استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در آب های سطحی در کرج

فاتح رحیمی[۱]*، حمید امامی[۲]، محمد رضا عربستانی[۳]، بنفشه پرشاد[۴]

۱- دکتری تخصصی باکتری شناسی، استادیار بخش میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان
۲- دانشجوی دکتری تخصصی میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان
۳- دکتری تخصص باکتری شناسی، استادیار گروه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی همدان
۴- کارشناس میکروب شناسی، کارشناس آزمایشگاه بیمارستان پارس تهران

* **نشانی برای مکاتبه:** دکتر فاتح رحیمی، اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، بخش میکروبیولوژی، f.rahimi@sci.ui.ac.ir
دریافت مقاله: مرداد نود و دو پذیرش برای چاپ: مهر نود و دو

چکیده

سابقه و هدف: *استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان باکتری بیماری زایی شناخته می شود که عامل ایجاد طیف وسیعی از عفونت های انسانی در بیمارستان و جامعه است و همین امر درمان آنها را با مشکل مواجه می سازد. آب های سطحی مخزن احتمالی برای سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در جامعه به شمار می روند و می توانند نقش مهمی در گسترش و انتشار مقاومت آنتی بیوتیکی داشته باشند. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و تایپ غالب کاست کروموزومی ژن mec در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در آب های سطحی شهر کرج در طی سال ۱۳۹۲ به انجام رسیده است.*

روش کار: *شش مرتبه نمونه گیری از ۲ کانال آب در نقاط مختلف شهر کرج انجام گرفت. پس از تهیه سریال رقت، نمونه ها با استفاده از سیستم فیلتراسیون فیلتر شدند و فیلترها بر روی محیط Hicrome aureus agar قرار گرفتند و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. کلنی های سیاه براق واجد هاله انتخاب گردیدند و با استفاده از آزمون های بیوشیمیایی تا حد گونه شناسایی شدند. حساسیت جدایه ها نسبت به اگزاسیلین به روش دیسک دیفیوژن و حداقل غلظت مهار کننده سویه های مقاوم نسبت به آنتی بیوتیک اگزاسیلین به روش broth micro dilution تعیین گردید. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های مقاوم به متی سیلین نسبت به ۱۲ آنتی بیوتیک تعیین گردید. جهت انجام SCCmec تایپینگ از آزمون multiplex-PCR/استفاده شد.*

یافته ها: *در مجموع ۲۸۸ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس از ۲ منبع جدا گردید. میزان مقاومت نسبت به اگزاسیلین ۱۲/۸ درصد بود. بیش ترین میزان مقاومت سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، به ترتیب نسبت به آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین، اریترومایسین، توبرامایسین، آمیکاسین، تتراسایکلین، کانامایسین و کلیندامایسین مشاهده گردید. تمامی سویه ها واجد SCCmec تایپ III بودند.*

نتیجه گیری: *نتایج حاصل از این مطالعه مؤید وجود و تداوم گروه های کلونال بسیار مقاوم استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در آب های سطحی کرج است. شیوع بالای SCCmec تایپ III در میان این سویه ها نشان دهنده ارتباط همه گیرشناسی میان جدایه های محیطی و بالینی است. انتشار این سویه های مقاوم به مقادیر بالای متی سیلین در محیط، یک هشدار جدی برای سیستم بهداشتی و سلامت جامعه است.*

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، آبهای سطحی، SCCmec تایپینگ

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان باکتری بیماری زایی شناخته می شود که عامل ایجاد طیف وسیعی از عفونت های انسانی در بیمارستان و جامعه است و همین امر درمان آن ها را با مشکل مواجه می سازد(۱, ۲). این سویه ها اغلب نسبت به طیف وسیعی از آنتی بیوتیک ها از جمله متی سیلین مقاوم هستند(۳). نخستین سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در سال ۱۹۶۰ کشف شد و به مدت بیش از ۴۰ سال، عفونت های سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین ناشی از

سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از بیمارستان (HA-MRSA) بودند و در میان بیماران بستری در بیمارستان و سرپایی واجد عوامل مستعد کننده شایع بودند(۴). در سال ۱۹۹۹، با ظهور سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه (CA-MRSA) در میان بیماران فاقد هر گونه عامل مستعد کننده مشخصی، همه گیرشناسی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین به طور کامل تغییر پیدا کرد(۱, ۵). این قبیل سویه ها، اغلب واجد SCCmec تایپ های IV و V هستند، لوکوسیدین پنتون ولنتاین را نیز تولید کرده و هم چنین نسبت به تمامی کلاس های آنتی بیوتیکی به جز آنتی بیوتیک های بتا-لاکتام حساسیت نشان می دهند(۶, ۷).

