جداسازی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از فاضلاب بیمارستانی در شهر تهران در سال ۱۳۹۴

مینا ترابی[۱]، فاتح رحیمی[۲]*

۱-کارشناس ارشد میکروبیولوژی، بخش میکروب شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان
۲-دکترای تخصصی باکتری شناسی، دانشیار بخش میکروب شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

***نشانی برای مکاتبه:** دکتر فاتح رحیمی، اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، بخش میکروبشناسی
f.rahimi@sci.ui.ac.ir

دریافت مقاله: دی ماه نود و شش پذیرش برای چاپ: بهمن نود و شش

چکیده

سابقه و هدف: *استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان باکتری بیماری زایی شناخته می شود که عامل ایجاد طیف وسیعی از عفونتهای انسانی در بیمارستان و جامعه است که همین امر درمان آنها را با مشکل مواجه می سازد. این مطالعه با هدف جداسازی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین جداسازی شده از فاضلاب بیمارستانی در شهر تهران در سال ۱۳۹۴ به انجام رسیده است.*

روش کار: *جهت جداسازی باکتریها از سیستم فیلتراسیون و محیط رنگی ژلوز Hicrome aureus واجد آنتی بیوتیک اگزاسیلین استفاده گردید. تمامی سویه های جداسازی شده با استفاده از آزمونهای بیوشیمیایی و آزمون PCR تا حد گونه شناسایی شدند و حضور ژن mecA در میان آنها تعیین گردید. حساسیت سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین بر اساس دستورالعمل Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) نسبت به ۱۷ آنتی‌بیوتیک به روش دیسک دیفیوژن مورد بررسی قرار گرفت. همچنین حداقل غلظت مهارکننده از رشد آنتی بیوتیکهای ونکومایسین و اگزاسیلین به روش broth microdilution تعیین گردید.*

یافته ها: *تمامی ۷۹ کلنی جداسازی شده از محیط واجد آنتی بیوتیک، نسبت به آنتی بیوتیک سفوکسی تین مقاومت نشان دادند و همچنین واجد ژنهای mecA و nucA بودند و به عنوان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مورد شناسایی قرار گرفتند. تمامی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین نسبت به آنتی بیوتیکهای لینزولاید، کینوپریستین-دالفوپریستین، کلرامفنیکل و ونکومایسین حساسیت نشان دادند و مقاومت آنها نسبت به آنتی بیوتیکهای پنی سیلین، سیپروفلوکساسین، کانامایسین، توبرامایسین، اریترومایسین، آمیکاسین، تتراسایکلین، کلیندامایسین، ریفامپین، تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول، مینوسایکلین، جنتامایسین و نیتروفورانتوئین به ترتیب ۱۰۰، ۹۲، ۸۹، ۸۹، ۸۷، ۷۹، ۷۹، ۶۲، ۵۸، ۴۸، ۴۵ و ۳ بود. در این مطالعه در مجموع ۲۵ الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی شناسایی گردید که ۸ درصد سویه ها تنها نسبت به آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و ۹۲ درصد نیز نسبت به ۱۲-۳ آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دادند.*

نتیجه گیری: *نتایج حاصل از این مطالعه مؤید وجود و تداوم گروه های کلونال متنوع و مقاوم به آنتی بیوتیک در فاضلاب تصفیه شده بیمارستان مورد مطالعه است. راه یافتن این باکتریهای بالقوه بیماری زا و مقاوم به آنتی بیوتیک به سیستم فاضلاب شهری تهران می - تواند یک خطر جدی برای سلامت و بهداشت جامعه شهری باشد که نیازمند بازنگری و ارتقاء کیفیت سیستمهای تصفیه فاضلاب بیمارستانی باشد.*

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، فاضلاب بیمارستانی، الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی

