پروفاژ تایپینگ سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین جدا شده از تصفیه خانه - های فاضلاب شهر تهران

فاتح رحیمی[۱]، مجید بوذری[۲]، محمد رضا پورشفیع[۳]*

۱-استادیار باکتری شناسی، بخش میکروبیولوژی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان
۲- دانشیار ویروس شناسی، گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان
۳- استاد باکتری شناسی، بخش میکروبشناسی انستیو پاستور ایران
***نشانی برای مکاتبه:** تهران خیابان پاستور، انستیتو پاستور ایران، بخش میکروبشناسی. pour@pasteur.ac.ir
دریافت مقاله: اردیبهشت نود و سه پذیرش برای چاپ: تیر نود و سه

چکیده

سابقه و هدف: *استافیلوکوکوس اورئوس باکتری بیماری¬زای انسانی است که دارای طیف وسیعی از باکتریوفاژها و عوامل حدت است. باکتریوفاژها می¬توانند بیان شاخص های حدت را از طریق تنظیم مثبت و یا منفی تبدیل لیزوژنی تحت تأثیر قرار دهند.تمامی جدایه¬های استافیلوکوکوس اورئوس به واسطه حساسیت نسبت به ۲۷ باکتریوفاژ لیزوژنیک در ۶ گروه طبقه ¬بندی می¬شوند. تغییر لیزوژنیک مرتبط با عوامل ویرولانس ناشی از وجود پروفاژهای مختلف در جدایه ¬های استافیلوکوکوس اورئوس می ¬باشد.این مطالعه با هدف تایپینگ سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین جداشده از یک تصفیه خانه فاضلاب در شهر تهران در سال ۱۳۸۹ به انجام رسیده است.*

روش کار: *در این مطالعه در مجموع ۶۵۳ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس جداشده از یک تصفیه خانه فاضلاب در شهر تهران بررسی شد. تمامی جدایه ¬ها با استفاده از پرایمر اختصاصی تا حد گونه شناسایی شدند. حساسیت جدایه¬ ها نسبت به آنتی ¬بیوتیک اگزاسیلین به روش دیسک دیفیوژن انجام گرفت و حداقل غلظت مهار کننده سویه های مقاوم به متی سیلین نیز نسبت به آنتی ¬بیوتیک¬ اگزاسیلین به روش Etest تعیین گردید. حضور ژن mecA در میان جدایه¬ های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی¬ سیلین با استفاده از آزمون PCR بررسی شد. جهت تعیین وجود پروفاژهای مختلف در جدایه ¬های مقاوم به متی¬ سلین آزمون Multiplex-PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ۶ دسته پروفاژی بکار رفت.*

یافته ها: *تمامی سویه ها با استفاده از آزمون PCR به عنوان جدایه ¬های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی¬سیلین تأیید شدند. ۱۰۰ سویه نیز به روش دیسک دیفیوژن به عنوان سویه های مقاوم به متی سیلین انتخاب شدند. هم چنین ۵۶ و ۶ درصد جدایه¬ها به¬ ترتیب از مقاومت بسیار بالا (MIC≥256 µg/ml)و سطح پایین (MIC≥4 µg/ml) نسبت به اگزاسیلین برخوردار بودند و تمام آنها دارای ژن mecA بودند. پنج پروفاژ تایپ مختلف در میان جدایه ¬ها شناسایی گردید و تمامی جدایه¬ ها دارای حداقل ۱ پروفاژ تایپ و ۲ ساب تایپ بودند. در مجموع ۴ الگوی پروفاژی در میان سویه ها شناسایی گردید.*

نتیجه گیری: *نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده وجود و تداوم گروه ¬های کلونال از جدایه ¬های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی ¬سیلین در فاضلاب شهری تهران است. هم چنین الگوهای پروفاژی متفاوتی نیز در میان جدایه¬ های به دست آمده مشاهده گردید که خود می¬ تواند نشان ¬دهنده تولید و بیان بسیاری از عوامل ویرولانس در این جدایه¬ ها باشد.*

