلوکوکوس اورئوس

جهت انجام این مطالعه در یک بازه زمانی ۲۰ ماهه از تیر ۱۴۰۰ لغایت بهمن ۱۴۰۱ از مجموع ۹۵۷۲ نمونه ادرار (آلوده به جنسها و گونه های مختلف باکتریایی) متعلق به بیماران مبتلا به عفونت ادراری مراجعه کننده به یک آزمایشگاه

تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی

پس از بررسی توانایی تشکیل بیوفیلم سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس*، مقاومت سویه های مولد بیوفیلم نسبت به آنتی بیوتیک سفوکسی تین (۳۰ میکروگرم) به روش انتشار دیسک و بر اساس دستورالعملهای CLSI تعیین گردید. سپس، سویه های مقاوم به متی سیلین جهت بررسی بیشتر انتخاب شدند. همچنین، به منظور تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلم نسبت به ۱۶ آنتی بیوتیک توصیه شده توسط CLSI از آزمون انتشار دیسک استفاده گردید. آنتی بیوتیکهای مورد استفاده در این مطالعه شامل آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، پنی سیلین (۱۰ واحد)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، تری متوپریم-سولفامتوکسازول (۱۲۵-۲۳/۷۵ میکروگرم)، توברامایسین (۱۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، ریفامپین (۵ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، کانامایسین (۳۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم)، کینوپریستین-دالفوپریستین (۱۵ میکروگرم)، لینزولاید (۳۰ میکروگرم)، مینوسایکلین (۳۰ میکروگرم) و نیتروفورانتوئین (۳۰۰ میکروگرم) (Liofilchem, Italy) بودند. به منظور تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد آنتی بیوتیکهای اگزا سیلین و ونکوما یسین از E-test و بر اساس استانداردهای CLSI استفاده شد و حداقل غلظت ممانعت از رشد ونکوما یسین برای سویه های مقاوم و واجد مقاومت بینابینی به ترتیب ۱۶ $\geq$ و ۸-۴ میکروگرم و برای اگزا سیلین ۴ $\geq$ میکروگرم تعیین گردید (۱۳).

استخراج DNA

در مطالعه حاضر به منظور استخراج DNA از ۲۹۱ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* جمع آوری شده جهت انجام آزمونهای PCR مختلف، از روش جوشاندن بر اساس پروتکل پیشین رحیمی و همکاران استفاده گردید (۱۴).

آزمونهای PCR

شناسایی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس*

جهت تأیید سویه هایی که در آزمایشگاه پاتوبیولوژی مورد نظر به عنوان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد شناسایی قرار گرفته بودند، از آزمون PCR و پرایمرهای اختصاصی ژن *nucA* (جدول ۱) بر اساس دستورالعمل رحیمی و همکاران استفاده شد (۴). وزن باند مورد انتظار برای ژن مورد نظر، ۴۰۰ جفت باز بود.

تعیین وجود ژن *SCCmec*، *mecA* تایپینگ و *ccr*

تایپینگ سویه های مقاوم به متی سیلین

پس از تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مولد بیوفیلم نسبت به سفوکسی تین، بررسی حضور ژن *mecA* در میان این سویه ها با آزمون PCR و با استفاده از جفت پرایمرهای اختصاصی این ژن (جدول ۱) بر اساس دستورالعمل رحیمی و همکاران، انجام گرفت. به منظور تعیین حضور *SCCmec* تایپهای مختلف I، II، III، IVa-IVd و V و همچنین *ccr* تایپهای مختلف ۱، ۲، ۳ و ۵ در میان سویه های مقاوم به سفوکسی تین و واجد ژن *mecA* از دو آزمون multiplex-PCR جداگانه و پرایمرهای اختصاصی هر تایپ (جدول ۱) بر اساس پروتکلهای پیشین استفاده گردید (۱۲).

تعیین حضور پروفاز تایپهای مختلف در میان سویه ها

در این مطالعه به منظور پروفاز تایپینگ و بررسی حضور پروفاز تایپهای SGA، SGB، SGF، SGFa، SGFb، SGL و SGD در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلم از آزمون multiplex-PCR و جفت پرایمرهای اختصاصی ژن هر تایپ (جدول ۱) استفاده گردید (۱۵).

بررسی وجود ژن *pvl*

جهت تعیین حضور ژن *pvl* در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مولد بیوفیلم مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه از آزمون PCR و پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) بر اساس دستورالعمل پیشین استفاده گردید (۱۶).

جدول ۱- توالی پرایمرها و برنامه حرارتی مورد استفاده در آزمونهای PCR.

نام پرایمر	توالی پرایمر	طول قطعه (جفت باز)	برنامه حرارتی
<i>nucA</i>	F: 5'-AGTTCAGCAAATGCATCACA-3' R: 5'-TAGCCAAGCCTTGACGAACT-3'	۴۰۰	۹۴۰۰: ۵ ۰۰۰۰, ۳۰ ۰۰۰۰۰۰ (۹۴۰۰: ۴۵ ۰, ۶۲۰۰: ۴۵ ۰, ۷۲۰۰: ۳۰ ۰), ۷۲۰۰: ۷ ۰۰۰
<i>mecA</i>	F: 5'-GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA-3' R: 5'-CCAATTCCACATTGTTTCGGTCTAA-3'	۳۱۰	۹۴۰۰: ۱۰ ۰۰۰۰, ۲۵ ۰۰۰۰۰۰ (۹۴۰۰: ۴۵ ۰, ۵۵۰۰: ۴۵ ۰, ۷۲۰۰: ۱۰۵ ۰), ۷۲۰۰: ۸ ۰۰۰
SGA	F: 5'-TATCAGGCGAGAATTAAGGG-3' R: 5'-CTTTGACATGACATCCGCTTGAC-3'	۷۴۴	
SGB	F: 5'-ACTTATCCAGGTGGYGTATTG-3' R: 5'-TGTATTTAATTCGCCGTTAGTG-3'	۴۰۵	
SGF	F: 5'-CGATGGACGGCTACACAGA-3' R: 5'-TTGTTTCAAGAACTTCCCAACCTG-3'	۱۵۵	۹۴۰۰: ۱۰ ۰۰۰۰, ۳۰ ۰۰۰۰۰۰
SGFa	F: 5'-TACGGGAAAATATTCGGAAG-3' R: 5'-ATAATCCGCACCTCATTCCT-3'	۵۴۸	(۹۴۰۰: ۱ ۰۰۰۰, ۵۵۰۰: ۹۰ ۰, ۷۰۰۰: ۹۰ ۰), ۷۰۰۰: ۱۰ ۰۰۰
SGFb	F: 5'-AGACACATTAAGTCGCACGATAG-3' R: 5'-TCTTCTCTGGCACGGTCTCTT-3'	۱۴۷	
SGD	F: 5'-TGGGCTTCATTCTACGGTGA-3' R: 5'-GTAATTTAATGAATCCACGAGAT-3'	۳۳۱	
SGL	F: 5'-GCTTAAAACAGTAACGGTGACAGTG-3' R: 5'-TGCTACATCATCAAGAACACCTGG-3'	۷۴۸	
SCCmec Type I	F: ۵'-GCTTTAAAGAGTGTCTGTTACAGG-3' R: ۵'-GTCTCTCATAGTATGACGTCC-3'	۶۱۳	
SCCmec Type II	F: ۵'-CGTTGAAGATGATGAAGCG-3' R: ۵'-CGAAATCAATGGTTAATGGACC-3'	۳۹۸	
SCCmec Type III	F: ۵'-CCATATTGTGTACGATGCG-3' R: ۵'-CCTTAGTTGTCTGTAACAGATCG-3'	۲۸۰	۹۴۰۰: ۵ ۰۰۰۰, ۱۰ ۰۰۰۰۰۰
SCCmec Type IVa	F: ۵'-GCCTTATTCGAAGAAACCG-3' R: ۵'-CTACTCTTCTGAAAAGCGTCG-3'	۷۷۶	(۹۴۰۰: ۴۵ ۰, ۶۵۰۰: ۴۵ ۰, ۷۲۰۰: ۹۰ ۰), ۲۵ ۰۰۰۰۰۰
SCCmec Type IVb	F: ۵'-TCTGGAATTACTTCAGCTGC-3' R: ۵'-AAACAATATTGCTCTCCCTC-3'	۴۹۳	(۹۴۰۰: ۴۵ ۰, ۵۵۰۰: ۴۵ ۰, ۷۲۰۰: ۹۰ ۰), ۷۲۰۰: ۱۰ min
SCCmec Type IVc	F: ۵'-ACATATTTGTATTATCGGAGAGC-3' R: ۵'-TTGGTATGAGGTATTGCTGG-3'	۲۰۰	
SCCmec Type IVd	F: ۵'-CTCAAAATACGGACCCCAATACA-3' R: ۵'-TGCTCCAGTAATTGCTAAAG-3'	۸۸۱	
SCCmec Type V	F: ۵'-GAACATTGTTACTTAAATGAGCG-3' R: ۵'-TGAAAGTTGTACCCTTGACACC-3'	۳۲۵	
Type 1 <i>ccr-βc</i> Type 1 <i>ccr-α1</i>	F: 5'-ATTGCCTTGATAATAGCCITCT-3' R: 5'-AACCTATATCATCAATCAGTACGT-3'	۶۹۵	۹۴۰۰: ۵ ۰۰۰۰, ۱۰ ۰۰۰۰۰۰
Type 2 <i>ccr-βc</i> Type 2 <i>ccr-α2</i>	F: 5'-ATTGCCTTGATAATAGCCITCT-3' R: 5'-TAAAGGCATCAATGCACAAACACT-3'	۹۳۷	(۹۴۰۰: ۴۵ ۰, ۶۵۰۰: ۴۵ ۰, ۷۲۰۰: ۹۰ ۰), ۲۵ ۰۰۰۰۰۰
Type 3 <i>ccr-βc</i> Type 3 <i>ccr-α3</i>	F: 5'-ATTGCCTTGATAATAGCCITCT-3' R: 5'-AGCTCAAAAAGCAAGCAATAGAAT-3'	۱۷۹۱	(۹۴۰۰: ۴۵ ۰, ۵۵۰۰: ۴۵ ۰, ۷۲۰۰: ۹۰ ۰), ۷۲۰۰: ۱۰ min
Type 5 <i>ccr-βc</i> Type 5 <i>ccr-α</i>	F: 5'-ATGAATTCAAAGAGCATGGC-3' R: 5'-GATTAGAATTGTCGTGATIGC-3'	۳۳۶	
<i>pvl</i>	F: 5'-ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA-3' R: 5'-GCATCAAGTGTATTGGATAGCAAAAGC-3'	۴۳۳	۹۴۰۰: ۱۰ ۰۰۰۰, ۱۰ ۰۰۰۰۰۰ (۹۴۰۰: ۴۵ ۰, ۵۵۰۰: ۴۵ ۰, ۷۲۰۰: ۷۵ ۰), ۲۵ ۰۰۰۰۰۰ (۹۴۰۰: ۴۵ ۰, ۵۰۰۰: ۴۵ ۰, ۷۲۰۰: ۷۵ ۰), ۷۲۰۰: ۱۰ min