مقدمه

مجموعه آبهای باقیمانده از مصارف انسانی را که با مواد گوناگون مخلوط گردیده، فاضلاب می نامند. بدین ترتیب در فاضلاب مقادیر زیادی از مدفوع انسان، فضولات حیوانی، باقیمانده های کارخانجات صنعتی، پساب بیمارستانی و بسیاری از مواد زائد ممکن است وجود داشته باشد. قسمت عمده فاضلاب را آب تشکیل می دهد. مواد جامد موجود در فاضلابها اغلب شامل اوره، پروتئینها، هیدراتهای کربن مختلف نظیر سلولز، نشاسته، قندها، چربیها و مواد صابونی و پاک‌کننده می باشد (۱). بنابراین قسمت عمده مواد موجود در فاضلابها را مواد آلی تشکیل می دهند؛ که این مواد تحت تأثیر میکروارگانیسم های مختلف به تدریج تجزیه می شوند. در فاضلابها انواع میکروارگانیسم ها وجود دارند که تعداد زیادی از آنها ساپروفیت هستند و مواد مختلف موجود در فاضلاب را تجزیه می نمایند. علاوه بر آنها، میکروارگانیسم های بیماری زا از قبیل اشرشیا کلای، استافیلوکوکوس اورئوس و انتروکوکوس فکالیس نیز ممکن است در فاضلابها دیده شوند؛ که وجود این میکروارگانیسم ها ناشی از آلودگی فاضلاب به مواد دفعی بیماران است (۲).

مقاومت آنتی بیوتیکی در سراسر جهان بسیار متداول می باشد و مبدل به بزرگترین نگرانی بهداشت عمومی در سراسر جهان شده است. استفاده بیش‌ازحد از آنتی بیوتیکها برای درمان عفونتهای انسانی در هر دو سطح بیمارستانی و جامعه و همچنین در پرورش دام و طیور، منجر به افزایش مقاومت باکتریها نسبت به آنتی بیوتیکها شده است. آنتی بیوتیکها، باکتریها را در فشار انتخابی بالایی قرار می دهند. این فشار انتخابی منجر به از بین رفتن باکتریهای حساس به آنتی بیوتیک می شود، درنتیجه باکتریهای مقاوم گسترش پیدا می کنند (۳). مطرح شده است که مقدار بسیار زیادی از آنتی بیوتیکهای تجویز شده در محیط فعال فاضلاب، ممکن است به عنوان یک مخزن محیطی فعالیت کند و نقش چشمگیری در گسترش و انتشار مقاومت آنتی بیوتیکی، به عنوان مثال نسبت به آنتی بیوتیکهای بتالاکتام که در سیستمهای فاضلابی و آبهای سطحی شناسایی شده اند، داشته باشد. نقش انتقال افقی ژن در شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی در محیط به اثبات رسیده است (۴). مشخص‌شده است که سویه های استافیلوکوکوس اورئوس و به ویژه سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، ممکن است به صورت موقت یا دائمی در بخشهای مختلف در بیمارستانها ساکن شوند، در نتیجه از طریق راه هایی مانند فاضلاب بیمارستانی امکان انتشار به محیط را پیدا می کنند. پیش بینی شده است که این باکتریها از طریق فاضلاب به واحدهای تصفیه فاضلاب راه پیداکرده و احتمالاً در طی فرآیند تصفیه زنده باقی می مانند و با خروجی واحد تصفیه، در محیط آزاد می شوند. آزادسازی سویه های بیمارستانی از قبیل سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین که واجد مقاومت چندگانه هستند، به ذخیره ژن باکتریهای با مقاومت چندگانه آنتی بیوتیکی در واحدهای تصفیه و فاضلاب کمک می کند. با وجود مطالعات فراوانی که در زمینه شیوع و بیماری زائی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین صورت گرفته است، اطلاعات کمی در مورد توانایی بقاء این سویه ها در واحدهای تصفیه فاضلاب و محیط وجود دارد (۳, ۵, ۶). این مطالعه برای نخستین بار در کشور با هدف جداسازی، تعیین فراوانی و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در فاضلاب یک بیمارستان در شهر تهران در طی سال ۱۳۹۴ به انجام رسیده است.