کنترل سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه بسیار حائز اهمیت است و نیازمند شناسایی مخازن محیطی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین است. فاضلاب و آب های سطحی از مخزن احتمالی برای سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در جامعه به شمار می روند و می توانند نقش مهمی در گسترش و انتشار مقاومت آنتی بیوتیکی داشته باشند(۴, ۸, ۹). به عنوان مثال، وجود ژن های مقاومت در سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در تصفیه خانه های فاضلاب شهری در سوئد، پیش تر نشان داده شده است(۱۰-۸). هم چنین، به نقش انتقال افقی ژن در گسترش مقاومت آنتی بیوتیکی در محیط نیز پی برده شده است(۱۱). ژن mecA که مسئول ایجاد مقاومت نسبت به متی سیلین است، در فاضلاب شهری و بیمارستانی نیز یافت شده است(۴, ۱۰-۸). بنابراین، هر گونه تماس آب های سطحی و جاری با فاضلاب خام و تصفیه شده می تواند منجر به گسترش و انتشار سویه های باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک شده و باعث افزایش خطر ابتلا به عفونت های ناشی از سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در جامعه شود(۴, ۱۲).

بر اساس اطلاعاتی که در دست است، تا کنون هیچ گونه اطلاعاتی در مورد شیوع سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی سیلین در آب های سطحی در ایران در دست نیست. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و تعیین تایپ غالب کاست کروموزومی ژن mec در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در آب های سطحی شهر کرج در طی سال ۱۳۹۲ به انجام رسیده است.

روش کار

نمونه گیری از آب های سطحی در ۲ منطقه مرکزی و شمالی کرج انجام شد. برای این منظور در طی سال ۱۳۹۲ در مجموع ۶ مرتبه نمونه گیری از هر منطقه در فصل بهار (در هر ماه ۲ مرتبه نمونه گیری در اول و پانزدهم هر ماه) انجام گرفت. برای انجام نمونه گیری از بطری های استریل ۱ لیتری استفاده شد و نمونه ها در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شدند و در کمتر از ۶ ساعت بررسی شدند(۱۳). برای این منظور، در آزمایشگاه از نمونه ها با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل سریال رقت تهیه گردید و با استفاده از سیستم فیلتراسیون (Millipore, Millipore Corporation, Bedford, MA, USA) با فیلترهایی به قطر منافذ ۰/۴۵ میکرون فیلتر شدند. سپس فیلترها بر روی محیط Hicrome aureus agar (Himedia, Mumbai, India) قرار داده شدند 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 روی این فیلترها کلنی برداری انجام گرفت و بر روی محیط Blood agar (Merck, Darmstadt, Germany) واجد خون گوسفندی کشت داده شدند تا اولا محیط غنی تری جهت رشد جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس فراهم گردد و ثانیا از این راه به خالص بودن جدایه مورد مطالعه نیز پی برده شود. پس از رشد جدایه ها بر روی محیط بلاد آگار آزمایشات تعیین جنس و گونه بر روی آنها انجام گرفت. کلنی برداری از پلیت هایی انجام گرفت که حداقل واجد ۲۴ کلنی بودند. برای این منظور رقت ۰/۱ بهترین انتخاب بود(۱۳).

به منظور شناسایی جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس جدا سازی شده از محیط کروموژن از آزمون های رنگ آمیزی گرم، کواگولاز و DNase و تخمیر قند مانیتول استفاده گردید(۱۴). بدین ترتیب، جدایه های گرم مثبت، کواگولاز و DNase مثبتی که قادر به تخمیر قند مانیتول بودند به عنوان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مورد تأیید قرار گرفتند.