PhP تایپینگ و انگشت نگاری بیوشیمیایی

تمام سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مولد بیوفیلیم مقاوم به متی سیلین با استفاده از روش انگشت نگاری بیوشیمیایی با وضوح بالا (PhP-CS, Sweden) که به طور خاص برای تایپ کردن سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* طراحی شده است، تایپ شدند (۹). هر پلیت ۹۶ خانه شامل ۴ مجموعه از ۲۴ سوبسترای بسیار متمایز برای افتراق سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* است. پس از تلقیح ۱۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون واجد کلنیهای باکتریایی و محیط اختصاصی بروموتیمول بلو در داخل هر چاهک، پلیتها در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند و سپس در بازه های زمانی، ۱۶، ۴۰ و ۶۴ ساعت تصاویر هر پلیت با استفاده از اسکنر اختصاصی (HP Scanjet 4890, USA) ثبت شده و در نهایت با استفاده از نرم افزار اختصاصی PhPWin تمام تصاویر اسکن شده به مقادیر عددی تبدیل شده و میانگین سه قرائت برای رسم یک دندروگرام و انگشت نگاری بیوشیمیایی برای هر سویه مورد استفاده قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل داده های آماری

در این مطالعه جهت رسم تمامی نمودارها و همچنین انجام آنالیز آماری از نرم افزار GraphPad Prism 8 و آزمون Chi-squared استفاده گردید.

نتایج

شناسایی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس*

بر اساس نتایج حاصل از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *nucA*، تمامی ۲۹۱ ایزوله جمع آوری شده از آزمایشگاه پاتوبیولوژی مورد نظر که به عنوان *استافیلوکوکوس*

اورئوس شناسایی شده بودند، واجد باند ۴۰۰ جفت بازی بودند و به عنوان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد تأیید قرار گرفتند. بنابراین نتایج حاصل از آزمونهای مولکولی (انجام گرفته در این مطالعه) و بیوشیمیایی (انجام گرفته در آزمایشگاه پاتوبیولوژی) کاملاً بر هم منطبق بودند.

بررسی تشکیل بیوفیلیم و مقاومت به سفوکسی تین

نتایج حاصل از آزمون کیفی ژلوز قرمز کنگو نشان داد که از مجموع ۲۹۱ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* تأیید شده در این مطالعه، در مجموع ۱۰۵ سویه (۳۶ درصد)، شامل ۶۲ سویه (۵۹ درصد) مولد کلنیهای سیاه رنگ (اسلایم مثبت) و ۴۳ سویه (۴۱ درصد) مولد کلنیهای قرمز تیره (اسلایم مشکوک)، بر روی محیط ژلوز قرمز کنگو بودند که به عنوان بیوفیلیم مثبت انتخاب شدند و سایر سویه ها (۶۴ درصد) که کلنیهای قرمز روشن داشتند به عنوان سویه های بیوفیلیم منفی از مطالعه حذف شدند. بر اساس نتایج حاصل از آزمون بررسی مقاومت سویه های بیوفیلیم مثبت نسبت به متی سیلین، مشخص گردید که ۵۷ سویه (۵۴ درصد) نسبت به سفوکسی تین مقاوم و همچنین واجد ژن *mecA* بودند که به عنوان سویه های بیوفیلیم مثبت مقاوم به متی سیلین، جهت بررسی بیشتر در این مطالعه انتخاب شدند (جدول ۲). بر این اساس، ۳۳ (۱۹ سویه) و ۶۷ (۳۸ سویه) درصد سویه های بیوفیلیم مثبت به ترتیب از نمونه های ادراری آقایان و خانمها ($P < 0.0001$) جداسازی شدند. همچنین، ۴۰ سویه (۷۰ درصد) با تشکیل کلنیهای سیاه رنگ به عنوان سویه های اسلایم مثبت مورد تأیید قرار گرفتند و ۳۰ درصد سویه ها نیز اسلایم مشکوک و واجد کلنیهای قرمز تیره بودند.

جدول ۲- فراوانی سویه های بیوفیلیم مثبت به روش ژلوز قرمز کنگو در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین جداسازی شده از بیماران بر اساس جنس.

اسلایم	جنس		تعداد (درصد)	P value
	آقایان (درصد)	خانمها (درصد)		
مشکوک	۶ (۳۲)	۱۱ (۲۹)	۱۷ (۳۰)	۰/۷۵۸۹
مثبت	۱۳ (۶۸)	۲۷ (۷۱)	۴۰ (۷۰)	۰/۷۵۸۹
تعداد (درصد)	۱۹ (۳۳)	۳۸ (۶۷)	۵۷	<۰/۰۰۰۱

شده از نمونه های آقایان و فراوانی سویه های بیوفیلیم ضعیف در میان سویه های جداسازی شده از نمونه های خانمها از فراوانی بالاتری برخوردار بودند که این اختلافات معنی دار بودند.

علاوه بر این، در آزمون میکروتیتر پلیت نیز تمامی ۵۷ سویه به عنوان سویه های بیوفیلیم مثبت انتخاب شدند (جدول ۳) که به ترتیب ۵۳ (۳۰ سویه)، ۲۸ (۱۶ سویه) و ۱۹ (۱۱ سویه) درصد سویه ها مولد بیوفیلیم قوی، متوسط و ضعیف بودند. همچنین فراوانی سویه های بیوفیلیم قوی در میان سویه های جداسازی

جدول ۳- فراوانی سویه های بیوفیلیم قوی، متوسط و ضعیف در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین جداسازی شده از بیماران بر اساس جنس.