روش کار

جهت انجام این مطالعه، نمونه گیری از فاضلاب خروجی و تصفیه شده یک بیمارستان در مرکز شهر تهران انجام گرفت. سیستم تصفیه فاضلاب در بیمارستان مورد نظر مبتنی بر روش سپتیک تانک است. برای این منظور در طی ماه های بهمن و اسفند سال ۱۳۹۴ در مجموع ۲ مرتبه نمونه گیری انجام گرفت. برای انجام نمونه گیری از بطریهای استریل ۱ لیتری استفاده شد و در هر مرتبه ۵۰۰ میلی لیتر فاضلاب جمع آوری گردید و نمونه ها در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شدند و در کمتر از ۶ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند (۴, ۷). برای این منظور، در آزمایشگاه با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل از نمونه ها 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) واجد ۱ میکروگرم/میلی لیتر آنتی‌بیوتیک اگزاسیلین (Sigma-Aldrich, Mo, USA) منتقل شده و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. پس از اتمام زمان ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری، کلنی‌های سیاه رنگ بر روی فیلتر در محیط ژلوز Hicrome aureus انتخاب گردیدند و جهت خالص‌سازی و انجام آزمونهای بعدی بر روی محیط ژلوز خون‌دار (Merck, Darmstadt, Germany) کشت داده شدند. باید توجه داشت که جهت انجام این بررسی از هر پلیت حداقل ۲۴ کلنی انتخاب و مورد بررسی قرار گرفتند (۴, ۷).

به منظور شناسایی جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس جدا سازی شده از محیط کروموژن از آزمونهای رنگ آمیزی گرم، کواگولاز و DNase و تخمیر قند مانیتول استفاده گردید (۸). بدین ترتیب، جدایه های گرم مثبت، کواگولاز و DNase مثبتی که قادر به تخمیر قند مانیتول بودند به عنوان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مورد شناسایی قرار گرفتند. جهت تأیید نهایی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی nucA و mecA استفاده گردید.

جهت استخراج DNA سویه های مقاوم به متی سیلین از روش جوشاندن استفاده شد (۹). مطابق با دستورالعمل رحیمی و همکاران ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل، در میکروتیوبهای استریل اضافه شد. سپس به میزان کمی از کشت تازه باکتری به آب مقطر استریل اضافه شد و به خوبی ورتکس گردید. میکروتیوبهای حاوی باکتری به مدت ۲۰ دقیقه درون آب جوش قرار داده شدند و پس از آن، به مدت ۱۵ دقیقه در دور g × ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شدند و سوپرناتانت واجد DNA به عنوان الگو مورد استفاده قرار گرفت.

جهت تأیید شناسایی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی nuc معرفی شده توسط Zoharoa و همکاران استفاده گردید (۱۰).

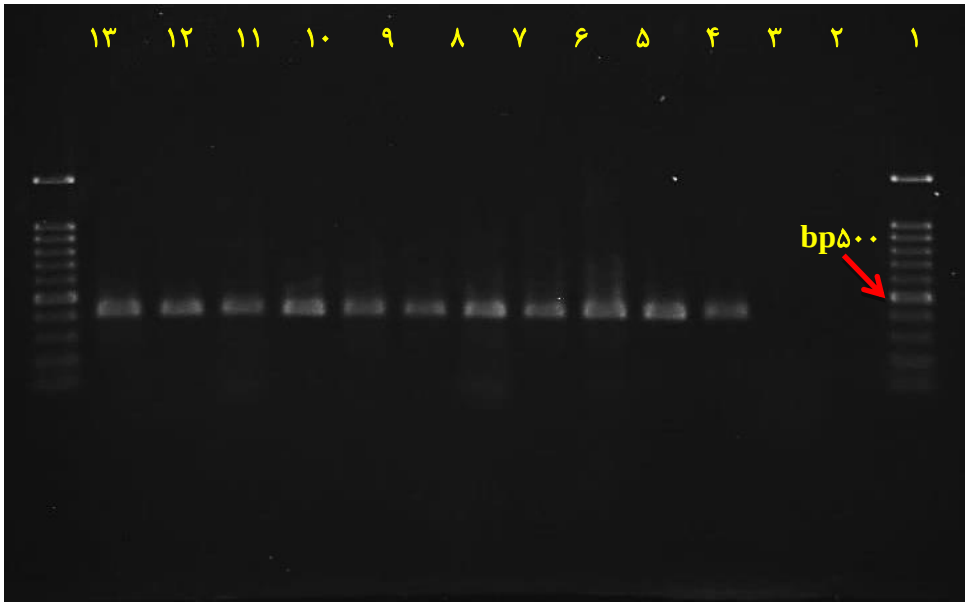
به منظور بررسی حضور ژن mecA در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و پروتکل معرفی شده توسط McClure و همکاران استفاده شد (۱۱).