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، پروفاژ تایپینگ، فاضلاب

مقدمه

عناصر ژنتیکی متحرک که نخستین بار در گیاه ذرت در اواخر دهه ۱۹۴۰ شناسایی شدند، مهم ترین ابزارهای انتقال اطلاعات ژنتیکی در میان پروکاریوت ها و یوکاریوت ها محسوب می شوند(۱). عناصر ژنتیکی متحرک عموما به عنوان قطعاتی از DNA شناخته می‌شوند که طیف وسیعی از شاخص های مقاومت، حدت و هم چنین آنزیم های مرتبط با انتقال و الحاق به DNA میزبانی جدید را به رمز درمی آورند. عناصر ژنتیکی متحرک نشان دهنده انتقال و تحرک درون و خارج سلولی هستند که در صورت وجود آنها در یک سلول خاص به آنها جسم متحرک (Mobilome) گفته می شود(۲, ۳). انتقال عناصر ژنتیکی متحرک در میان سلول ها تحت عنوان انتقال افقی ژن خوانده می شود(۳). عناصر ژنتیکی متحرک متشکل از باکتریوفاژها، پلاسمیدها، توالی های الحاقی، ترانسپوزون ها، جزایر بیماری زائی و مجموعه های کروموزومی هستند. این قطعات DNA به طور گسترده ای از طریق انتقال عمودی فراهم می - شوند، که نوعی انتقال از والد به زاده ها می باشد.

به نظر می رسد که باکتریوفاژها و یا ویروس های باکتریایی مهم ترین تأثیر را بر روی تنوع استافیلوکوکوسی و تکامل آنها داشته باشند(۱). تمامی باکتریوفاژها در یکی از سه دسته کشنده، معتدل و مزمن طبقه بندی می شوند. باکتریوفاژهای کشنده متعلق به خانواده میوویریده هستندکه در درمان با استفاده از باکتریوفاژ مورد استفاده قرار می گیرند، زیرا باکتری ها به طور کامل در هنگام آزادسازی زاده ها کشته شده و از بین می روند. باکتری های آلوده شده با باکتریوفاژهای مزمن، زاده ها را به محیط خارج سلولی آزاد می نمایند، این باکتریوفاژها بدون اینکه تأثیری بر روی میزبان داشته باشند به باکتری اجازه رشد و تکثیر می‌دهند. باکتریوفاژها معتدل این قابلیت را دارند که پس از آلوده سازی باکتری آنرا از بین ببرند، اما آنها عموما یک ارتباط طولانی مدت را با باکتری میزبان خود ایجاد می نمایند که در طی آن DNA باکتریوفاژها به عنوان یک پروفاژ در داخل ژنوم میزبان الحاق می شود(۴).

باکتریوفاژها می‌توانند بیان شاخص های ویرولانس را از طریق تنظیم مثبت و یا منفی تبدیل لیزوژنی تحت تأثیر قرار دهند. پروفاژهای *استافیلوکوکوس اورئوس* رمزکننده مولکول های حدت مانند انتروتوکسین ها و لوکوسیدین پنتون ولنتاین می باشند(۱, ۵).

روش های معمول که برای شناسایی پروفاژ در جدایه های لیزوژنیک مورد استفاده قرار می گیرند بسیار طولانی، زمان بر و دشوار هستند و برای استفاده معمول چندان مناسب نیستند. این روش ها بیش تر مبتنی بر القاء پروفاژ از جدایه های لیزوژنیک با استفاده از اشعه ماوراء بنفش و میتومایسین C می باشند(۵, ۶). درک انتقال باکتریوفاژ نه تنها در تشخیص تنوع ژنومیکی بالا در *استافیلوکوکوس اورئوس*، بلکه از منظر ژنومی جهت تکامل و حدت جدایه های باکتریایی نیز حائز اهمیت است. روش مولکولی مبتنی بر PCR برای شناسایی و طبقه‌بندی باکتریوفاژهای استافیلوکوکوسی و هم چنین تشخیص پروفاژها در ژنوم جدایه های لیزوژنیک *استافیلوکوکوس اورئوس* ارائه شده است(۸-۵).

این مطالعه با هدف پروفاژ تایپینگ سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین جداسازی شده از تصفیه خانه های فاضلاب شهر تهران در سال ۱۳۸۹ به انجام رسیده است.

