فراوانی مقاومت به متی سیلین در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در تهران و اصفهان. ۹۸-۱۳۹۵

فاتح رحیمی[1]*

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

*نشانی برای مکاتبه: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم و فناوریهای زیستی، بخش میکروبیولوژی
f.rahimi@sci.ui.ac.ir
دریافت مقاله: مرداد چهارصد پذیرش برای چاپ: ابان چهارصد

چکیده

سابقه و هدف: *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین یکی از شایعترین عوامل ایجاد عفونت دستگاه ادراری محسوب می شود که عفونتهای ناشی از این عامل بیماریزا به یک مشکل شایع در سراسر جهان تبدیل شده است. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی مقاومت به متی سیلین در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در شهرهای تهران و اصفهان بود.

روش کار: در طی سالهای ۱۳۹۸-۱۳۹۵ در مجموع ۴۰۸۹ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری از دو بیمارستان مرجع در شهرهای تهران و اصفهان جمع آوری شدند و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *nuc*A مورد تأیید قرار گرفتند. سویه ها بر روی محیط مولر هینتون آگار واجد ۸ میکروگرم/میلی لیتر اگزاسیلین کشت داده شدند و جهت تأیید مقاومت سویه ها از روش انتشار از دیسک (سفوکسی تین ۳۰ میکروگرم) بر اساس دستورالعملهای CLSI و همچنین آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *mec*A استفاده گردید. به منظور تایپینگ سویه ها از روشهای پروفاژ تایپینگ و SCC*mec* تایپینگ با استفاده از آزمونهای multiplex-PCR جداگانه استفاده گردید.

یافته‌ها: بر اساس نتایج حاصل از آزمونهای مختلف در مجموع ۱۴۸۹ سویه (۳۶ درصد) *استافیلوکوکوس اورئوس* که نسبت به سفوکسی تین مقاومت نشان دادند و همچنین واجد ژن *mec*A بودند به عنوان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین مورد تأیید قرار گرفتند. تمامی ۶ پروفاژ تایپ و ۴ الگوی پروفاژی در میان جدایه ها شناسایی شدند که پروفاژ تایپهای SGF، SGFa و SGFb درتمامی سویه ها حاضر بودند و الگوی پروفاژی شماره ۳ نیز غالبترین الگو در میان سویه ها بود. همچنین، در مجموع ۴ SCC*mec* تایپ در میان سویه ها مورد شناسایی قرار گرفتند که SCC*mec* تایپ III فراوانترین تایپ در هر دو شهر بود. علاوه بر این، ۱۸ درصد سویه ها نیز واجد پروفاژ تایپ SGA و SCC*mec* تایپهای IV یا V بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده فراوانی نسبتا بالای سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در میان بیماران مبتلا به عفونت ادراری در شهرهای تهران و اصفهان است. این سویه ها که اغلب منشاء بیمارستانی دارند واجد پروفاژ تایپهای مختلف هستند و قادر به تولید طیف وسیعی از عوامل حدت و عفونتهای مختلف در بیماران می باشد.

واژگان کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین، عفونت ادراری، پروفاژ تایپینگ، SCC*mec* تایپینگ، تهران، اصفهان

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یکی از عوامل شایع ایجاد عفونتهای اکتسابی از بیمارستان و جامعه اعم از عفونت ساده پوست و بافتهای نرم و عفونتهای پیچیده دستگاه ادراری، میوکاردیت، استئومیلیت، اندوکاردیت و ذات الریه در انسان شناخته می شود(۱). جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس از قابلیت بالایی جهت کسب عناصر ژنتیکی خارجی برخوردار می باشند، به همین دلیل به راحتی می توانند ژنهای مقاومت به عوامل ضدمیکروبی را دریافت کنند که همین امر آنها را تبدیل به یکی از خطرناکترین باکتریهای بیماریزا نموده است(۲).

متی سیلین آنتی بیوتیکی است که نخستین بار جهت درمان عفونتهای ناشی از استافیلوکوکهای مقاوم به پنی سیلین مورد استفاده قرار گرفت و یک سال بعد نخستین سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در انگلستان شناسایی گردید. در طی دهه های گذشته، جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین همواره به عنوان عامل اصلی ایجاد عفونتهای اکتسابی از بیمارستان در جهان مطرح بوده اند و نخستین جدایه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه در سال ۱۹۹۹ در ایالات متحده شناسایی گردید که از حساسیت بالایی نسبت به طیف وسیعی از آنتی بیوتیکها برخوردار بود و همچنین واجد ژن رمزکننده پنتون-ولنتاین لوکوسیدین بود(۳).