جهت تعیین مقاومت سویه های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به اگزاسیلین (۱ میکروگرم) (MAST Group, Merseyside, United Kingdom) از روش دیسک دیفیوژن بر اساس استانداردهای Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) استفاده گردید(۱۵). سپس برای تعیین حداقل غلظت مهار کننده آنتی بیوتیک اگزاسیلین در سویه های مقاوم، از روش broth micro dilution با استفاده از استانداردهای CLSI بکار گرفته شد(۱۶). پس از انتخاب سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، حساسیت آنتی-بیوتیکی جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به اگزاسیلین به روش دیسک دیفیوژن و بر اساس استانداردهای CLSI نسبت به ۱۲ آنتی بیوتیک (آمیکاسین (۱۵ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، توبرامایسین (۱۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، ریفامپیین (۵ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، کاناماسین (۱۵ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۲۵ میکروگرم) و نیتروفورانتوئین (۳۰۰ میکروگرم)) و با استفاده از محیط Muller Hinton Agar (Merck, Darmstadt, Germany) واجد ۴٪ نمک تعیین شد(۱۵). دیسک های آنتی بیوتیکی مورد استفاده از شرکت MAST (Merseyside, United Kingdom) تهیه شدند.

جهت استخراج DNA سویه های مقاوم به متی سیلین از روش Boiling استفاده شد(۱۷). برای این منظور، یک لوپ پر از باکتری در ۳۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل میکس و ورتکس شد. سپس لوله ها به مدت ۱۵ دقیقه در Thermomixer (Eppendorf, Hamburg, Germany) قرار داده شدند. لوله ها در g ۱۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند و از سوپرناتانت واجد DNA به عنوان الگو استفاده شد.

به منظور بررسی ژن mecA در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از آزمون PCR استفاده شد(۱۸).جهت انجام SCCmec تایپینگ، آزمون Multiplex-PCR با استفاده از ۸ جفت پرایمر اختصاصی به روشی که پیش تر به آن اشاره گردید استفاده شد(۱۹).

یافته ها

در مجموع ۲۸۸ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس از ۲ منبع جدا سازی گردید. همانگونه که پیشتر اشاره گردید، از رقت ۰/۱ هر یک از نمونه ها استفاده شد و از هر پلیت ۲۴ کلنی برداشت شد. تمامی جدایه ها با استفاده از آزمونهای بیوشیمیایی و فنوتیپی تا حد گونه مورد شناسایی قرار گرفتند. نکته قابل توجه این بود که در تمامی ۱۲ مرحله نمونه گیری، سویه های استافیلوکوکوس اورئوس جدا سازی شدند.

پس از بررسی حساسیت سویه های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به اگزاسیلین به روش دیسک دیفیوژن، ۳۷ سویه (۱۲/۸٪) به عنوان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین انتخاب گردیدند. چنانچه در جدول شماره ۱ نشان داده شده است، بیشترین تعداد سویه های مقاوم به متی سیلین از کانال شمالی جدا سازی شده است. همچنین مشخص گردید که سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، در همه ۶ مرحله نمونه گیری از کانال شمالی جدا سازی شدند در حالی که این سویه ها تنها در ۴ مرحله نمونه گیری از کانال مرکزی به دست آمدند.

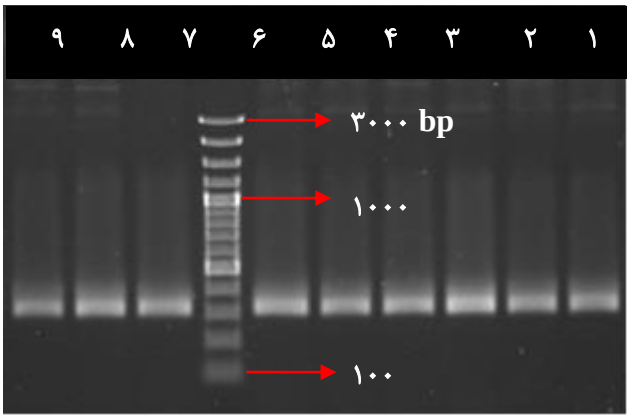
جدول ۱. فراوانی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی سیلین جدا شده از کانال های ۲ منطقه در کرج