جهت تعیین مقاومت سویه های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به دیسک سفوکسی تین (۳۰ میکروگرم) Rosco (Neo Sensitabs, Denmark) از روش دیسک دیفیوژن بر اساس استانداردهای Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) استفاده گردید (۱۲). سپس حداقل غلظت مهار کننده آنتی بیوتیکهای اگزاسیلین و ونکومایسین در سویه های مقاوم به روش broth micro dilution با استفاده از استانداردهای CLSI مورد استفاده قرار گرفت (۱۳).

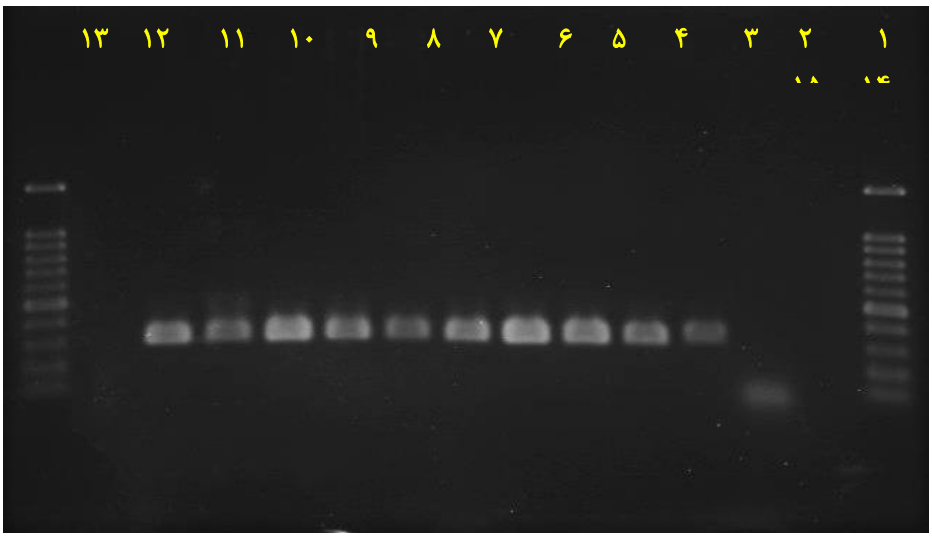
پس از انتخاب سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به اگزاسیلین به روش دیسک دیفیوژن و بر اساس استانداردهای CLSI نسبت به ۱۶ آنتی بیوتیک (آمیکاسین (۱۵ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، پنی سیلین (۵ میکروگرم)، توبرامایسین (۱۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، ریفامپیین (۵ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، کانامایسین (۱۵ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم)، تری متوپریم-سولفامتوکسازول (۲۵ میکروگرم) کینوپریستین-دالفوپریستین (۱۵ میکروگرم)، لینزولاید (۳۰ میکروگرم) و نیتروفورانتوئین (۳۰۰ میکروگرم) و با استفاده از محیط Muller Hinton Agar (Merck, Darmstadt, Germany) مورد بررسی قرار گرفت (۱۲). دیسکهای آنتی بیوتیکی مورد استفاده از شرکت Rosco (Neo Sensitabs, Denmark) تهیه شدند.