روش کار

جهت انجام این مطالعه یک تصفیه خانه فاضلاب در غرب تهران انتخاب گردید. روش تصفیه در این تصفیه خانه فاضلاب از طریق لجن فعال هم راه با هوادهی است که در طی این فرآیند فاضلاب ورودی را تصفیه نموده و پساب خروجی را به رودخانه سرخه حصار دفع می نماید. نمونه گیری از حوضچه های ورودی این تصفیه خانه یعنی قبل از عمل آلودگی زدایی انجام گرفت. در مجموع از این تصفیه خانه ۳ بار نمونه گیری در طی سال ۱۳۸۹ به عمل آمد. برای جمع آوری نمونه ها از ظروف شیشه ای درب دار استریل با حجم ۲۵۰ میلی لیتر استفاده گردید. ظرف استریل در عمق ۷۰-۵۰ سانتی متری از سطح فاضلاب قرار گرفته و به این ترتیب نمونه ها جمع آوری شده و در مجاورت یخ به آزمایشگاه بخش میکروب‌شناسی انستیتو پاستور ایران منتقل شدند و در طی کم تر از ۳ ساعت بررسی شدند(۹, ۱۰).

به منظور دست یابی به کلنی های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین تفکیک شده بر روی محیط کشت، از روش فیلتراسیون با استفاده از فیلترهای ۰/۴۵ میکرومتر (Millipore, Bedford, USA) و محیط کشت اختصاصی Baird Parker agar(Merck, Darmstadt, Germany) استفاده شد. به دلیل غلیظ بودن نمونه های فاضلاب با استفاده از تجربیات اولیه در این تحقیق، رقت ۱:۱۰ از نمونه های فاضلاب در سرم فیزیولوژی استریل تهیه شد و با استفاده از سیستم فیلتراسیون استاندارد میلی پور (Millipore, Bedford, USA) عمل فیلتراسیون بر روی نمونه های رقیق شده انجام گرفت.

پس از فیلتراسیون، فیلترها بلافاصله به محیط Baird Parker agar منتقل شده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از این مدت کلنی های سیاه رنگ براق واجد هاله که مشکوک به *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند بر روی فیلتر ظاهر شدند. از این فیلترها کلنی برداری انجام گرفت و بر روی محیط بلاد آگار واجد خون گوسفندی کشت داده شدند تا اولا محیط غنی تری جهت رشد جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* فراهم گردد و دوما از این راه به خالص بودن جدایه مورد مطالعه نیز پی برده شود. جهت استخراج DNA از روش Boiling استفاده شد(۱۱). از DNA استخراج شده به عنوان الگو جهت انجام آزمون PCR و برای شناسایی سویه ها در حد گونه با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (ژن *nuc*) استفاده شد. جهت انجام این آزمون از پرایمرهای طراحی شده و ترکیب مواد و برنامه PCR ارائه شده توسط Zouharova و همکاران استفاده شد(۱۲).

حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده به روش دیسک دیفیوژن و بر اساس استانداردهای CLSI نسبت به آنتی بیوتیک اگزاسیلین و با استفاده از محیط Muller Hinton Agar (Merck, Darmstadt, Germany) واجد ۴٪ نمک بررسی شد(۱۳). دیسک‌های آنتی بیوتیکی مورد استفاده از شرکت MAST (Merseyside, United Kingdom) تهیه شدند. جهت تعیین حداقل غلظت مهار کننده اگزاسیلین از روش Etest (AB, Biomerieux, Marcy l'Etoile, France) بر اساس استانداردهای معرفی شده از طرف شرکت سازنده استفاده شد. جهت تشخیص وجود ژن *mecA* در میان جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* که به روش های دیسک دیفیوژن و Etest به عنوان جدایه های مقاوم به متی سیلین شناسایی شدند از آزمون PCR با استفاده از جفت پرایمر اختصاصی طراحی شده و هم چنین برنامه PCR و ترکیب مواد ارائه شده توسط McClure و هم کاران انجام گرفت(۱۴).

جهت شناسایی وجود پروفاژهای مختلف در جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین از آزمون Multiplex-PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی مختلف برای هر یک از دسته های پروفاژی استفاده گردید. برای این منظور از ۷ جفت پرایمر اختصاصی، که توسط Pantucek و هم کاران طراحی گردید(۶)، و هم چنین برنامه و ترکیب مواد، با اندکی تغییر استفاده شد(۵, ۷, ۸).