تاریخ	۹۲/۱/۱۵		۹۲/۱/۳۰		۹۲/۲/۱۵		۹۲/۲/۳۰		۹۲/۳/۱۵		۹۲/۳/۳۰	
مقاومت	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
شمالی	۱۹	۵	۲۰	۴	۲۲	۲	۱۸	۶	۲۱	۳	۱۹	۵
مرکزی	۲۴	-	۲۲	۲	۱۹	۵	۲۴	-	۲۳	۱	۲۰	۴
مجموع	۴۳	۵	۴۲	۶	۴۱	۷	۴۲	۶	۴۴	۴	۳۹	۹

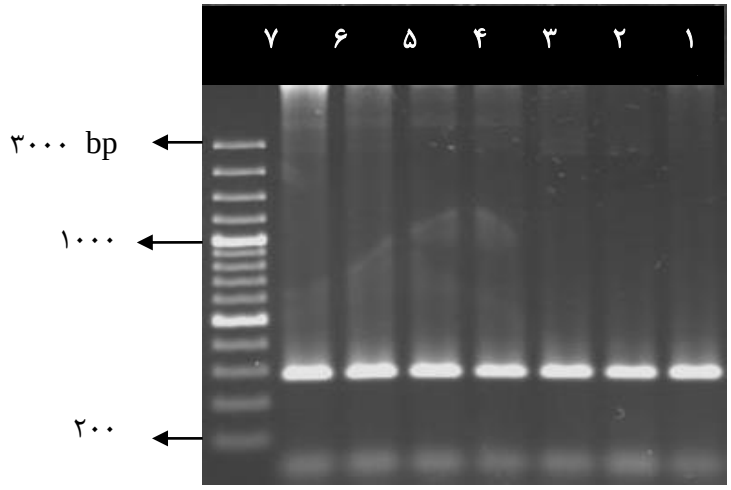
بیش ترین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین مشاهده گردید و ۳۳ سویه (۸۹٪) نسبت به آن مقاومت نشان دادند. همچنین ۳۱ سویه (۸۴٪) نیز نسبت به اریترومایسین مقاوم بودند. علاوه بر این، میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های توبرامایسین (۸۱٪)، آمیکاسین (۷۶٪)، تتراسایکلین (۷۳٪)، کانامایسین (۶۸٪) و کلیندامایسین (۶۲٪) نیز در مراتب بعدی قرار داشت. در این مطالعه، ۱۷ سویه (۴۶٪) نیز نسبت به جنتامایسین مقاومت نشان دادند. مقاومت نسبت به ریفامپین (۴۱٪)، کوتریموکسازول (۳۵٪)، نیتروفورانتوئین (۲۴٪) و کلرامفنیکل (۸٪) نیز در مراتب بعدی قرار داشت.

نتایج آزمون حداقل غلظت مهار کننده آنتی بیوتیک اگزاسیلین بر روی ۳۷ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین نشان داد که، در(۵٪) ۲ سویه MIC برابر یا بیش از ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی لیتر بود. هم چنین ۹ سویه (۲۴٪) نیز دارای MIC برابر یا بیش از ۵۱۲ میکروگرم در میلی لیتر بودند. علاوه بر این، ۱۳ سویه (۳۵٪) نیز نسبت به غلظت MIC برابر یا بیش از ۲۵۶ میکروگرم در میلی لیتر مقاومت نشان دادند. ۵ سویه (۱۴٪) دارای MIC برابر یا بیش از ۱۲۸ میکروگرم در میلی لیتر بودند. همچنین ۵ و ۱۷ درصد سویه ها نیز به ترتیب دارای MIC برابر یا بیش از ۶۴ و ۱۶ میکروگرم در میلی لیتر بودند. تمامی ۳۷ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین واجد ژن *mecA* بودند (تصویر ۱) و هم خوانی کاملی میان آزمون های فنوتیپی و ژنوتیپی در این مورد وجود داشت. تمامی ۳۷ سویه (۱۰۰٪) *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین نیز دارای SCC*mec* تایپ III (تصویر ۲) که شاخص سویه های بیمارستانی است، بودند و هیچ کدام از تایپ های دیگر در میان سویه ها مشاهده نشد.

شکل ۱. آزمون PCR جهت شناسایی ژن mecA در میان جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین.۱: کنترل مثبت. ۶-۲ و ۱۰-۸: نمونه-های مربوط به جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین. ۷: نشانگر 3000 bp.