یافته ها

در این مطالعه در طی ۲ مرتبه نمونه گیری در بهمن و اسفند ۱۳۹۴ از فاضلاب تصفیه‌شده خروجی یک بیمارستان در مرکز شهر تهران، در مجموع ۷۹ سویه فاضلابی مشکوک به استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین بر روی محیط اختصاصی ژلوز Hicrome aureus واجد ۱ میکروگرم/میلی‌لیتر آنتی بیوتیک اگزاسیلین جداسازی گردید. در ابتدا تمامی ۷۹ سویه جداسازی شده از محیط رنگی اختصاصی استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از آزمونهای بیوشیمیایی به عنوان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مورد شناسایی اولیه قرار گرفتند و سپس برای تأیید نهایی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس، از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن nuc استفاده شد (تصویر ۱) که نتایج حاصل از هر دو آزمون کاملاً منطبق بر یکدیگر بودند. همچنین تمامی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین شناسایی شده واجد ژن mecA بودند (تصویر ۲) و به عنوان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مورد تأیید قرار گرفتند.



تصویر ۱- آزمون PCR جهت شناسایی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس. ۱ و ۱۵: مارکر؛ ۱۴-۵: سویه های استافیلوکوکوس اورئوس؛ ۲: کنترل منفی؛ ۳: NTC؛ ۴: کنترل مثبت.



تصویر ۲- آزمون PCR جهت شناسایی ژن mecA در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین. ۱ و ۱۵: مارکر؛ ۱۳-۵ سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین؛ ۱۴: کنترل منفی؛ ۲ و ۳: NTC؛ ۴: کنترل مثبت.

بر اساس نتایج حاصل از آزمون دیسک دیفیوژن با استفاده از آنتی بیوتیک سفوکسی تین بر اساس دستورالعمل CLSI، تمامی ۷۹ سویه جداسازی شده از محیط واجد اگزاسیلین نسبت به دیسک سفوکسی تین مقاوم بودند و به عنوان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین انتخاب شدند.

به منظور تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین نسبت به آنتی بیوتیک اگزاسیلین، از آزمون براث میکرودایلوشن استفاده گردید. بر این اساس مشخص گردید که از میان ۷۹ سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین به روش دیسک دیفیوژن، ۳۰ سویه (۳۸ درصد) نسبت به غلظت بیشتر از ۲۰۴۸ میکروگرم/میلی‌لیتر آنتی بیوتیک اگزاسیلین مقاوم بودند. همچنین، ۲۴ سویه (۳۰/۳۸ درصد) نسبت به غلظت ۱۰۲۴ میکروگرم/ میلی لیتر، ۱۳ سویه (۱۶/۴۶ درصد) نسبت به غلظت ۵۱۲ میکروگرم/میلی لیتر، ۱۰ سویه (۱۲/۶۶ درصد) نسبت به غلظت ۲۵۶ میکروگرم/ میلی لیتر و ۲ سویه (۲/۵۳ درصد) نسبت به غلظت ۶۴ میکروگرم/میلی لیتر از آنتی بیوتیک اگزاسیلین مقاومت نشان دادند. هیچ سویه ای در غلظت ۱۲۸ میکروگرم/میلی لیتر از آنتی بیوتیک دیده نشد.

تمامی سویه ها نسبت به آنتی بیوتیکهای کلرامفنیکل، لینزولاید و کینوپریستین-دالفوپریستین حساسیت نشان دادند. همچنین، تمامی سویه ها (۱۰۰ درصد) نسبت به پنی سیلین مقاوم بودند و پس از آن بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین (۹۲ درصد) مشاهده شد. علاوه بر این، ۸۹ درصد سویه ها نسبت به آنتی بیوتیکهای توبرامایسین و کاناماسین، ۸۷ درصد نسبت به اریترومایسین و ۷۹ درصد نیز نسبت به آنتی بیوتیکهای آمیکاسین، تتراسایکلین و کلیندامایسین مقاومت نشان دادند. پس از آن نیز مقاومت نسبت به آنتی بیوتیکهای ریفامپین (۶۲ درصد)، تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول (۵۸ درصد)، مینوسایکلین (۴۹ درصد)، جنتامایسین (۴۶ درصد) و نیتروفورانتوئین (۳ درصد) در مرتبه بعدی قرار داشتند.