جدایه های اکتسابی از بیمارستان نسبت به طیف گسترده ای از آنتی بیوتیکها مقاومت نشان می دهند که همین امر درمان آنها را با سختی مواجه می سازد (۲). مقاومت نسبت به متی سیلین ناشی از حضور ژنهای mecA و mecC می باشد که به عنوان جزئی از staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) شناخته می شوند. تاکنون ۱۳ SCCmec تایپ مختلف در میان جدایه های مقاوم به متی سیلین شناسایی شده است که بر اساس حضور این تایپها جدایه ها به سه دسته اکتسابی از بیمارستان، اکتسابی از جامعه و مرتبط با دامها طبقه بندی شده اند(۴). معمولا ایجاد عفونتهای ادراری توسط جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس ناشی از توانایی باکتریها در تولید بیوفیلم است، به همین دلیل اگر این عفونتها به درستی شناسایی و درمان نشوند مبدل به عفونتهای عودشونده خواهند شد که معمولا به سادگی و با استفاده از روشهای معمول امکان درمان آنها وجود ندارد(۵).

بیماریزایی شدید جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی سیلین ناشی از حضور طیف گسترده ای از عوامل بیماریزایی از قبیل ۲۳ انتروتوکسین مختلف، استافیلوکیناز، بتا-لایزین، پنتون-ولنتاین لوکوسیدین، لیپاز، توکسین-۱ سندرم شوک سمی و سم اسکفولیاتیو می باشد که بخش اعظمی از آنها از طریق پروفاژها رمزگذاری می شوند(۶). باکتریوفاژهای معتدل استافیلوکوکوس اورئوس متعلق به جنس سیفوویریده هستند و در شش پروفاژ تایپ طبقه بندی می شوند؛ که در این میان 3A (SGA)، 11 (SGB)، 77 (SGF)، 77a (SGFa)، 77b (SGFb) و 187 (SGL) از اهمیت بسیار بالایی برای مطالعه جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس برخوردار می باشند(۶). این مطالعه با هدف تعیین فراوانی مقاومت به متی سیلین در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در شهرهای تهران و اصفهان به انجام رسیده است.

روش کار

در این مطالعه در طی سه سال (۱۳۹۸-۱۳۹۵) در مجموع ۴۲۷۳ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس از آزمایشگاه دو بیمارستان مرجع دانشگاهی در شهرهای تهران (۲۷۳۸ جدایه، ۶۴ درصد) و اصفهان (۱۵۳۵ جدایه، ۳۶ درصد) به صورت هفتگی جمع آوری شده و به آزمایشگاه باکتری شناسی دانشگاه اصفهان منتقل شدند. در آزمایشگاه در ابتدا هر جدایه باکتریایی بر روی دو محیط مانیتول سالت آگار (Scharlau, Spain) و HiCrome Aureus آگار (Himedia, India) کشت داده شدند و به مدت ۴۸ -۲۴ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند. سپس کلنیهای زرد رنگ بر روی محیط مانیتول سالت آگار و کلنیهای سیاه رنگ واجد هاله به عنوان جدایه های مشکوک به استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی شدند و سپس یک کلنی از هر جدایه بر روی محیط نوترینت آگار کشت داده شد و جهت انجام مطالعات بعدی در ویالهای کرایو حاوی ۵۰ درصد گلیسرول و ۵۰ درصد محیط آبگوشت Brain Heart Infusion (BHI) (Scharlau, Spain) در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. به منظور شناسایی قطعی و تأیید جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن nucA استفاده گردید.