شکل ۲ . آزمون Multiplex-PCR جهت شناسایی SCCmec تایپهای مختلف در میان جدایه¬های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی¬سیلین.۱: کنترل مثبت. ۷-۲: نمونه¬های مربوط به جدایه¬های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی¬سیلین. ۸: نشانگر 3000 bp .



بحث

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از عوامل مهم عفونت های بیمارستانی و اکتسابی از جامعه است که با طیف گسترده ای از بیماری ها در ارتباط است، به طوری که جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* از شایع ترین بیماری زاهای جداسازی شده از عفونت های خون، پوست، بافت نرم و پنومونی محسوب می شود(۲۰). پس از ظهور جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در بیمارستان ها و افزایش عفونت های بیمارستانی ناشی از آنها، به‌تدریج این عوامل به محیط های خارج از بیمارستان نیز راه یافته و با ایجاد عفونت های ناشی از جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه، به پیچیدگی درمان بیماری های حاصله از این جدایه ها نیز افزودند. *استافیلوکوکوس اورئوس* باکتری است که به طور ذاتی دارای حساسیت نسبت به تمامی آنتی بیوتیک ها است(۲۱).

در این مطالعه نشان داده شد که فراوانی جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در آب های سطحی در شهر کرج ۱۲/۸ درصد بود. در طی ۱۲ مرتبه نمونه گیری از دو کانال در نقاط مختلف شهر، جدایه های مقاوم به متی سیلین *استافیلوکوکوس اورئوس* با الگوهای آنتی بیوتیکی مشابه و مختلف جداسازی شدند. Borjesson و هم کاران در سوئد در سال ۲۰۱۰ توانستند ۱۸۹ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین را از نمونه های محیطی جدا نمایند. آنها هم چنین نشان

دادند که ۲۳ درصد جدایه ها مقاوم به اریترومایسین و کلیندامایسین، ۳ درصد مقاوم به اسید فوزیدیک، ۷ درصد مقاوم به کوتریموکسازول، ۲۰ درصد مقاوم به توبرامایسین و سیپروفلوکساسین بودند؛ اما هیچ گونه مقاومتی نسبت به ونکومایسین و لینزولید مشاهده نگردید(۱۰). در سایر مطالعات محققان موفق به جداسازی جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین از نمونه های محیطی نشدند و یا شیوع بسیار اندکی گزارش گردید(۲۵-۲۲). اما در این مطالعه شیوع جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در آب های سطحی شهری کرج گزارش گردید که با توجه به شیوع بالای جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین در ایران (۱۷, ۳۰-۲۶)، این شیوع کاملا مورد انتظار بود. بنابراین می توان آب های سطحی را به عنوان مخزن جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین به شمار آورد.

در این مطالعه در طی تمامی مراحل نمونه گیری، باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و هم چنین در ۱۰ مرحله نمونه گیری *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین از نمونه های آب های سطحی در هر دو کانال جدا شدند. بالا بودن آلودگی در نمونه های محیطی می تواند به دلایل مختلفی از جمله عدم رعایت صحیح اصول بهداشتی و تخلیه فاضلاب های مغازه ها، منازل و هم چنین شستشوی ماشین ها به خصوص در کانال شمالی و یا تخلیه ضایعات مرکز تره بار در مسیر کانال منطقه مرکزی کرج باشد.

در میان جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین جدا شده از نمونه آب های سطحی در این مطالعه، در مجموع ۱ تایپ SCC*mec* مشاهده گردید و ۱۰۰ درصد سویه ها دارای SCC*mec* تایپ III بودند. با توجه به اینکه شیوع جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در ایران بالا است، بنابراین انتظار می رفت که با شیوع بالایی از این جدایه ها در محیط نیز مواجه باشیم. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که آب سطحی می تواند به عنوان یک مخزن بسیار مهم برای جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین محسوب شود. وجود جدایه های واجد SCC*mec* تایپ III در آب های سطحی شهری می تواند یک هشدار جدی برای سیستم بهداشتی باشد. هم چنین وجود جدایه‌هایی با SCC*mec* تایپ III در آب های سطحی، نشان‌دهنده گردش جدایه های مشترک در جامعه شهری با منشاء بیمارستانی است. هم چنین می توان این گونه نتیجه‌گیری نمود که منشاء جدایه های موجود در آب های سطحی از جدایه هایی است که در جامعه در حال گردش هستند. در این مطالعه در طی ۶ مرحله نمونه گیری از هر یک منابع، ویژگی جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی - سیلین در کانال های مورد مطالعه متغیر بود، که نشان دهنده گذرا بودن میکروارگانیسم های محیطی است. همان گونه که پیش تر مطرح گردید، وجود SCC*mec* تایپ III که از نظر اندازه بزرگ هستند، هم راه با سایر ژن های مقاومت نسبت به سایر آنتی بیوتیک ها هم راه است که در این مطالعه نیز به این شکل است و مقاومت بالایی نسبت به سایر آنتی بیوتیک ها نیز مشاهده گردید(۳۱). بنابراین عدم وجود SCC*mec* تایپ های IV و V که از نظر اندازه کوچک‌تر هستند و حامل ژنهای مقاومت آنتی - بیوتیکی نیستند را می توان تفسیر نمود.