بیوفیلیم	جنس		تعداد (درصد)	P value
	آقایان (درصد)	خانمها (درصد)		
ضعیف	۲ (۱۱)	۹ (۲۴)	۱۱ (۱۹)	۰/۰۲۴۶
متوسط	۴ (۲۱)	۱۲ (۳۲)	۱۶ (۲۸)	۰/۱۰۸۶
قوی	۱۳ (۶۸)	۱۷ (۴۴)	۳۰ (۵۳)	۰/۰۰۱۰
تعداد (درصد)	۱۹ (۳۳)	۳۸ (۶۷)	۵۷	<۰/۰۰۰۱

بیشترین فراوانی سویه ها متعلق به بازه های سنی ۵۱-۶۰ (۳۲ درصد)، ۷۱-۸۰ سال (۲۶ درصد) و ۴۱-۵۰ سال (۱۶ درصد) بود. اما در مورد خانمها این فراوانی بیشتر متعلق به بیماران در بازه های سنی ۵۱-۶۰ سال (۳۱ درصد) و همچنین ۶۱-۷۰ سال، ۴۱-۵۰ سال و ۳۱-۴۰ سال (همگی ۱۶ درصد) بود.

همانگونه که در جدول ۴ نشان داده شده است، از مجموع ۵۷ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلیم، بیشترین تعداد سویه ها از بیماران به ترتیب در بازه های سنی ۵۱-۶۰ سال (۳۲ درصد)، ۴۱-۵۰ سال (۱۶ درصد) و ۶۱-۷۰ سال (۱۴ درصد) جداسازی شدند. در ارتباط با آقایان

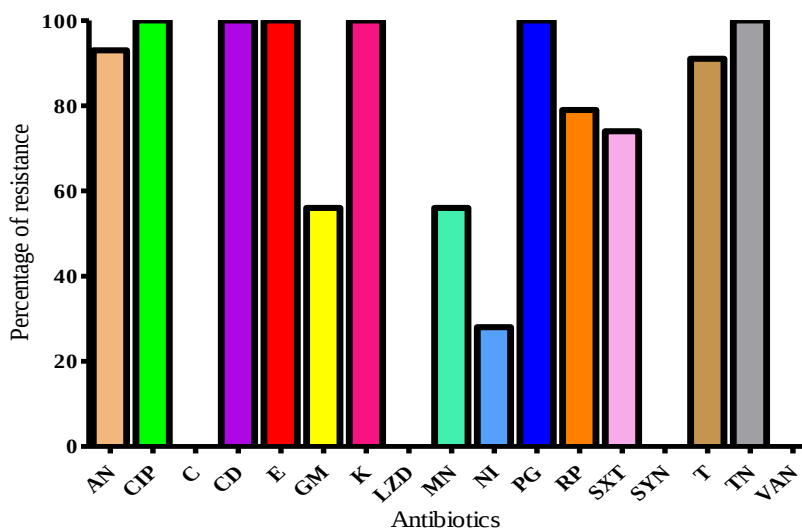
جدول ۴- فراوانی سویه های بیوفیلیم مثبت در نمونه های ادراری جداسازی شدن از نمونه های آقایان و خانمها بر اساس سن.

سن	جنس		تعداد (درصد)	P value
	آقایان (درصد)	خانمها (درصد)		
۱۱-۲۰	۱ (۵)	۲ (۵)	۳ (۵)	۱/۰۰۰۰
۲۱-۳۰	۱ (۵)	۴ (۱۱)	۵ (۹)	۰/۱۹۱۳
۳۱-۴۰	۱ (۵)	۶ (۱۶)	۷ (۱۲)	۰/۰۱۹۲
۴۱-۵۰	۳ (۱۶)	۶ (۱۶)	۹ (۱۶)	۱/۰۰۰۰
۵۱-۶۰	۶ (۳۲)	۱۲ (۳۱)	۱۸ (۳۲)	۱/۰۰۰۰
۶۱-۷۰	۲ (۱۱)	۶ (۱۶)	۸ (۱۴)	۰/۴۰۸۳
۷۱-۸۰	۵ (۲۶)	۲ (۵)	۷ (۱۲)	<۰/۰۰۰۱
تعداد (درصد)	۱۹ (۳۳)	۳۸ (۶۷)	۵۷	<۰/۰۰۰۱

تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه ها

نتایج حاصل از تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های های /استافیلوکوکوس/اورئوس مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلیم نشان داد که ۱۰۰ درصد سویه ها نسبت به آنتی بیوتیکهای پنی سیلین G، سیپروفلوکساسین، اریترومايسين، کانامایسین، تویرامایسین و کلیندامایسین مقاوم بودند (شکل ۱). همچنین، ۹۳، ۹۱، ۷۹، ۷۴ و ۵۶ درصد سویه ها نیز به ترتیب نسبت به آمیکاسین، تتراسایکلین، ریفامپین، تری متوپریم-سولفامتوکسازول و جنتامایسین مقاومت نشان دادند. از طرف دیگر، هیچگونه مقاومتی نیز در میان سویه های مورد مطالعه نسبت به ونکومايسين، کلرامفنیکل، لینزولاید و کینوپریستین-

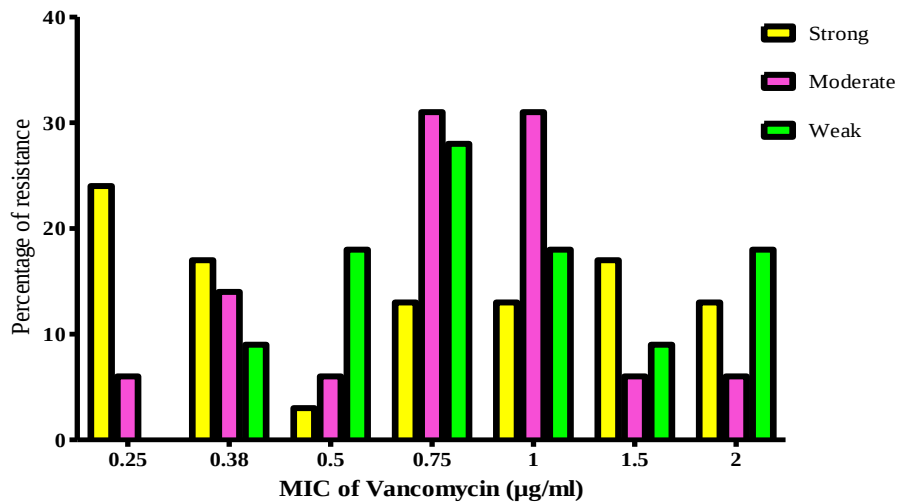
دالفوپریستین مشاهده نشد. علاوه بر این، بر اساس نتایج حاصل از آزمون تعیین حداقل غلظت مهارکننده از رشد اگزاسیلین مشخص شد که ۹۶ درصد (۵۵ سویه) نسبت به غلظت ۲۵۶ میکروگرم/میلی لیتر اگزاسیلین مقاوم بودند و همچنین ۲ و ۲ درصد سویه ها نیز نسبت به غلظتهای ۱۲۸ و ۹۶ میکروگرم/میلی لیتر اگزاسیلین مقاوم نشان دادند. بر این اساس، تمامی سویه های واجد قدرت تشکیل بیوفیلیم متوسط تنها نسبت به غلظت ۲۵۶ میکروگرم/میلی لیتر اگزاسیلین مقاوم بودند در حالیکه ۹۷ و ۳ درصد سویه های واجد توانایی بیوفیلیم قوی به ترتیب نسبت به غلظتهای ۲۵۶ و ۱۲۸ میکروگرم/میلی لیتر اگزاسیلین مقاوم نشان دادند.



شکل ۱- درصد مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلم. اختصارات عبارتند از: AN: آمیکاسین؛ CIP: سیپروفلوکساسین؛ C: کلرامفنیکل؛ CD: کلیندامایسین، E: اریترومایسین؛ GM: جنتامایسین؛ K: کانامایسین؛ LZD: لینزولاید؛ MN: مینوسایکلین؛ NI: نیتروفورانتوئین؛ PG: پنی سیلین G؛ RP: ریفامپین؛ SXT: تری متوپریم-سولفامتوکسازول؛ SYN: کینوپریستین-دالفوپریستین؛ T: تتراسایکلین؛ TN: توبرامایسین و VAN: ونکومایسین.