یافته ها

در این مطالعه در مجموع ۶۵۳ جدایه مشکوک به *استافیلوکوکوس اورئوس* از تصفیه خانه فاضلاب واقع در غرب تهران جدا گردید. پس از انجام آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تمامی جدایه ها به عنوان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* تأیید شدند.

نتایج حاصل از آزمون تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به اگزاسیلین، نشان داد که تمام سویه ها نسبت به اگزاسیلین مقاوم بوده و حداقل غلظت مهار کنندگی سویه ها

برابر یا بیش از ۴ میکروگرم در میلی لیتر بود. در این میان ۵۸ درصد سویه ها دارای مقاومت بسیار بالایی(MIC برابر یابش از ۲۵۶ میکروگرم در میلی لیتر) بوده و ۶ درصد سویه ها دارای حداقل مقاومت (MIC برابر ۴ میکروگرم در میلی لیتر) بودند. تمام سویه ها دارای ژن mecA بودند و بدین ترتیب هیچ گونه تفاوتی میان روش های فنوتایپی و ژنوتایپی مشاهده نگردید.

در این مطالعه ما موفق به شناسایی ژن های اختصاصی تمامی دسته های پروفاژی به استثناء SGD و SGD شدیم(جدول ۱). تمامی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین دارای حداقل پروفاژ تایپ SGF و ۲ ساب تایپ SGFa و SGFb بودند و به عنوان پروفاژ تایپ های غالب در این مطالعه معرفی شدند. هم چنین ۶ و ۵۶ درصد سویه ها نیز به ترتیب واجد پروفاژ تایپ های SGA و SGB بودند.

در مجموع ۴ الگوی پروفاژی نیز در این مطالعه مشخص گردید. بر این اساس الگوی شماره ۳ که متشکل از ۲ پروفاژ تایپ SGB و SGF و دو ساب تایپ SGFa و SGFb بود، به عنوان الگوی غالب مشخص گردید و ۵۱ درصد سویه ها دارای این الگوی پروفاژی بودند(جدول ۱).

جدول ۱- فراوانی پروفاژ تایپها و الگوهای پروفاژی در میان جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین.

الگوی پروفاژی	پروفاژ تایپ					فراوانی (٪)
	SGA	SGB	SGF	SGFa	SGFb	
۱	+	+	+	+	+	۵ (٪۵)
۲	+	-	+	+	+	۱ (٪۱)
۳	-	+	+	+	+	۵۱ (٪۵۱)
۴	-	-	+	+	+	۴۳ (٪۴۳)

بحث

در این مطالعه نشان داده شد که جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در فاضلاب شهری تهران از شیوع بالایی برخوردار می باشند. تامپسون و هم کاران در استرالیا موفق به جدا سازی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین از فاضلاب شهری و بیمارستانی شدند(۱۵). هم چنین رحیمی و هم کاران نیز توانستند سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین را از آب های جاری در کرج جداسازی نمایند(Rahimiofooni in press). در سوئد نیز Borjesson و هم کاران توانستند جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین را از نمونه های فاضلاب جدا نمایند(۱۸-۱۶). در سایر مطالعات در سراسر جهان، محققان موفق به جداکردن *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین از نمونه های فاضلاب نشدند و یا شیوع بسیار اندکی گزارش گردید(۲۱-۱۹). اما در این مطالعه شیوع بالایی از جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در فاضلاب شهری تهران گزارش گردید که با توجه به شیوع جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در ایران(۵, ۷, ۸, ۱۱, ۲۲-۲۵)، این شیوع بالا کاملا مورد انتظار بود. بنابراین می توان فاضلاب را به عنوان مخزن جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین به شمار آورد.

در این مطالعه تمامی ۱۰۰ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی - سیلین، واجد ژن *mecA* بودند. شیوع این ژن در نمونه های بالینی و ماکیان در ایران صد در صد گزارش شده است(۵, ۷, ۸, ۲۵, ۲۶). Chmelntisky و هم کاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که ۱۰۰ درصد جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم* به متی سیلین واجد ژن *mecA* بودند(۲۷). ژن *mecA* به عنوان یک شاخص بسیار حفظ شده در جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین، شناخته می - شود و گزارش هایی مبنی بر عدم شناسایی این ژن در باکتری های مقاوم به متی سیلین شاید به دلیل نا کارآمدی شرایط انجام PCR و یا به دلیل ایجاد جهش ژنی در محل اتصال پرایمر ها باشد. هم چنین کیفیت روش به‌کار رفته در استخراج ژنوم جدایه های مورد نظر نیز می تواند در نتیجه این آزمون تأثیرگذار باشد.