Borjesson و هم کاران در سوئد در سال ۲۰۱۰ با مطالعه ۱۸۹ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین جدا شده از نمونه های فاضلاب نشان دادند که، ۶۹ درصد جدایه ها واجد SCC*mec* تایپ IV و ۳۱ درصد جدایه ها نیز واجد SCC*mec* تایپ I بودند. آنها هم چنین نشان دادند که ۲۳ درصد جدایه ها مقاوم به اریترومایسین و کلیندامایسین، ۳ درصد مقاوم به اسید فوزیدیک، ۷ درصد مقاوم به کوتریموکسازول، ۲۰ درصد مقاوم به توبرامایسین و سیپروفلوکساسین بودند؛ اما هیچ‌گونه مقاومتی نسبت به ونکومایسین و لینزولید مشاهده نگردید(۱۰).

به طور کلی مقایسه نتایج حاصل از این مطالعه و سایر مطالعات نشان - دهنده تفاوت بسیار زیاد SCC*mec* تایپ گزارش شده از ایران با سایر کشورها است. در این مطالعه تمامی جدایه‌های جداسازی شده تنها واجد ۱ تایپ بودند و این تایپ در نمونه های بالینی و فاضلابی ایران نیز غالب است(۲۶, ۳۲, ۳۳). به نظر می رسد که این جدایه ها منشاء بالینی دارند و از بیمارستان ها در نمونه های محیطی منتشر شده اند. به واسطه عدم دسترسی به اطلاعات بیش تر در ایران در مورد نمونه های محیطی نمی توان اظهار نظر قطعی و تخمین صحیحی در مورد تایپ غالب SCC*mec* در ایران ارائه نمود. این مطالعه نخستین گزارش از SCC*mec* تایپ های آبهای سطحی در ایران به شمار می رود.

عدم دسترسی به اطلاعات دقیق و هم چنین فقدان مطالعات جامع صورت گرفته بر روی جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از محیط در ایران، باعث شده است که نتوان قضاوت درستی بر روی نتایج حاصل از SCC*mec* تایپینگ جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم در این پژوهش داشت.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه مؤید وجود و تداوم گروه های کلونال بسیار مقاوم *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در آبهای سطحی کرج است. شیوع بالای SCC*mec* تایپ III در میان این سویه ها نشان دهنده ارتباط همه گیرشناسی میان جدایه های محیطی و بالینی است. انتشار این سویه های مقاوم به مقادیر بالای متی سیلین در محیط و جامعه، یک هشدار جدی برای سیستم بهداشتی و سلامت جامعه است.

تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی و فنآوری دانشگاه اصفهان در قالب اعطای پژوهانه به اعضای هیأت علمی جدید استخدام دانشگاه اصفهان به انجام رسیده است. نویسندگان مراتب قدردانی و سپاسگزاری خود را از جناب آقای دکتر محمد ربانی معاونت پژوهشی و فنآوری دانشگاه اصفهان اعلام می نمایند.

REFERENCES

1. Bassetti M, Nicco E, Mikulska M. Why is community-associated MRSA spreading across the world and how will it change clinical practice? International journal of antimicrobial agents. 2009;34:S15-S9.

2. Durand G, Bes M, Meugnier H, Enright MC, Forey F, Liassine N, et al. Detection of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones containing the toxic shock syndrome toxin 1 gene responsible for hospital-and community-acquired infections in France. Journal of clinical microbiology. 2006;44(3):847-53.