در مجموع ۲۵ الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی برای سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین شناسایی شدند. بر این اساس مشخص گردید که ۶ سویه (۸ درصد) تنها نسبت به آنتی بیوتیک پنی سیلین مقاوم بودند و نسبت به سایر آنتی بیوتیکها حساسیت نشان دادند. همچنین، ۷۳ سویه (۹۲ درصد) نیز نسبت به ۱۲-۳ آنتی بیوتیک مقاوم بودند که در میان آن‌ها ۴ درصد نسبت به ۱۲ آنتی‌بیوتیک، ۳۲ درصد نسبت به ۱۱ آنتی‌بیوتیک، ۲۱/۵ درصد نسبت به ۱۰ آنتی بیوتیک، ۱۱/۵ درصد نسبت به ۹ آنتی بیوتیک، ۱ درصد نسبت به ۸ آنتی بیوتیک، ۵ درصد نسبت به ۷ آنتی بیوتیک، ۱ درصد نسبت به ۶ آنتی بیوتیک، ۱۰ درصد نسبت به ۵ آنتی بیوتیک، ۲/۵ درصد نسبت به ۴ آنتی بیوتیک و ۳/۵ درصد نیز نسبت به ۳ آنتی بیوتیک مقاوم بودند.

بحث

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهمترین عوامل ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی و اکتسابی از جامعه است، به طوری که این سویه ها از شایع ترین بیماری زاهای جداسازی شده از عفونتهای پوست، بافت نرم، خون و ذات الریه محسوب می شوند (۱۴). سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین و عفونتهای حاصل از آنها ابتدا در بیمارستانها گسترش یافتند، اما به تدریج این عوامل به محیطهای خارج از بیمارستان راه‌یافته و ایجاد عفونتهای ناشی از سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه، باعث پیچیدگی در درمان عفونتهای حاصله از این سویه ها شده است. استافیلوکوکوس اورئوس ذاتاً نسبت به تمامی آنتی بیوتیکها حساس می باشد. یک خصوصیت اصلی در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ایجاد کلونیزاسیون بدون علائم در افراد سالم است و به عنوان میکروبیوتا انسانی به شمار می رود. این گروه از افراد بیشتر در معرض عفونت قرار دارند و مهمترین منبع جهت گسترش باکتری در میان جامعه به حساب می آیند (۱۵).

از عوامل گسترش این باکتریها در محیط بیمارستانها و مراکز درمانی می توان به مصرف بیش از حد و نادرست آنتی بیوتیکها و همچنین عدم رعایت اصول بهداشتی اشاره کرد. ظهور و گسترش روزافزون جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین واجد ژنهای مقاومت چندگانه و همچنین شیوع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه، نگرانیهای زیادی را در ارتباط با سلامت و بهداشت جوامع به وجود آورده است. از طرفی دیگر، استفاده از آنتی بیوتیکهایی نظیر ونکومایسین که به عنوان آخرین سلاح درمانی عفونتهای ناشی از سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین شناسایی و معرفی شده‌اند، بسیار هزینه بر است و عوارض جانبی فراوانی برای مصرف کننده در پی دارد. بنابراین تشخیص به موقع و صحیح این سویه ها به ویژه در محیطهای بیمارستانی بسیار ضروری و حائز اهمیت است. ابتلا به عفونتهای ناشی از سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در بیمارستانها از بالاترین آمار مرگ و میر در دنیا به شمار می رود (۱۶).

با توجه به دلایل ذکر شده و اهمیت فراوان باکتریهای استافیلوکوکوس اورئوس، مطالعات فراوانی در داخل ایران و در کشورهای مختلف جهان بر روی نمونه های بالینی صورت گرفته است، با این وجود اما مطالعات در ایران بر روی فاضلاب شهری و فاضلاب بیمارستانی و به ویژه پساب خروجی به دلیل عدم همکاری مراکز تصفیه فاضلاب و بیمارستانها در ارائه نمونه فاضلاب بسیار محدود است. برای هر جامعه بسیار لازم و ضروری است که عوامل بیماری زای مهم و شایع بیمارستانی را به درستی شناسایی کند و با تعیین دقیق الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی، روشهای پیشگیری و درمان مؤثری را جهت کنترل آنها به کار گیرد. از این رو در ایران و سایر کشورهای مختلف جهان پیوسته مطالعاتی برای تعیین الگوی

مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین صورت گرفته است. پزشکان با استفاده از این اطلاعات می توانند دستورالعمل درمانی مناسب برای عفونتهای حاصله انتخاب کنند (۱۷, ۱۸).