در این مطالعه جهت تایپینگ و دسته بندی سویه ها از روش پروفاژ تایپینگ و آزمون Multiplex-PCR استفاده شد. در این روش از وجود پروفاژهای SGA، SGB، SGF، SGFa، SGFb، SGD و SGL به عنوان الگویی جهت دسته بندی باکتری ها استفاده شد. در این مطالعه در میان جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین، ۵ پروفاژ تایپ SGA (۶ درصد)، SGB (۵۶ درصد)، SGF (۱۰۰ درصد)، SGFa (۱۰۰ درصد) و SGFb (۱۰۰ درصد) شناسایی گردید. هم چنین بر اساس وجود انواع مختلف پروفاژ تایپ، ۱۰۰ سویه در ۴ دسته طبقه بندی شدند. بر اساس مطالعات مختلف صورت گرفته بر روی نمونه های بالینی و ماکیان در ایران نیز در هیچ کدام از مطالعات پروفاژ تایپهای SGD و SGLشناسایی نشدند(۵, ۷, ۸, ۲۶). در ایران تاکنون گزارشات مختلفی از شیوع پروفاژ تایپ های مختلف و هم چنین الگوهای پروفاژی ارائه شده است. بر این اساس بیش ترین میزان تنوع در نمونه های بالینی(۵, ۷, ۸) و کم ترین تنوع نیز در نمونه های ماکیان بوده است(۲۶).

با مقایسه الگوهای پروفاژی در این مطالعه و سایر مطالعات انجام گرفته در تهران می توان این گونه نتیجه گیری کرد که با توجه به شیوع بالای جدایه های دارای الگوی پروفاژی ۳ و ۴ در جامعه که پیش تر نیز نشان داده شده(۵, ۷, ۸)، به نظر می رسد که این جدایه ها دارای منشاء مشترک هستند و به احتمال بسیار زیاد از بیمارستان های تهران در جامعه پراکنده شده‌اند. اما جدایه های دارای الگوی پروفاژی شماره ۱ که ۵ درصد از سویه های مورد بررسی واجد این الگو بودند و از مقاومت بسیار پایینی نیز نسبت به اگزاسیلین برخوردار بودند، و با توجه به اینکه این جدایه ها واجد تمامی پروفاژهای شناخته شده در این مطالعه می‌باشند، بنابراین این

جدایه ها قابلیت بیان و تولید بسیاری از عوامل ویرولانس وابسته به باکتریوفاژها مانند پنتون ولنتاین لوکوسیدین، سم اکسفولیاتیو A، TSST-1، انتروتوکسین‌های مختلف، استافیلوکیناز و بتا-همولایزین را دارا می‌باشند. نویسندگان این مقاله پیش تر نشان دادند که سویه های واجد پروفاژ تایپ SGA از مقاومت بسیار پایینی نسبت به تمامی آنتی بیوتیک های موجود برخوردارند و این سویه ها به عنوان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه (Community Acquired-MRSA) معرفی شدند و وجود پروفاژ تایپ SGA نیز به عنوان مارکر دیگری علاوه بر ژن *pvl* در سویه های CA-MRSA معرفی گردیدند(۸).