به منظور بررسی مقاومت سویه های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به اگزاسیلین از روش غربالگری agar dilution بر اساس دستورالعمل Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) استفاده گردید (۷). بر این اساس، محیط کشت مولر هینتون آگار واجد ۸ میکروگرم/میلی لیتر اگزاسیلین تهیه گردید و سپس هر جدایه خالص باکتریایی بر روی محیط واجد آنتی بیوتیک کشت داده شد و پلیتها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند. پس از این مدت جدایه هایی که بر روی محیط رشد کرده بودند به عنوان جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به اگزاسیلین انتخاب شدند. علاوه بر این، جهت تأیید سویه های مقاوم به متی سیلین از روش انتشار از

دیسک سفوکسی تین (۳۰ میکروگرم) بر اساس توصیه های CLSI استفاده گردید.

جهت استخراج DNA جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از روش جوشاندن بر اساس دستورالعمل پیشین رحیمی و همکاران استفاده گردید (۴). بر این اساس یک لوپ از کلنیهای باکتریایی به میکروتیوب واجد ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل منتقل و به خوبی ورتکس گردید و به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شد. پس از این مدت، میکروتیوبها به مدت ۱۵ دقیقه در g × ۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ شدند و سپس از مایع رویی به عنوان الگوی DNA در آزمونهای PCR استفاده گردید.

جهت شناسایی قطعی و تأیید جدایه ها از آزمون PCR استفاده گردید. بر این اساس جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن nucA و همچنین چرخه حراتی طبق دستورالعمل پیشین رحیمی و همکاران مورد شناسایی قرار گرفتند (۸).

به منظور تعیین حضور ژن mecA در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین که قادر به رشد بر روی محیط واجد اگزاسیلین بودند و همچنین نسبت به دیسک سفوکسی تین نیز مقاومت نشان داده بودند، از پرایمرهای اختصاصی ژن mecA و بر اساس مقاله منتشر شده رحیمی و همکاران استفاده گردید (۸).

برای تعیین حضور پروفاژ تایپهای مختلف SGA (رمزکننده فیبرهای دمی)، SGB (رمزکننده پروتئین فرضی دم)، SGF (رمزکننده پروتئین فرضی دم)، SGFa (رمزکننده پروتئینهای بسته بندی)، SGFb (رمزکننده پروتئینهای بسته بندی) و SGL (رمزکننده پروتئین فرضی کپسید) در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از آزمون multiplex-PCR و پرایمرهای اختصاصی با استفاده از برنامه و چرخه حرارتی ارائه شده توسط Pantucek و همکاران استفاده گردید (۹).

تعیین تایپهای مختلف SCCmec با استفاده از آزمون Multiplex-PCR و ۸ جفت پرایمر اختصاصی تایپهای (I, I-V II, II, IVa, IVb, IVc, IVd, V) که توسط Zhang و همکاران معرفی شده بودند (۱۰) و همچنین چرخه حرارتی ارائه شده توسط رحیمی و همکاران انجام گرفت (۲).

به منظور انجام بررسیهای آماری و تجزیه و تحلیل داده های به دست آمده از آزمون Fisher's exact و نرم افزار GraphPad Prism 5 استفاده گردید.

یافته ها

از مجموع ۴۲۷۳ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس جمع آوری شده از آزمایشگاه دو بیمارستان مرجع دانشگاهی در شهرهای تهران و اصفهان ۴۰۸۹ سویه (۹۶ درصد) به عنوان سویه های

استافیلوکوکوس اورئوس (اصفهان ۱۴۹۷ سویه، ۹۸ درصد؛ تهران ۲۵۹۲ سویه ۹۵ درصد) مورد تأیید قرار گرفتند و ۱۸۴ سویه (۴ درصد) نیز که مربوط به گونه های کواگولاز منفی استافیلوکوکوس بودند در آزمایشگاه های بیمارستانهای مورد مطالعه به اشتباه مورد شناسایی قرار گرفته بودند. همچنین، پس از کشت ۴۰۸۹ سویه استافیلوکوکوس اورئوس بر روی محیط واجد اگزاسیلین در مجموع ۱۴۸۹ سویه (۳۶ درصد) قادر به رشد بر روی محیط بودند و در آزمون انتشار از دیسک سفوکسی تین نیز نسبت به این آنتی بیوتیک مقاومت نشان دادند (اصفهان ۴۵۹ سویه، ۳۱ درصد؛ تهران ۱۰۳۰ سویه ۴۰ درصد). تمامی سویه های مقاوم به متی سیلین در آزمون PCR نیز واجد ژن mecA بودند و نتایج حاصل از این ۳ آزمون کاملا بر یکدیگر منطبق بودند. علاوه بر این، در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین جدا شده از شهر تهران ۶۰۳ سویه (۵۹ درصد) از خانمها و ۴۲۷ سویه (۴۱ درصد) نیز از آقایان جدا شده است و در شهر اصفهان نیز ۵۷ درصد (۲۶۲) و ۴۳ درصد (۱۹۷) سویه ها به ترتیب متعلق به نمونه های خانمها و آقایان بود.