همان طور که در مطالعات انجام شده توسط Borjesson و همکاران، Goldstein و همکاران، Naquin و همکاران و مطالعاتی دیگر از این قبیل مشاهده شده است، محققین موفق به جداسازی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از خروجی فاضلاب تصفیه شده نشدند یا میزان جداسازی سویه ها به مراتب کاهش چشمگیری داشت که نشان‌دهنده این نکته است که روند تصفیه فاضلاب موفقیت‌آمیز بوده است. ضمن اینکه در مطالعات ذکر شده، تحقیقات بر روی فاضلاب شهری صورت گرفته است (۵, ۶, ۱۹-۲۱). علت شیوع متفاوت در نقاط مختلف جهان را می توان به منطقه جغرافیایی، جمعیت حاضر در منطقه، نحوه نمونه گیری از فاضلاب و تجهیزات مورد استفاده در تصفیه فاضلاب دانست (۶, ۲۲, ۲۳). در مجموع تفاوتهایی که در میزان شیوع مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی بیوتیکها در کشورهای مختلف جهان مشاهده می شود، به دلیل تفاوت و اختلاف کشورها در سیاستهای درمان بیماران و یا کنترل بهداشت بیمارستان می باشد. روشهای مختلف کشت و جداسازی، سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی و تفاوتهای جغرافیایی نیز باعث اختلاف و تفاوت در میزان شیوع می شوند. عواملی از قبیل تجویز نادرست و فراوان آنتی بیوتیکها در عفونتهای غیرباکتریایی، عدم اتمام دوره درمان و در دسترس بودن آنتی بیوتیکها نیز می تواند به ظهور و گسترش سویه های چندمقاومتی کمک کند.

در سوئد مطالعه Borjesson و همکاران در سال ۲۰۱۰ سویه های جداسازی شده از فاضلاب، مقاومت ۲۳ درصدی نسبت به اریترومایسین و کلیندامایسین نشان دادند. همچنین مقاومت این سویه ها نسبت به سیپروفلوکساسین و توبرامایسین ۲۰ درصد ذکر گردید و هیچ گونه مقاومتی نسبت به ونکومایسین و لینزولاید مشاهده نشد (۵). در مطالعه Thompson و همکاران در استرالیا مقاومت ۱۰۰-۹۳ درصدی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شده از فاضلاب ۲ بیمارستان نسبت به آمپی سیلین ذکر شد و پس از آن آنتی بیوتیکهای جنتامایسین و سفوکسی تین در مراتب بعدی قرار داشتند. قابل ذکر است که الگوی مقاومتی آنتی بیوتیکی برای سویه های مقاوم به متی سیلین نیز مشابه بود. همچنین مشخص شد که ۸۶ درصد سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاومت نسبت به ۲ تا ۹ آنتی بیوتیک را از خود نشان دادند (۳). Goldstein و همکاران در مطالعه ای که بر روی ۲ واحد تصفیه فاضلاب آتلانتیک و غرب در کشور آمریکا صورت گرفت، مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به اریترومایسین، سیپروفلوکساسین، گاتی فلوکساسین، لووفلوکساسین به ترتیب ۸۲، ۶۳، ۶۲/۵ و ۶۳/۴ ذکر گردید. در آن مطالعه هیچ مقاومتی نسبت به ونکومایسین در سویه ها مشاهده نشد ولی میزان مقاومت نسبت به سینرسید و لینزولاید به ترتیب ۷ و ۶ درصد عنوان شد (۲۲).