ونکومایسین مقاومت نشان دادند. همانگونه که در تصویر نیز مشخص است، بیشتر سویه های با قدرت تشکیل بیوفیلم قوی و ضعیف به ترتیب نسبت به غلظتهای ۰/۲۵ و ۲ میکروگرم/میلی لیتر ونکومایسین مقاومت نشان دادند در حالیکه بیشتر سویه های با توانایی تشکیل بیوفیلم متوسط نسبت به غلظتهای ۱ و ۰/۷۵ میکروگرم/میلی لیتر ونکومایسین مقاوم بودند.

در بحث بررسی حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد ونکومایسین نیز مشخص گردید که هیچکدام از سویه ها نسبت به ونکومایسین مقاوم نبودند (حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد = ۲-۰/۲۵ میکروگرم/میلی لیتر) (شکل ۲). بر این اساس ۲۱ و ۲۰ درصد سویه ها به ترتیب نسبت به غلظتهای ۰/۷۵ و ۱ میکروگرم/میلی لیتر ونکومایسین مقاوم بودند و ۱۴ درصد نیز نسبت به غلظتهای ۰/۲۵ و ۰/۳۸ میکروگرم/میلی لیتر



شکل ۲- درصد فراوانی حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد ونکومايسين در ميان سويه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلم قوی، متوسط و ضعیف.

در این مطالعه تمامی سویه ها واجد مقاومت دارویی چندگانه^۶ بودند و سویه ها حداقل نسبت به ۸ آنتی بیوتیک (۱/۷۵ درصد) و حداکثر نسبت به ۱۳ آنتی بیوتیک (۸/۸ درصد) مقاومت نشان دادند (جدول ۵). علاوه بر این، بیشتر سویه ها نسبت به ۱۱ (۴۷/۳۵) و ۱۰ آنتی بیوتیک (۱۷/۵۵ درصد) مقاومت نشان دادند. همچنین، در مجموع ۲۴ الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی نیز در میان سویه ها شناسایی گردید که الگوهای شماره ۱۲ و ۱۳ (متشکل از ۱۱ آنتی بیوتیک) غالبترین الگوها بودند و در میان ۱۰/۵ درصد سویه ها شناسایی شدند. علاوه بر این، ۸/۸ درصد سویه ها نیز واجد الگوهای مقاومتی شماره ۵ و ۲۴ بودند.

جدول ۵- الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مولد بیوفیلم مقاوم به متی سیلین.

تعداد آنتی بیوتیک	الگوی مقاومت	تعداد (درصد)
۸ آنتی بیوتیک		۱ (۱/۷۵)
RP ,AN ,K ,CD ,TN ,CIP ,E ,P	۱	۱ (۱/۷۵)
۹ آنتی بیوتیک		۸ (۱۴/۰۵)
GM ,RP ,AN ,K ,CD ,TN ,CIP ,E ,P	۲	۱ (۱/۷۵)
MN ,TS ,K ,T ,CD ,TN ,CIP ,E ,P	۳	۱ (۱/۷۵)
RP ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۴	۵ (۸/۸)
RP ,TS ,AN ,K ,CD ,TN ,CIP ,E ,P	۵	۱ (۱/۷۵)
۱۰ آنتی بیوتیک		۱۰ (۱۷/۵۵)
RP ,GM ,TS ,AN ,K ,CD ,TN ,CIP ,E ,P	۶	۲ (۳/۵)
RP ,MN ,TS ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۷	۳ (۵/۳)
RP ,MN ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۸	۲ (۳/۵)
RP ,TS ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۹	۱ (۱/۷۵)
MN ,TS ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۱۰	۱ (۱/۷۵)
GM ,TS ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۱۱	۱ (۱/۷۵)
۱۱ آنتی بیوتیک		۲۷ (۴۷/۳۵)
GM ,RP ,TS ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۱۲	۶ (۱۰/۵)
MN ,GM ,TS ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۱۳	۶ (۱۰/۵)
MN ,GM ,RP ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۱۴	۳ (۵/۳)
MN ,NI ,RP ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۱۵	۱ (۱/۷۵)
GM ,NI ,RP ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۱۶	۱ (۱/۷۵)
MN ,NI ,TS ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۱۷	۱ (۱/۷۵)
GM ,TS ,NI ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۱۸	۲ (۳/۵)
RP ,TS ,NI ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۱۹	۴ (۷)
MN ,RP ,TS ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۲۰	۳ (۵/۳)
۱۲ آنتی بیوتیک		۶ (۱۰/۵)
MN ,GM ,RP ,TS ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۲۱	۴ (۷)
MN ,GM ,RP ,NI ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۲۲	۱ (۱/۷۵)
MN ,TS ,RP ,NI ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۲۳	۱ (۱/۷۵)
۱۳ آنتی بیوتیک		۵ (۸/۸)
MN ,GM ,TS ,RP ,NI ,AN ,K ,CD ,T ,TN ,CIP ,E ,P	۲۴	۵ (۸/۸)

* اختصارات عبارتند از: AN: آمیکاسین؛ CIP: سیپروفلوکساسین؛ CD: کلیندامایسین، E: اریترومایسین؛ GM: جنتامایسین؛ K: کانامایسین؛ MN: مینوسایکلین؛ NI: نیتروفورانتوئین؛ PG: پنی سیلین G؛ RP: ریفاپین؛ SXT: تری متوپریم-سولفامتوکسازول؛ T: تتراسایکلین و TN: توبرامایسین.

نتایج تایپینگ سویه ها

در این مطالعه از ۳ روش تایپینگ مختلف جهت دسته بندی سویه های /استافیلوکوکوس/ اورئوس مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلم استفاده گردید. بر اساس نتایج حاصل از آزمون پروفاز تایپینگ (جدول ۶) مشخص گردید که تمامی سویه های مورد مطالعه حداقل واجد پروفاز تایپ SGF و دو ساب تایپ^۱ آن (SGFa و SGFb) بودند و پروفاز تایپهای SGA، SGL و SGD نیز در هیچکدام از سویه ها شناسایی نشدند. بر این اساس، در مجموع دو الگوی پروفازی نیز در میان سویه ها شناسایی گردید که الگوی پروفازی شماره ۱ واجد پروفاز تایپهای SGB، SGF و SGFa و SGFb فراوانترین الگو بود و ۸۹ درصد سویه ها واجد این الگو بودند و الگوی پروفازی شماره ۲ نیز (واجد پروفاز تایپهای SGF و SGFa) تنها محدود به ۱۱ درصد سویه ها بود. از طرف دیگر، سه SCCmec تایپ مختلف (I، II و III) و ۳ تایپ مختلف ccr (۱، ۲ و ۳) نیز در میان سویه ها شناسایی گردید، که در این میان SCCmec تایپ III و ccr تایپ ۳ فراوانترین تایپها در میان سویه ها بودند (۷۲ درصد) و پس از آن SCCmec تایپ I و ccr تایپ ۱ (۱۹ درصد) در مرتبه بعدی قرار داشت. همچنین، تمامی سویه ها از نظر وجود ژن *pvl* منفی بودند، بنابراین تمامی سویه های مورد بررسی به عنوان سویه های /استافیلوکوکوس/ اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از بیمارستان طبقه شدند.

جدول ۶- فراوانی پروفاز تایپها و الگوهای پروفازی در سویه های /استافیلوکوکوس/ اورئوس مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلم.