به طور کلی با یک نگاه اجمالی به این جدایه‌ها مشخص می شود که تمامی این جدایه ها به طور بالقوه قابلیت تولید طیف وسیعی از عوامل حدت وابسته به باکتریوفاژها را دارا می‌باشند و انتشار بیش تر این جدایه ها در بیمارستان ها و جامعه می تواند یک هشدار برای سلامت و بهداشت عمومی باشد و نیاز به تدوین برنامه های کنترلی مدون جهت جلوگیری از انتشار این جدایه ها احساس می‌گردد. بر همین اساس، نخستین بار Pantucek و هم کاران در سال ۲۰۰۴ در جمهوری چک به بررسی وجود پروفاژ تایپ های مختلف در میان جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در نمونه های بالینی پرداختند. همانند این مطالعه، آنها توانستند ۵ پروفاژ تایپ SGA، SGB، SGF، SGFa و SGFb را شناسایی نمایند(۶). علاوه بر این، ۲ پروفاژ تایپ SGL و SGD نیز در میان جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* شناسایی نگردید. به طور کلی ۹ الگوی پروفاژی در میان جدایه ها شناسایی گردید و پروفاژ تایپ SGFa به عنوان پروفاژ تایپ غالب در جمهوری چک تعیین گردید. در ایالات متحده، Workman در سال ۲۰۰۶ در مطالعه بر روی آب سواحل هاوایی توانستند ۶ پروفاژ تایپ SGA، SGB، SGF، SGFa، SGFb و SGL را شناسایی نمایند(۲۸). در آن مطالعه هم چنین ۱۰ الگوی پروفاژی در میان جدایه ها شناسایی گردید. آن گروه نیز نتوانستند پروفاژ تایپ SGD را شناسایی نمایند، اما بر خلاف مطالعه Pantucek و هم کاران، Workman توانست وجود پروفاژ تایپ SGL را در ۳۰ درصد از جدایه‌ها نشان دهد(۲۸). در آن مطالعه، پروفاژ تایپ های SGFa و SGA شایع-ترین پروفاژها بودند. تفاوت در الگوی پروفاژی در این سه مطالعه انجام گرفته در نقاط مختلف جهان را می توان مرتبط با تفاوت های جغرافیایی در محل‌های انجام آزمایش دانست.

در مورد شیوع پروفاژ تایپ SGL گزارشات مختلفی در نقاط مختلف جهان در اختیار می‌باشد. در ایالات متحده میزان شیوع ۳۰ درصد گزارش شده است. اما در جمهوری چک تمامی جدایه های مورد بررسی فاقد این پروفاژ تایپ بودند. بر خلاف سایر پروفاژ تایپ ها، هیچ گونه اطلاعات کاملی در مورد پروفاژ تایپ SGL در اختیار نیست و اهمیت و نقش آن در تولید و بیان عوامل حدت تا کنون ناشناخته باقی مانده است .

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده وجود و تداوم گروه های کلونال و بسیار مقاوم جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در فاضلاب شهری تهران می‌باشند. هم چنین الگوهای پروفاژی متفاوتی نیز در میان جدایه های به دست آمده از منابع مختلف مشاهده گردید که خود می تواند نشان دهنده تولید و بیان بسیاری از عوامل ویرولانس در این جدایه ها باشد. شیوع بالای جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از بیمارستان در جامعه، به عنوان مخازن بزرگ انتروتوکسین ها و بسیاری از عوامل ویرولانس دیگر نیازمند تشخیص صحیح و اقدامات کنترلی موثر و سریع جهت پیش گیری و کنترل جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در تصفیه خانه های فاضلاب می باشد. لذا در صورتی که توجهات لازم جهت حذف و یا کاهش این جدایه ها در جامعه مبذول نشود، در آینده با شیوع بیش تر و عواقب جبران ناپذیر این جدایه های بالقوه بیماری زا روبرو خواهیم بود.

REFERENCES

1- Malachowa N, DeLeo FR. Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. Cell Mol Life Sci. 2010;**67**(18):3057-71.

2- Frost LS, Leplae R, Summers AO, Toussaint A. Mobile genetic elements: the agents of open source evolution. Nat Rev Microbiol. 2005;3(9):722-32.

3- Siefert JL. Defining the mobilome. Methods Mol Biol. 2009;532:13-27.

4- Goerke C, Pantucek R, Holtfreter S, Schulte B, Zink M, Grumann D, et al. Diversity of prophages in dominant *Staphylococcus aureus* clonal lineages. J Bacteriol. 2009;191(11):3462-8.

5- Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie MR. Prophage and antibiotic resistance profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in Iran. Arch Virol. 2012;157(9):1807-1811.

6- Pantůček R, Doškař J, Růžičková V, Kašpárek P, Oráčová E, Kvardová V, et al. Identification of bacteriophage types and their carriage in Staphylococcus aureus. Arch Virol. 2004;149(9):1689-703.

7- Rahimi F, Bouzari M, Katouli M ,Pourshafie M. Prophage typing of methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a tertiary care hospital in Tehran, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2013;6(1):80-5.