نتیجه گیری

در پایان با توجه به اینکه مطالعات در زمینه فاضلاب بر روی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین محدود است، نمی توان با قاطعیت در مورد ویژگیهای سویه های غالب سخن گفت. در حالیکه با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه و با مقایسه آن با سایر مطالعاتی که در منابع مختلف صورت گرفته است، مشخص شده که الگوهای مقاومت آنتی بیوتیکی موجود در میان سویه ها در منابع مختلف از شباهت بالایی برخوردار هستند که نشان دهنده منشأ مشترک آنها است و بیمارستان را به عنوان منشأ مشترک معرفی می نماید. با توجه به اینکه در این بیمارستان پساب تصفیه شده خروجی وارد پساب تصفیه شده شهری تهران می گردد بنابراین دیگر تصفیه مجددی بر روی آن انجام نگرفته و مستقیماً از طریق این جریان وارد نهر فیروزآباد در جنوب تهران می گردد. این نهر در طی عبور از مناطق جنوبی و حاشیه شهر تهران در برخی از نقاط بدون حصار و پوشش است و در برخی از مناطق از این آب جهت شستشوی لباس و ظروف، آبتنی و شنا در فصول گرم سال و در نهایت آبیاری مزارع و باغات مورد استفاده قرار می گیرد که در این حالت سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک به راحتی در جامعه منتشر شده و این کلونهای بسیار مقاوم به آسانی در نقاط مختلف شهر تهران و در منابع مختلف قابل جداسازی هستند درصورتی‌که تمهیدات مؤثری جهت بهبود و ارتقاء سیستمهای تصفیه فاضلاب در بیمارستانها اندیشیده نشود، این کلونهای بسیار مقاوم به آنتی بیوتیک که واجد طیف گسترده ای از عوامل حدت نیز می باشند به سادگی در جامعه منتشر خواهند شد که در آینده با شیوع بیشتر و عواقب جبران ناپذیر ناشی از این سویه های بالقوه بیماری زا مواجه خواهیم بود.

تقدیر و تشکر

این مطالعه در قالب بخشی از پایان نامه دانشجویی کارشناسی ارشد رشته میکروبیولوژی با حمایت معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه اصفهان به انجام رسیده است.

REFERENCES

1- Kotay SM, Das D. Novel dark fermentation involving bioaugmentation with constructed bacterial consortium for enhanced biohydrogen production from pretreated sewage sludge. International Journal of Hydrogen Energy. 2009;34(17):7489-96.
2- Pillai SD, Widmer KW, Dowd SE, Ricke SC. Occurrence of airborne bacteria and pathogen indicators during land application of sewage sludge. Applied and Environmental Microbiology. 1996;62(1):296-9.
3- 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). Journal of Applied Microbiology. 2013;114(1):44-54.
4- Rahimi F, Bouzari M. Biochemical fingerprinting of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from sewage and hospital in Iran. Jundishapur Journal of Microbiology. 2015;8(7):e19760.
5- 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.
6- 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 Research. 2009;43(4):925-32.
7- 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.
8- Rahimi F, Karimi S. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains producing enterotoxins A, K and Q from chicken meat in Isfahan, Iran, 2014. Archives of Clinical Infectious Diseases. 20:(۴)۱۱;۱۶e35601.
9- 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.
10- Zouharova M, Rysanek D. Multiplex PCR and RPLA Identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxigenic strains from bulk tank milk. Zoonoses and Public Health. 2008;55(6):313-9.
11- 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.
12- Clinical and Laboratory Standard Institute C. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 26th informational supplement. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa. 2016.
13- Clinical and Laboratory Standard Institute C. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M07-A9. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa. 2012.
14- 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.

15- Lin Y-C, Lauderdale T-L, Lin H-M, Chen PC, Cheng MF, Hsieh KS, 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):325-34.
16- Oliveira DC, Milheiriço C, de Lencastre H. Redefining a structural variant of staphylococcal cassette chromosome *mec*, SCC*mec* type VI. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2006;50(10):3457-9.
17- 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.
18- Rahimi F, Katouli M, Pourshafie MR. Characteristics of hospital-and community-acquired meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Tehran, Iran. Journal of Medical Microbiology. 2014;63(Pt 6):796-804.
19- 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.
20- 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.
21- 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.
22- 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(1.۱۵۵۱:(۱
23- Naquin A, Clement J, Sauce M, Grabert R, Sherpa M, Boopathy R. Presence of antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* in sewage treatment plant. Journal of Water Susainability. 2014;4(4):227-36.