الگوی پروفازی	پروفاز تایپ							<i>pvl</i>	تعداد	درصد
	SGA	SGB	SGF	SGFa	SGFb	SGL				
۱	-	+	+	+	+	-	-	-	۵۱	۸۹
۲	-	-	+	+	+	-	-	-	۶	۱۱

بر اساس نتایج حاصل از آزمون PhP تایپینگ ۵۷ سویه مورد مطالعه، در مجموع ۲۱ تایپ متشکل از هفت CT و چهارده ST در میان سویه ها شناسایی گردید (جدول ۷) که در این میان CT1 و CT2 به عنوان فراوانترین تایپها شناسایی شدند و به ترتیب ۳۰ و ۲۸ درصد سویه ها متعلق به این دو تایپ بودند. همچنین، فراوانی هر یک از CTهای CT3-CT7 نیز تنها محدود به ۳/۵ درصد سویه ها بود. از طرف دیگر، در هر CT (به استثناء CT7) الگوهای مقاومتی و پروفازی و SCCmec تایپهای مختلفی شناسایی گردید. CT1 و CT2 نیز واجد متنوعترین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی بودند (به ترتیب شامل ۱۱ و ۹ الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی).

جدول ۷- الگوهای حاصل از تایپینگ سویه های استافیلوکوکوس/اورئوس مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلیم.

PhP تایپ	الگوی مقاومت	الگوی پروفازی	SCCmec تایپ	تعداد (درصد)
CT1	۷، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۸، ۲۰ و ۲۱	۱ و ۲	I، II و III	۱۶ (۲۸)
CT2	۱، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۱۴، ۱۵، ۱۹ و ۲۰	۱	I و III	۱۷ (۳۰)
CT3	۲ و ۱۲	۲	III	۲ (۳/۵)
CT4	۴ و ۲۱	۱	I و III	۲ (۳/۵)
CT5	۱۲ و ۱۴	۱	III	۲ (۳/۵)
CT6	۸ و ۲۰	۲	III	۲ (۳/۵)
CT7	۱۳	۱	III	۲ (۳/۵)
ST1	۲۴	۱	I	۱ (۱/۷۵)
ST2	۱۸	۱	III	۱ (۱/۷۵)
ST3	۱۶	۱	I	۱ (۱/۷۵)
ST4	۲۴	۱	II	۱ (۱/۷۵)
ST5	۲۳	۱	I	۱ (۱/۷۵)
ST6	۲۴	۱	II	۱ (۱/۷۵)
ST7	۱۹	۱	III	۱ (۱/۷۵)
ST8	۱۹	۱	III	۱ (۱/۷۵)
ST9	۲۴	۱	II	۱ (۱/۷۵)
ST10	۱۷	۱	I	۱ (۱/۷۵)
ST11	۱۲	۲	III	۱ (۱/۷۵)
ST12	۲۲	۱	II	۱ (۱/۷۵)
ST13	۱۹	۱	I	۱ (۱/۷۵)
ST14	۲۴	۱	I	۱ (۱/۷۵)

بحث

استافیلوکوکوس اورئوس به دلیل پتانسیل بالا برای حمله به بافت های کلیوی و در نتیجه تشکیل بیوفیلم، خطر بزرگی برای بیماران مبتلا به عفونت های ادراری در نظر گرفته می شود. از آنجا که تشکیل بیوفیلم توسط سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* باعث مقاومت در برابر آنتی بیوتیک ها و شرایط نامساعد محیط دستگاه ادراری و همچنین محافظت در برابر واکنش های ایمنی میزبان می شود، بنابراین تشکیل بیوفیلم نقش مهمی در پاتوژنز عفونت های ادراری ایفا می کند. عفونت های ادراری به طور کلی به دو دسته عفونت های تک گیر و عفونت های عودشونده تقسیم بندی می شوند، که عفونت های عودشونده ناشی از تشکیل بیوفیلم توسط ایزوله هایی است که یا به درستی شناسایی نشده و یا به طور صحیح مورد درمان قرار نگرفته اند و به مدت طولانی در دستگاه ادراری باقی مانده اند (۱۷). عفونت های عودشونده ناشی از توانایی تشکیل بیوفیلم توسط سویه های باکتریایی بوده که در آنها بیوفیلم به عنوان یک کنسرسيوم میکروبی، مخزنی برای گسترش عفونت و انتقال مقاومت به سایر سویه های کامنسال و بیماریزا عمل کرده که در نهایت باعث ایجاد آسیب های غیرقابل بازگشت، شکست پروتکل های درمانی و تحمیل هزینه های درمانی بالا به بیماران خواهد شد. از این رو روش های قابل اعتماد، راحت، در دسترس و ارزان برای شناسایی صحیح و سریع سویه های تشکیل دهنده بیوفیلم مورد نیاز است. در مطالعه حاضر، نتایج حاصل از شناسایی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* با آزمون PCR کاملاً منطبق بر نتایج حاصل از شناسایی سویه ها به روش فنوتایپی در آزمایشگاه مورد بررسی بود. این مطالعه از محدود مطالعاتی است که نشان دهنده این است که در آزمایشگاه بیمارستان یا آزمایشگاه های پاتوبیولوژی و تشخیص طبی شناسایی درستی برای جنس ها و گونه های مختلف باکتریایی صورت گرفته است (۱۸، ۱۹) که خود ناشی از انتخاب صحیح آزمون ها بر اساس منابع معتبر در این آزمایشگاه است. معمولاً در آزمایشگاه ها جهت شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس* از کشت باکتری در محیط مانیتول سالت آگار و آزمون کواگولاز (معمولاً با استفاده از پلاسما ی انسانی) به روش لام (روش سریع) استفاده می شود. بنابراین برخی از گونه های کواگولاز منفی مانند

استافیلوکوکوس لوگدوننسیس^{۱۸} و *استافیلوکوکوس شلیفری*^{۱۹} نیز به اشتباه به عنوان *استافیلوکوکوس اورئوس* شناسایی می شوند. همچنین با توجه به اینکه جهش یافته های *استافیلوکوکوس اورئوس* (واریانتهای کلنی کوچک)^{۲۰} مانیتول منفی هستند و بر روی محیط مانیتول سالت آگار به اشتباه شناسایی می شوند، استفاده همزمان از آزمونهای رنگ آمیزی گرم، کشت بر روی محیط مانیتول سالت آگار و آزمونهای DNase و کواگولاز (به روش لوله) باعث تشخیص دقیق و صحیح سویه ها شده است و می تواند الگوی مناسبی برای سایر آزمایشگاه ها نیز باشد. اما در هر صورت، آزمونهای فنوتایپی زمانبر هستند و نیازمند استفاده از چندین آزمون مختلف جهت تشخیص نسبتاً دقیق و طبیعتاً صرف هزینه بیشتر می باشند. بنابراین استفاده از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی روشی دقیق، اختصاصی، حساس، سریع و مقرون به صرفه جهت شناسایی سویه های باکتریایی بوده که می تواند در آزمایشگاه جایگزین روش های معمول مبتنی بر خصوصیت های بیوشیمیایی و فنوتایپی باشد.

در این مطالعه، ترکیبی از دو آزمون کیفی ژلوز قرمز کنگو و کمی میکروتیتر پلیت جهت بررسی توانایی تولید بیوفیلم توسط سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* استفاده شد. بر اساس نتایج حاصل از آزمون کیفی ژلوز قرمز کنگو مشخص شد که در مجموع ۳۶ درصد سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* اوروپاتوژنیک^{۱۱} اسلام مثبت و اسلام مشکوک بودند. همچنین از این تعداد، ۵۷ سویه (۵۴ درصد) به عنوان سویه های بیوفیلم مثبت مقاوم به متی سیلین انتخاب شدند که در این میان در نهایت به ترتیب ۵۳، ۲۸ و ۱۹ درصد سویه ها به ترتیب قادر به تشکیل بیوفیلم قوی، متوسط و ضعیف بودند. نکته حائز اهمیت در این مطالعه این بود که تمامی سویه های اسلام مثبت و اسلام مشکوک قادر به تشکیل بیوفیلم (قوی، متوسط و ضعیف) بودند. در مطالعات مختلف تاکنون فراوانی های مختلفی از سویه های مولد بیوفیلم (مقاوم یا حساس به متی سیلین) گزارش شده است. در مطالعه

^۱ *Staphylococcus lugdunensis*^۱ *Staphylococcus schleiferi*^۲ Small colony variants (SCV)^۲ Uropathogenic