بیشترین تعداد سویه ها از افراد در بازه سنی ۷۰-۶۱ سال (۱۹ درصد) و ۸۰-۷۱ سال (۱۶ درصد) در هر دو شهر جدا گردید؛ همچنین ۱۰ درصد سویه ها نیز متعلق به کودکان کمتر از ۱ سال بود. در شهر تهران، بیشترین سویه ها از خانمها (۹۴ سویه، ۱۶ درصد) در بازه سنی ۷۰-۶۱ سال و از آقایان (۸۹ سویه، ۲۱ درصد) در بازه سنی ۸۰-۷۱ سال جدا گردید؛ در حالیکه در شهر اصفهان نیز ۲۴ درصد سویه ها (۶۱ سویه) از خانمها در بازه سنی ۷۰-۶۱ سال و ۲۵ درصد سویه ها (۵۰ سویه) از آقایان در بازه سنی ۸۰-۷۱ سال جدا گردید. در مورد فراوانی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در میان خانمها و آقایان به استثناء بازه سنی ۸۰-۷۱ سال در شهر تهران در بازه های سنی مختلف اختلاف معنی داری در شهرهای اصفهان و تهران مشاهده نشد.

جدول ۱. فراوانی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در میان بیماران مبتلا به عفونت ادراری بر اساس سن و جنس. تهران و اصفهان . ۹۸-۱۳۹۵

بازه سنی	تهران			اصفهان			تعداد (٪)
	خانمها (٪)	آقایان (٪)	*P* value	خانمها (٪)	آقایان (٪)	*P* value	
کمتر از ۱ سال	۷۱ (۱۲)	۴۸ (۱۱)	۱/۰۰۰۰	۲۷ (۱۰)	۵ (۳)	۰/۰۸۱۸	۱۵۱ (۱۰)
۱-۱۰ سال	۳۵ (۶)	۱۸ (۴)	۰/۷۴۷۵	۸ (۳)	۰	۰/۲۴۶۲	۶۱ (۴)
۱۱-۲۰ سال	۳۳ (۵)	۲۵ (۶)	۱/۰۰۰۰	۳ (۱)	۲ (۱)	۱/۰۰۰۰	۶۳ (۴)
۲۱-۳۰ سال	۶۴ (۱۱)	۲۹ (۷)	۰/۴۵۹۵	۱۹ (۷)	۸ (۴)	۰/۵۳۷۱	۱۲۰ (۸)
۳۱-۴۰ سال	۸۳ (۱۴)	۳۸ (۹)	۰/۳۷۵۷	۲۴ (۹)	۱۱ (۶)	۰/۵۹۲۸	۱۵۶ (۱۱)
۴۱-۵۰ سال	۹۱ (۱۵)	۵۵ (۱۲)	۰/۶۷۹۶	۴۵ (۱۷)	۳۰ (۱۵)	۰/۸۴۷۳	۲۲۱ (۱۵)
۵۱-۶۰ سال	۷۶ (۱۲)	۴۱ (۱۰)	۰/۸۲۱۷	۳۶ (۱۴)	۴۸ (۲۴)	۰/۱۰۳۹	۲۰۱ (۱۳)
۶۱-۷۰ سال	۹۴ (۱۶)	۸۴ (۲۰)	۰/۵۸۱۳	۶۱ (۲۴)	۴۳ (۲۲)	۰/۸۶۶۷	۲۸۲ (۱۹)
۷۱-۸۰ سال	۵۶ (۹)	۸۹ (۲۱)	۰/۰۲۸۱	۳۹ (۱۵)	۵۰ (۲۵)	۰/۱۱۰۹	۲۳۴ (۱۶)
تعداد (٪)	۶۰۳ (۵۹)	۴۲۷ (۴۱)	۰/۰۱۶۰	۲۶۲ (۵۷)	۱۹۷ (۴۳)	۰/۰۵۶۷	۱۴۸۹