8- Rahimi F, Katouli M, Pourshafie MR. Characteristics of hospital and community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Tehran, Iran. J Med Microbiol. 2014;In Press.

9- Rahimi F, Talebi M, Saifi M, Pourshafie MR. Distribution of enterococcal species and detection of vancomycin resistance genes by multiplex PCR in Tehran sewage. Iran Biomed J. 2007;11(3):161-7.

10- Talebi M, Rahimi F, Katouli M, Kühn I, Möllby R, Eshraghi S, et al. Prevalence and antimicrobial resistance of enterococcal species in sewage treatment plants in Iran. Water Air Soil Pollut. 2007;185(1-4):111-9.

11- 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. Iran J Clin Infect Dis. 2009;4(3):143-50.

12- Zouharova M, Rysanek D. Multiplex PCR and RPLA identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxigenic strains from bulk tank milk. Zoonoses Public Health. 2008;55(6):313-9.

13- Clinical and Laboratory Standard Institute C. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 16th informational supplement. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa. 2006.

14- 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. J Clin Microbiol. 2006;44(3):1141-4.

15- Thompson J, Gündoğdu A, Stratton H, Katouli M. Antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* in hospital wastewaters and sewage treatment plants with special reference to methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). J Appl Microbiol. 2013;114(1):44-54.

16- Borjesson S, Dienus O, Jarnheimer P-A, Olsen B, Matussek A, Lindgren P-E. Quantification of genes encoding resistance to aminoglycosides, ß-lactams and tetracyclines in wastewater environments by real-time PCR. Int J Environ Health Res. 2009;19:219-30.

17- Börjesson S, Matussek A, Melin S, Löfgren S, Lindgren P-E. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in municipal wastewater: an uncharted threat? J Appl Microbiol. 2010;108(4):1244-51.

18- Börjesson S, Melin S, Matussek A, Lindgren P-E. A seasonal study of the mecA gene and Staphylococcus aureus including methicillin-resistant *S. aureus* in a municipal wastewater treatment plant. Water Res. 2009;43(4):925-932.

19- Savichtcheva O, Okayama N, Okabe S. Relationships between Bacteroides 16s rRNA genetic markers and presence of bacterial enteric pathogens and conventional fecal indicators. Water Res. 2007;41(16):3615-28.

20- Schwartz T, Kohnen W, Jansen B, Obst U. Detection of antibiotic resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. FEMS Microbiol Ecol. 2003;43(3):325-35.

21- Volkmann H, Schwartz T, Bischoff P, Kirchen S, Obst U. Detection of clinically relevant antibiotic-resistance genes in municipal wastewater using real-time PCR (TaqMan). J Microbiol Methods. 2004;56(2):277-86.

22- Fatholahzadeh B, Emaneini M, Gilbert G, Udo E, Aligholi M, Modarressi MH, et al. Staphylococcal cassette chromosome mec (SCC*mec*) analysis and antimicrobial susceptibility patterns of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates in Tehran, Iran. Microb Drug Resist. 2008;14(3):217-20.

23- Japoni A, Jamalidoust M, Farshad S, Ziyaeyan M, Alborzi A, Japoni S, et al. Characterization of SCC*mec* types and antibacterial susceptibility patterns of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in southern Iran. Japanese J Infect Dis. 2011;64(1):28-33.

24- Javidnia S, Talebi M, Saifi M, Katouli M, Rastegar Lari A, Pourshafie MR. Clonal dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients and the hospital environment. Internat J Infect Dis. 2013;17(9):e691-5.

25- Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie MR. Antibiotic resistance pattern of methicillin resistant and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* isolates in Tehran, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2013;6(2):144-9.

26- Rahimi F, Karimi S. Antibiotic resistance pattern and prophage typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from chicken husbandries in Tehran. J Infect Dis Trop Med. 2013;62:17-22.

27- Chmelnitsky I, Navon-Venezia S, Leavit A ,Somekh E, Regev-Yochai G, Chowers M, et al. SCCmec and spa types of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in Israel. Detection of SCCmec type V. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2008;27(5):385-90.

28- Workman M, Nigro O, Steward G. Identification of prophages in coastal water isolates of *Staphylococcus aureus*. J Young Invest. 2006;15:1-8.