۸۲/۱، ۸۵/۸ و ۷۸/۶ درصد گزارش شد (۲۲). در چین نیز مقاومت ۱۰۰ درصدی نسبت به پنی سیلین گزارش شد اما مقاومت نسبت به اریترومايسين (۷۶/۸ درصد) و کلیندامایسین (۵۴/۹۷ درصد) پایینتر بود (۲۳). سازوکارهای گوناگونی در ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی در *استافیلوکوکوس اورئوس* وجود دارد که از میان آنها می توان به جهش در ژنهای پروتئینهای متصل شونده به پنی سیلین (PBP) ^{۲۲}، تولید PBP2a و بتالاکتامازها جهت مقاومت در برابر آنتی بیوتیکهای بتالاکتام و یا تغییر محل اتصال آنتی بیوتیک از طریق اپرون *vanA* جهت مقاومت در برابر گلیکوپپتیدها اشاره کرد. به علاوه، تغییر در زیرواحد rRNA ^{۲۳} ریبوزوم باکتریایی سبب مقاومت به ماکرولیدها شده و متیلاسیون ریبوزوم از طریق ژنهای *erm* در ایجاد مقاومت به اریترومايسين مؤثر است. غیرفعال شدن آنتی بیوتیکها توسط ترانسفرازها در ایجاد مقاومت به آمینوگلیکوزیدها و تغییر در محل اتصال آنتی بیوتیک از طریق جهش در ژن های *gyrA* و *gyrB* (رمزکننده توپوایزومراز II) و *parC* و *parE* (رمزکننده توپوایزومراز IV) نیز در مقاومت به فلوروکینولونها ها نقش دارند. علاوه بر این، تشکیل بیوفیلیم و خروج آنتی بیوتیک از سلول باکتری توسط پمپهای افلاکس در مقاومت نسبت به طیف وسیعی از داروها مؤثر هستند. در میان این سازوکارها می توان به اهمیت ویژه *mecA* در ایجاد مقاومت به متی سیلین اشاره نمود. *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین از طریق بیان یک پروتئین خاص متصل به پنی سیلین (PBP2a) ایجاد می شود که این پروتئین توسط ژن *mecA* رمزگذاری شده و به واسطه کاست کروموزومی استافیلوکوکی (SCCmec) منتقل می شود. PBP2a، یک پپتیدوگلیکان ترانس پپتیداز با میل ترکیبی پایین برای اکثر آنتی بیوتیکهای بتالاکتام بوده که عملکرد PBP های طبیعی را مهار می کند و موجب می شود تا سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین بتوانند بیوسنتز دیواره سلولی را در حضور آنتی بیوتیکهای بتالاکتام ادامه دهند (۲۴). به طور کلی، مقاومت بالا نسبت به این آنتی بیوتیکها می تواند مرتبط با مصرف فراوان آنها برای درمان عفونتهای مختلف در

مصطفوی و همکاران در تهران، ۴۴ درصد از سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مولد بیوفیلیم مقاوم به متی سیلین بودند (۱۷). همچنین، فراوانی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلیم در آبادان برابر با ۳۲ درصد بوده (۲۰) که این مقدار اختلاف فاحشی با فراوانی گزارش شده از این سویه ها در بابل (۹۶ درصد) داشت (۲۱). به طور کلی تفاوت در فراوانی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلیم در مطالعات مختلف می تواند ناشی از تفاوت در نوع نمونه ها، وضعیت اقتصادی، فرهنگی و اجتماعی افراد مورد بررسی، شرایط جغرافیایی و آب و هوایی مناطق مورد مطالعه، سیاستهای کنترل عفونت در بیمارستانها و مراکز درمانی و همچنین بستری و یا سرپایی بودن بیماران باشد. اما به طور کلی می توان اعلام کرد که بر اساس یافته های این مطالعه نتایج حاصل از آزمونهای ژلوز قرمز کنگو و میکروتیتر پلیت بر هم منطبق بودند و تمامی سویه های اسلایم مثبت قادر به تشکیل بیوفیلیم قوی، متوسط یا ضعیف بودند. در مجموع می توان اظهار داشت که معمولا روش کیفی ژلوز قرمز کنگو از حساسیت و اختصاصیت پایینتری در مقایسه با روش کمی میکروتیتر پلیت برخوردار است و به همین دلیل بهتر است در ابتدا غربالگری سویه ها با آزمون ژلوز قرمز کنگو جهت تعیین تولید اسلایم صورت گیرد و در نهایت به منظور تأیید قطعی بررسی تشکیل بیوفیلیم از روش میکروتیتر پلیت استفاده شود (۱۷).

در این مطالعه مقاومت بالایی نسبت به بسیاری از آنتی بیوتیکهای مورد مطالعه مشاهده شد و تمامی سویه های مولد بیوفیلیم مقاوم به متی سیلین، واجد مقاومت دارویی چندگانه بودند. تمامی سویه ها نسبت به آنتی بیوتیکهای پنی سیلین G، اریترومايسين، سیپروفلوکساسین، کلیندامایسین، کانامایسین و توبرامایسین مقاوم بودند و بیش از ۹۰ درصد سویه ها نیز نسبت به تتراسایکلین و آمیکاسین مقاومت نشان دادند. در سایر مطالعات انجام گرفته در کشور نیز مقاومت بالایی نسبت به این آنتی بیوتیکها گزارش شده است (۱۹-۱۷)، اما مقاومت در این مطالعه در مورد اکثر آنتی بیوتیکها بالاتر بود. در مطالعه Almutairi و همکاران در عربستان سعودی فراوانی مقاومت به پنی سیلین، اریترومايسين، سیپروفلوکساسین و کلیندامایسین به ترتیب ۱۰۰،

ایران باشد. بنابراین، عملاً استفاده از این آنتی بیوتیکها برای درمان عفونتهای ناشی از سویه های /استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین بی مورد است. در مقابل، هیچگونه مقاومتی نیز نسبت به ونکومایسین، کلرامفنیکل، لینزولاید و کینوپریستین-دالفوپریستین مشاهده نشد. یافته های حاصل از مطالعات در کشورهای پاکستان (۲۵)، مصر (۲۶) و عربستان سعودی (۲۷) نیز مطابق با نتایج ما و نشان دهنده حساسیت بالا نسبت به آنتی بیوتیکهای مذکور بود. سایر مطالعات انجام گرفته در کشور نیز مقاومتی نسبت به این عوامل مشاهده نشده است که ناشی از مصرف پایین این عوامل ضد میکروبی در کشور است. اگرچه این داروها آنتی بیوتیکهای بسیار مؤثری علیه ایزوله های /استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در شرایط آزمایشگاهی هستند، اما هزینه بالا و عوارض جانبی متعدد، استفاده از آنها را برای اهداف درمانی محدود می کند، و در واقع این موضوع همان عاملی است که می تواند مقاومت پایین نسبت به این داروها را توضیح دهد (۴). بنابراین بر اساس یافته های این مطالعه می توان اذعان داشت که این آنتی بیوتیکها داروهای مناسبی جهت درمان عفونتهای مرتبط با سویه های مقاوم به متی سیلین هستند. به طور کلی، با توجه به اینکه عفونتهای ادراری معمولاً به صورت تجربی و بدون توجه به نتایج آزمون تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های باکتریایی انجام می گیرد، لذا با توجه به تغییر الگوی مقاومت دارویی و گسترش مقاومت آنتی بیوتیکی در میان باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی، که منجر به بی اثر بودن آنتی بیوتیکهای تجویز شده و تبدیل عفونتها به عفونتهای عودشونده می گردد، اکیدا توصیه می شود که انتخاب و تجویز آنتی بیوتیک توسط پزشکان بر اساس نتایج حاصل از آزمونهای تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی باکتریها در آزمایشگاه ها صورت گیرد. از طرف دیگر، در این مطالعه تمامی سویه ها واجد مقاومت دارویی چندگانه بودند و حداقل به ۸ آنتی بیوتیک و حداکثر به ۱۳ آنتی بیوتیک از مجموع ۱۷ آنتی بیوتیک مورد استفاده مقاومت نشان دادند، که حاکی از مقاومت آنتی بیوتیکی بسیار بالای این سویه های مولد بیوفیلیم و بی اثر بودن طیف وسیعی از داروهای خطوط اول و دوم درمانی می باشد.