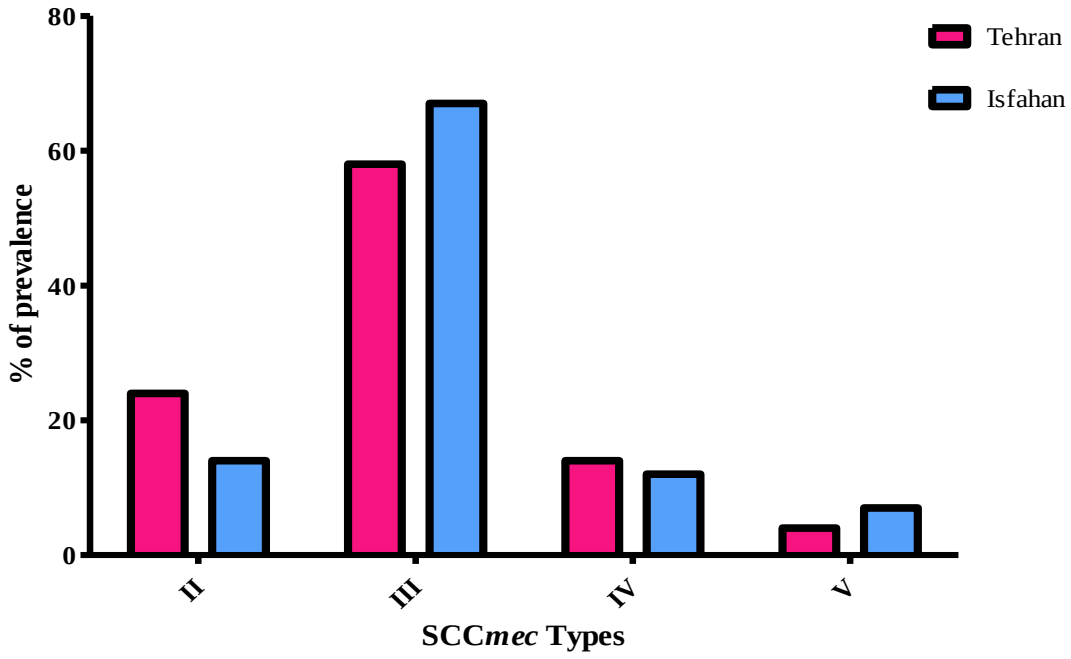
تمامی پروفاژ تایپهای در میان سویه های مورد بررسی شناسایی شدند و ۱۰۰ درصد سویه ها حداقل واجد پروفاژ تایپ SGF و ساب تایپهای SGFa و SGFb بودند (جدول ۲). همچنین، در این مطالعه فراوانی پروفاژ تایپهای SGA، SGB و SGL نیز به ترتیب محدود به ۱۸، ۵۸ و ۱۸ درصد سویه ها بود. فراوانی پروفاژ تایپهای SGA و SGL در تهران (۱۸ درصد) در مقایسه با اصفهان (۱۹ درصد) کمتر بود اما این اختلاف معنی دار نبود. همچنین، فراوانی پروفاژ تایپ SGB در تهران (۶۰ درصد) بیشتر از اصفهان (۵۱ درصد) بود، اما این تفاوت نیز معنی دار نبود.

جدول ۲. پروفاژ تایپینگ سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در شهرهای تهران و اصفهان.۹۸-۱۳۹۵

الگو	پروفاژ تایپ							شهر		Statistically significant? (alpha<0.05)	تعداد (درصد)
	SGA	SGB	SGF	SGFa	SGFb	SGL		تهران (٪)	اصفهان (٪)		
۱	+	+	+	+	+	+		۱۱۱ (۱۱)	۶۴ (۱۴)	-	۱۷۵ (۱۲)
۲	+	−	+	+	+	+		۷۰ (۷)	۲۱ (۵)		۹۱ (۶)
۳	−	+	+	+	+	−		۵۱۲ (۴۹)	۱۷۰ (۳۷)	-	۶۸۲ (۴۶)
۴	−	−	+	+	+	−		۳۳۷ (۳۳)	۲۰۴ (۴۴)	-	۵۴۱ (۳۶)
تعداد کلی (٪)	۵ (۵)	۶۳ (۶۸)	۹۳ (۱۰۰)	۹۳ (۱۰۰)	۹۳ (۱۰۰)	۵ (۵)		۱۰۳۰ (۶۹)	۴۵۹ (۳۱)	+	۱۴۸۹