3. Hanssen AM, Ericson Sollid JU. SCC*mec* in staphylococci: genes on the move. FEMS Immunology & Medical Microbiology. 2006;46(1):8-20.

4. Goldstein RER, Micallef SA, Gibbs SG, Davis JA, He X, George A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) detected at four US wastewater treatment plants. Environmental health perspectives. 2012;120(11):1551.

5. Charlebois ED, Perdreau-Remington F, Kreiswirth B, Bangsberg DR, Ciccarone D, Diep BA, et al. Origins of community strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clinical infectious diseases. 2004;39(1):47-54.

6. Otter J, French G. Community-associated meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains as a cause of healthcare-associated infection. Journal of Hospital Infection. 2011;79(3):189-93.

7. Otter J, French G. Community-associated meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the case for a genotypic definition. Journal of Hospital Infection. 2012;81(3):143-8.

8. 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. International Journal of Environmental Health Reseafrch. 2009; 19:219-30.

9. Börjesson S, Melin S, Matussek A, Lindgren P-E. A seasonal study of the< i> mec</i> A gene and *Staphylococcus aureus* including methicillin-resistant *S. aureus* in a municipal wastewater treatment plant. Water Research. 2009;43(4):925-32.

10. Börjesson S, Matussek A, Melin S, Löfgren S, Lindgren P-E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in municipal wastewater: an uncharted threat? Journal of applied microbiology. 2010;108(4):1244-51.

11. Allen HK, Donato J, Wang HH, Cloud-Hansen KA, Davies J, Handelsman J. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. Nature Reviews Microbiology. 2010;8(4):251-9.

12. Iwane T, Urase T, Yamamoto K. Possible impact of treated wastewater discharge on incidence of antibiotic resistant bacteria in river water. Water Science & Technology. 2001;43(2):91-9.

13. 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, and Soil Pollution. 2007;185(1-4):111-9.

14. Kateete DP, Kimani CN, Katabazi FA, Okeng A, Okee MS, Nanteza A, et al. Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. Annals of clinical microbiology and antimicrobials. 2010;9(1):23.

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

16. Clinical and Laboratory Standard Institute C. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A7. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa. 2006.

17. 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. Iranian Journal of Clinical Infectious Diseases. 2009;4(3):143-50.

18. 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.

19. Zhang K, McClure J-A, Elsayed S, Louie T, Conly JM. Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome mec types I to V in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Clinical Microbiology. 2005;43(10):5026-33.

20. Pantůček R, Doškař J, Růžičková 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.

21. Lin Y-C, Lauderdale T-L, Lin H-M, Chen P, Cheng M, Hsieh K, et al. An outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in patients of a pediatric intensive care unit and high carriage rate among health care workers. Journal of microbiology, immunology, and infection. 2007;40(4):325.

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

23. 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 Microbiology Ecology. 2003;43(3):325-35.

24. Shannon K, Lee D-Y, Trevors J, Beaudette L. Application of real-time quantitative PCR for the detection of selected bacterial pathogens during municipal wastewater treatment. Science of the total environment. 2007;382(1):121-9.

25. 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). Journal of microbiological methods. 2004;56(2):277-86.

26. 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. Microbial Drug Resistance. 2008;14(3):217-20.

27. 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 Journal of Infectious Diseases. 2011;64(1):28-33.

28. 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 Journal of Microbiology. 2013;6(1):80-5.

29. Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie MR. Prophage and antibiotic resistance profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in Iran. Archives of virology. 2012;157(9):1807-11.

30. Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie MR. Antibiotic Resistance pattern of methicillin resistant and methicillin sensitive Staphylococcus aureus isolates in Tehran, Iran. Jundishapur Journal of Microbiology. 2013;6(2):144-9.

31. Deurenberg RH, Stobberingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. Infection, genetics and evolution. 2008;8(6):747-63.

32. Rahimi F, Karimi S, Pourshafie MR. Typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients in Isfahan. Iranian Journal of Infectious Disease and Tropical Medicine. 2014;In Press.

33. Rahimi F, Bouzari M. Sewage and clinical methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Tehran, Iran. Journal of Medical Microbiology. 2014;In Press.