پیشتر نیز چنین مقاومتی در برخی از مطالعات صورت گرفته بر روی نمونه های بالینی، دامی و محیطی ارائه شده است (۲۸، ۲۹). در این مطالعه جهت تایپینگ سویه های /استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلیم از سه روش مختلف استفاده شد. بر این اساس، در مجموع دو الگوی پروفازی و سه SCCmec تایپ مختلف (I، II و III) در میان سویه ها شناسایی شد که از تنوع پایینی برخوردار بودند که مؤید منشاء بیمارستانی این سویه ها است. بقای /استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در محیط به عنوان یک مشکل جدی برای کنترل عفونتهای ناشی از آن در نظر گرفته می شود. در اماکن عمومی، فومیتها^۳ عوامل انتقال این سویه ها در محیط و همچنین بین انسانها شناخته شده و می توانند باکتری را به طور مستقیم از فردی به فرد دیگر یا به طور غیرمستقیم به انسان منتقل نمایند. از آنجا که سویه های /استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین توانایی بقاء طولانی مدت در فومیتها را دارند، افراد مستعد در جامعه می توانند در اثر تماس با این فومیتها آلوده شوند و عفونت را به افراد دیگر منتقل کرده و به این ترتیب سبب انتشار باکتری از بیمارستان به جامعه شوند (۳۰). در مطالعات انجام شده در سایر نقاط جهان نیز SCCmec تایپ II به عنوان تایپ غالب در ترکیه (۳۱) و چین (۳۲) شناسایی شده است. این در حالی است که Bhowmik و همکاران SCCmec تایپ V را شایعترین تایپ شناسایی شده در هند گزارش نمودند (۳۳). در سایر مطالعات انجام گرفته تنوع بالایی از پروفاز تایپها و الگوهای پروفازی در میان سویه ها گزارش شده است و همچنین در بسیاری از مطالعات نیز پروفاز تایپ SGA، ژن pvl و SCCmec تایپهای IV و V به عنوان شاخص سویه های اکتسابی از جامعه گزارش شده است که نشان دهنده تنوع بالای سویه ها و کلون تایپهای متنوع در آن مطالعات است (۲۹، ۳۴). همچنین، نتایج حاصل از آزمون PhP تایپینگ نشان داد که در مجموع ۲۱ تایپ مشتمل بر هفت CT و چهارده ST در میان ۵۷ سویه مورد بررسی شناسایی شد که نشان دهنده تنوع محدود CTها در میان بیماران مبتلا به عفونت ادراری در شهر تهران است. در این میان، CT2 و CT1 به عنوان فراوانترین

تایپها تعیین شدند که پیشتر نیز این تایپها به عنوان تایپ غالب در میان سویه های مختلف در ایران گزارش شده بودند (۴، ۵، ۱۱، ۱۲، ۱۷، ۳۲، ۳۳، ۳۵). نکته حائز اهمیت حضور سویه هایی با الگوهای مختلف مقاومت آنتی بیوتیکی و پروفازی و همچنین SCCmec تایپها و ccr تایپهای متفاوت در اکثر CTها در این مطالعه بود که مؤید این نکته است که هیچگونه ارتباطی بین تولید بیوفیلیم، پروفایل مقاومت آنتی بیوتیکی و انتشار کلونال در سویه های /استافیلوکوکوس/ اورئوس مقاوم به متی سیلین مورد بررسی وجود ندارد. همچنین، تمامی ۵ سویه واجد الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی شماره ۲۴ (مقاوم به ۱۳ آنتی بیوتیک) و ۲ سویه واجد الگوهای شماره ۲۲ و ۲۳ (مقاوم به ۱۲ آنتی بیوتیک) به عنوان ST شناسایی شدند که حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد اگزاسیلین آنها نیز ≥ 256 میکروگرم/میلی لیتر بود و همگی منشاء بیمارستانی داشتند. یافته های مطالعه حاضر بر خلاف سایر مطالعات است که در آنها تمامی سویه هایی که به عنوان ST دسته بندی شده بودند همگی منشاء اکتسابی از جامعه داشته و نسبت به تمامی آنتی بیوتیکها به استثناء پنی سیلین G حساس بودند، که می تواند نشان دهنده ظهور و گسترش کلون تایپهای جدید در شهر تهران باشد. لازم به ذکر است که بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه مورد نظر علیرغم اینکه به عنوان سرپایی در نظر گرفته شدند، اما با بررسی های بیشتر مشخص شد اکثریت قریب به اتفاق آنها در مدت یک سال گذشته به دلیل بیماریهای مختلف از جمله ابتلا به کووید و انجام جراحی و زایمان در بیمارستان بستری شده بودند و یا به دلیل عفونتهای مختلف در بازه زمانی ۶-۳ ماه پیش از بررسی آنتی بیوتیک دریافت کرده بودند که می تواند تا حدودی توجیه کننده منشاء بیمارستانی سویه های عامل ایجاد عفونت ادراری باشد.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده شیوع بالای سویه های /استافیلوکوکوس/ اورئوس مقاوم به متی سیلین مولد بیوفیلیم و واجد مقاومت دارویی چندگانه در میان بیماران در شهر تهران می باشد. انتشار سویه های با منشاء بیمارستانی و مقاوم به طیف

وسعی از آنتی بیوتیکهای مورد استفاده به عنوان خطوط اول و دوم درمانی، می تواند نشان دهنده ناکارآمدی تدابیر کنترل عفونت در بیمارستانهای تهران باشد که این کلون تایپها نه تنها در محیط بیمارستان منتشر شده اند بلکه به طرق مختلف وارد جامعه نیز شده اند و در میان بیماران و طبیعتاً افراد سالم نیز گسترش پیدا کرده اند. نکته حائز اهمیت در این مطالعه پراکندگی STهای واجد مقاومت دارویی چندگانه (۱۳-۱۱ آنتی بیوتیک) در میان بیماران است که اگر تدابیر درستی جهت کنترل و درمان عفونتهای ناشی از این سویه ها اندیشیده نشود به سرعت در جامعه منتشر شده و تبدیل به CT خواهند شد که با توجه به مقاومت سطح بالای سویه ها و عدم امکان درمان با آنتی بیوتیکهای معمول، به یک معضل بهداشتی و تهدید کننده سلامت افراد در آینده ای نزدیک مبدل خواهند شد. درمان صحیح بیماران بر اساس نتایج حاصل از تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه ها توسط آزمایشگاه ها، استفاده از ترکیبات ضد عفونی کننده مؤثر و جدید و پایش و غربالگری مداوم محیط بیمارستان از نظر حضور سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک و همچنین آموزشهای بهداشتی به پرسنل و همراهان بیماران می تواند به کاهش گسترش این سویه ها در جامعه کمک شایانی نماید.

علیرغم بینشهای ارائه شده توسط این مطالعه در رابطه با وضعیت اپیدمیولوژیک سویه های /استافیلوکوکوس/ اورئوس جداسازی شده از عفونت ادراری، وجود محدودیتهایی ممکن است تفسیر این نتایج را تحت تأثیر قرار دهند. نخستین محدودیت، وجود فواصل زمانی نسبتاً طولانی بین جمع آوری نمونه، تجزیه و تحلیل داده ها و گزارش نتایج می باشد. از دیگر عوامل نیز می توان به تمرکز مطالعه بر روی یک منطقه جغرافیایی خاص برای انتخاب بیماران اشاره نمود. بنابراین، نتایج حاصل باید با احتیاط تفسیر شوند، زیرا ممکن است در حال حاضر به طور کامل نشان دهنده شیوع، تنوع، و پروفایلهای حساسیت ضد میکروبی سویه های /استافیلوکوکوس/ اورئوس در بین بیماران مبتلا به عفونت ادراری در این کشور نباشند. همچنین توصیه می گردد برای اتخاذ برنامه های نظارت بر کنترل عفونت و همچنین اقدامات درمانی مناسب در برابر عفونتهای ادراری ناشی از /استافیلوکوکوس/ اورئوس، در تحقیقات آینده به بررسی پراکندگی فاکتورهای بیماریزایی گوناگون و تعیین

ارتباط هر یک از آنها با پتانسیل بیماریزایی و مقاومت دارویی، پرداخته شود.

تأییدیه اخلاقی

با توجه به اینکه در این مطالعه سویه های باکتریایی از آزمایشگاه پاتوبیولوژی خصوصی جمع آوری شدند و هیچگونه دسترسی به بیماران و اطلاعات شخصی آنان وجود نداشته است، لذا نیازی به اخذ تأییدیه اخلاقی وجود نداشت.