در مجموع ۴ الگوی پروفاژی نیز در میان سویه ها شناسایی گردید که الگوی شماره ۳ فراوانترین الگو بود و ۶۸۲ سویه (۴۶ درصد) واجد این اگو بودند. لازم به ذکر است که الگوی پروفاژی غالب در میان سویه های جداسازی شده از دو شهر با یکدیگر متفاوت بودند. بر این اساس مشخص گردید که الگوی شماره ۴ در شهر اصفهان و الگوی شماره ۳ در شهر تهران از بیشترین فراوانی برخوردار بودند اما تفاوتهای میان آنها معنی دار نبود.

در مجموع ۴ SCCmec تایپ مختلف (II، III، IV و IV) در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در شهرهای اصفهان و تهران شناسایی گردید (شکل ۱). بر این اساس مشخص گردید که در هر دو شهر مورد مطالعه SCCmec تایپ III از بیشترین فراوانی برخوردار بود و به عنوان تایپ غالب در این مطالعه انتخاب گردید. همچنین، SCCmec تایپهای IV و V در ۱۸ درصد سویه ها حاضر بودند که این سویه ها واجد پروفاژ تایپهای SGA و SGL نیز بودند. فراوانی تایپ II نیز به ترتیب در شهرهای تهران و اصفهان محدود به ۲۴ و ۱۴ درصد جدایه ها بود. علیرغم تفاوت در فراوانی SCCmec تایپهای مختلف در میان سویه ها در دو شهر مورد مطالعه، اما اختلاف معنی داری در این مورد مشاهده نشد.



شکل ۱- فراوانی SCC*mec* تایپهای مختلف در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در شهرهای تهران و اصفهان. ۹۸-۱۳۹۵