منابع مالی

نویسندگان مقاله هیچگونه کمک مالی و گرنت پژوهشی جهت انجام این تحقیق دریافت نکرده اند.

تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافی بین نویسندگان این مقاله وجود ندارد.

REFERENCE

۱. Mitiku A, Aklilu A, Biresaw G, Gize A. Prevalence and associated factors of methicillin resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) among urinary tract infection suspected patients attending at Arba Minch General Hospital, Southern Ethiopia. *Infection and Drug Resistance*. 2021;2133-42.
۲. Soto SM. Importance of biofilms in urinary tract infections: new therapeutic approaches. *Advances in Biology*. 2014;2014(1):543974.
۳. Aniba R, Dihmane A, Raqraq H, Ressmi A, Nayme K, Timinouni M, et al. Characterization of biofilm formation in uropathogenic *Staphylococcus aureus* and their association with antibiotic resistance. *The Microbe*. 2024;2:100029.
۴. Rahimi F, Shokoohizadeh L. Characterization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains among inpatients and outpatients in a referral hospital in Tehran, Iran. *Microbial Pathogenesis*. 2016;97:89-93.
۵. Yousefi M, Pourmand MR, Fallah F, Hashemi A, Mashhadi R, Nazari-Alam A. Characterization of *Staphylococcus aureus* biofilm formation in urinary tract infection. *Iranian Journal of Public Health*. 2016;45(4):485.
۶. Qasemi A, Rahimi F, Katouli M. Clonal groups of extended-spectrum β -lactamase and biofilm producing uropathogenic *Escherichia coli* in Iran. *Pathogens and Global Health*. 2022;116(8):485-97.
۷. Barman S, Kurnaz LB, Leighton R, Hossain MW, Decho AW, Tang C. Intrinsic antimicrobial resistance: molecular biomaterials to combat microbial biofilms and bacterial persisters. *Biomaterials*. 2024;122690.
۸. Maleki L, Tukmechi A, editors. Screening of vancomycin resistance-associated genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from cattle, sheep and goats in northwestern Iran. *Veterinary Research Forum*. 2024;15(3):159-164.
۹. Rahimi F, Katouli M, Pourshafie MR. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in sewage treatment plants in Tehran, Iran. *Journal of Water and Health*. 2021;19(2):216-28.
۱۰. Rahimi F, Khashei S, Katouli M. Prevalence, diversity, and antimicrobial susceptibility profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among patients with diabetic foot infections in a referral hospital in Tehran, Iran. *Archives of Clinical Infectious Diseases*. 2024;19(3):e142081.
۱۱. Navidinia M, Mohammadi A, Arjmand R, Dadashi M, Goudarzi M. Molecular typing, biofilm formation, and analysis of adhesion factors in *Staphylococcus aureus* strains isolated from urinary tract infections. *Gene Reports*. 2021;22:101008.

۱۲. Rahimi F, Katouli M, Karimi S. Biofilm production among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from catheterized patients with urinary tract infection. *Microbial Pathogenesis*. 2016;98:69-76.
۱۳. Clinical and Laboratory Standard Institute C. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 32th informational supplement. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa. 2022.
۱۴. Rahimi F, Bouzari M, Maleki Z, Rahimi F. Antibiotic susceptibility pattern among *Staphylococcus* spp. with emphasis on detection of *mecA* gene in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* Isolates. *Archives of Clinical Infectious Diseases*. 2009;4(3): 143-50.
۱۵. Pantůček R, Doškař J, Růžicková V, Kašpárek P, Oráčová E, Kvardová V, et al. Identification of bacteriophage types and their carriage in *Staphylococcus aureus*. *Archives of Virology*. 2004;149(9):1689-703.
۱۶. McClure J-A, Conly JM, Lau V, Elsayed S, Louie T, Hutchins W, et al. Novel multiplex PCR assay for detection of the staphylococcal virulence marker Panton-Valentine leukocidin genes and simultaneous discrimination of methicillin-susceptible from-resistant staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006;44(3):1141-4.
۱۷. Mostafavi NS, Rahimi F, Khashei S. Characterization of clonal groups of antibiotic-resistant biofilm-forming *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients with urinary tract infections in Isfahan, Iran. *Archives of Clinical Infectious Diseases*. 2024;19(4):e143383.
۱۸. Rahimi F. Frequency of methicillin resistant *S. aureus* strains isolated from patients with diabetic foot infection in Isfahan during 2021. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*. 2022;27(99):1-12.
۱۹. Rahimi F, Qasemi A. Frequency of biofilm production among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients with urinary tract infection in Tehran during 2020-2022. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*. 2023;28(100):43-56.
۲۰. Jomehzadeh N, Emrani SS. Assessment of biofilm formation, antibiotic resistance patterns, and the prevalence of adhesion-related genes in clinical *Staphylococcus aureus* isolates. *Heliyon*. 2024;11(15):e41537.
۲۱. Saberi Y, Halaji M, Karami M, Jafarzadeh J, Javadi K, Shirafkan H, et al. Antimicrobials Profiling, Biofilm Formation, and Clonal Lineage of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Cockroaches. *Heliyon*. 2025;11(15):e41698.
۲۲. Almutairi H, Albahadel H, Alhifany AA, Aldalbahi H, Alnezary FS, Alqusi I, et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) at a maternity and children hospital in Saudi Arabia: A cross-sectional study. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2024;32(4):102001.

۲۳. Wu X, Wang C, He L, Xu H, Jing C, Chen Y, et al. Antimicrobial resistance profile of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in children reported from the ISPED surveillance of bacterial resistance, 2016-2021. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2023;13:1102779.
۲۴. Mlynarczyk-Bonikowska B, Kowalewski C, Krolak-Ulinska A, Marusza W. Molecular mechanisms of drug resistance in *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(15):8088.
۲۵. Saeed A, Ahsan F, Nawaz M, Iqbal K, Rehman KU, Ijaz T. Incidence of vancomycin resistant phenotype of the methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a tertiary care hospital in Lahore. *Antibiotics*. 2019;9(1):3.
۲۶. Shady HMA, Bakr AEA, Hashad ME, Alzohairy MA. *Staphylococcus aureus* nasal carriage among outpatients attending primary health care centers: a comparative study of two cities in Saudi Arabia and Egypt. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2015;19:68-76.
۲۷. Alzolibani AA, Al Robaee AA, Al Shobaili HA, Bilal JA, Ahmad MI, Saif GB. Documentation of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) among children with atopic dermatitis in the Qassim region, Saudi Arabia. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat*. 2012;21(3):51-3.
۲۸. Rahimi F, Qasemi A. Epidemiological link between methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from 2 different cities in Iran. *Infectious Diseases in Clinical Practice*. 2019;27(3):163–9.
۲۹. Rahimi F, Shafiei R. Characteristics of enterotoxin-producing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from meat in Tehran, Iran. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*. 2019;14(4): 389–98.
۳۰. Jaradat ZW, Khwaileh M, Al Mousa W, Ababneh QO, Al Nabulsi A. Occurrence, distribution and pattern analysis of methicillin resistant (MRSA) and methicillin sensitive (MSSA) *Staphylococcus aureus* on fomites in public facilities. *Pathogens and Global Health*. 2021;115(6):377-91.
۳۱. Sağlam M, Kılıç İH, Zer Y. Investigation of SCCmec types using the real time PCR method in cefoxitin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 2024;50:100649.
۳۲. Qi C, Luo X, Huang J, Kong D, Zhang Y, Zou M, et al. Prevalence of *S. aureus* and/or MRSA in hospitalized patients with diabetic foot and establishment of LAMP methods for rapid detection of the SCCmec gene. *BMC Microbiology*. 2024;24(1):36.
۳۳. Bhowmik D, Chetri S, Das BJ, Dhar Chanda D, Bhattacharjee A. Distribution of virulence genes and SCC mec types among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of clinical and environmental origin: a study from community of Assam, India. *BMC Research Notes*. 2021;14:1-7.
۳۴. Rahimi F, Khashei S. Characteristics of Prophage Patterns and Virulence Gene Profiles among Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from Patients with Diabetic Foot Infections in a Referral Hospital in Tehran, Iran. *Infection Epidemiology and Microbiology*. 2023;9(1):15-23.