بحث

در مطالعه حاضر فراوانی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در میان بیماران مبتلا به عفونت ادراری در دو شهر تهران و اصفهان مجموعا ۳۶ درصد تعیین گردید. همچنین این فراوانی در تهران ۴۰ درصد و در اصفهان ۳۱ درصد بود. تاکنون در مطالعات انجام گرفته در کشور فراوانیهای مختلفی (۹۳-۱۹ درصد) از جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در ایران ارائه شده است (۱, ۲, ۶, ۲۷-۱۱). در مطالعه رحیمی و همکاران در طی سالهای ۲۰۱۱-۲۰۱۴ بر روی نمونه های ادراری بیماران واجد سوند در یک بیمارستان در شهر تهران، ۲۵/۸ درصد جدایه ها استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین بودند (۱). همچنین کریمی و رحیمی در سال ۱۳۹۶ فراوانی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین را در اصفهان ۳۳ درصد گزارش کردند (۲۸). در مطالعه دیگر، ۵۶/۹ درصد سویه های مولد بیوفیلم جداسازی شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در اصفهان، مقاوم به متی سیلین بودند (۲۹). در کشورهای نیجریه، عربستان سعودی، هند و آمریکا نیز فراوانی جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در بیماران مبتلا به عفونت ادراری به ترتیب ۱۰۰، ۷۲، ۴۱ و ۸ درصد گزارش گردید (۳۳-۳۰). به نظر می رسد که دلیل اصلی تفاوت در فراوانی جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در کشورهای مختلف عمدتا ناشی از تفاوت در سطح بهداشت کشورها و شهرهای مختلف، استفاده از سوند و ابزارهای مقیم در مجرای ادراری بیماران مورد مطالعه، سرپایی یا بستری بودن بیماران و روشهای مطالعه می باشد. در این مطالعه فراوانی سویه های مقاوم به متی سیلین در دو شهر اصفهان و تهران متفاوت بود. دلیل این امر را می توان مربوط به شرایط خاص شهر تهران به عنوان پایتخت کشور دانست که باعث تجمع بیشتر امکانات در بیمارستانهای مختلف دانشگاهی و خصوصی تهران نسبت به سایر استانهای کشور شده است و طبیعتا حضور بیشتر بیماران از سراسر کشور در بیمارستانهای شهر تهران را به همراه دارد. بنابراین می توان اینگونه نتیجه گیری کرد که بسیاری از جدایه ها مربوط به خود تهران نیست و متعلق به بیماران مراجعه کننده از سایر استانها است. در مورد شهر اصفهان نیز به دلیل مراجعه فراوان بیماران از استانهای همجوار به بیمارستانهای این شهر فراوانی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین چندان نمی واقعی باشد. علی ایحال، با توجه به مطالعه پیشین انجام گرفته در شهر تهران می توان اعلام داشت که فراوانی این سویه ها نسبت به سالهای ۲۰۱۱-۲۰۱۴ در طی سه سال بعدی حدودا ۱۴ درصد افزایش پیدا کرده است که می تواند نشان دهنده انتشار بیشتر جدایه ها در میان بیماران و در جامعه شهری تهران شده است که ناشی از ناکارآمدی سیستمهای کنترل عفونت در بیمارستان مورد مطالعه می باشد. اما در شهر اصفهان و در بیمارستان مورد مطالعه، فراوانی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس در مقایسه با مطالعات پیشین کاهش یافته است که بسیار امیدوار کننده است و می تواند نشان دهنده مؤثر بودن تمهیدات و سیاستهای کنترل عفونت در بیمارستان مورد مطالعه باشد.در این مطالعه ۴ درصد جدایه ها در آزمایشگاه های هر دو بیمارستان مورد مطالعه به اشتباه به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس مورد شناسایی قرار گرفته بودند که نشان دهنده اشکال در انجام و یا تفسیر آزمونهای فنوتایپی و بیوشیمیایی انجام گرفته است. به طور کلی با توجه به وابستگی بالای آزمونهای بیوشیمیایی و مبتنی بر فنوتایپ باکتریها نسبت به فاکتورهای مختلف داخلی و خارجی (مانند نتایج حاصل از آزمون کشت بر روی محیط مانیتول سالت آگار، آزمون کواگولاز، آزمون DNase و ...) بنابراین به نظر می رسد که زمان آن فرا رسیده است که آزمونهای مولکولی مبتنی بر استفاده از پرایمرهای اختصاصی جهت شناسایی ژن/ژنهای اختصاصی جایگزین روشهای معمول بیوشیمیایی در آزمایشگاه ها شوند. این روشها برخلاف روشهای فنوتایپی بسیار سریع، حساس، اختصاصی و کارآمد هستند که در بسیاری از آزمایشگاه های بیمارستانی و تشخیص طبی در سراسر جهان جایگزین روشهای معمول شناسایی باکتریها شده اند تا میزان خطا در شناسایی را به کمترین حد ممکن برسانند. با توجه به اهمیت تشخیص صحیح عوامل بیماریزا به منظور درمان صحیح و تجویز آنتی بیوتیکهای مناسب، بنابراین استفاده از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن nucA می تواند یک جایگزین مناسب و سریع جهت شناسایی جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس باشد.در این مطالعه جهت تایپینگ سویه ها از دو روش پروفاژ تایپینگ و SCCmec تایپینگ استفاده گردید. بر این اساس مشخص گردید که تمامی پروفاژ تایپهای مورد مطالعه (SGA، SGB، SGF، SGFa، SGFb و SGL) در میان سویه ها شناسایی شدند و تمامی سویه ها حداقل واجد پروفاژ تایپ SGF و ساب تایپهای SGFa و SGFb بودند که به عنوان

تایپهای غالب در این مطالعه انتخاب شدند. همچنین، در مجموع ۴ الگوی پروفاژی نیز در میان سویه های هر دو شهر مورد مطالعه شناسایی گردید اما در شهرهای تهران و اصفهان فراوانی الگوها و همچنین الگوی غالب مشابه نبودند. به عبارت دیگر، در میان سویه های جداسازی شده از بیماران در شهر اصفهان الگوی شماره ۳ (متشکل از SGF، SGFa و SGFb) و در سویه های جداسازی شده از بیماران در شهر اصفهان الگوی شماره ۴ (شامل SGB، SGF، SGFa و SGFb) از بیشترین فراوانی برخوردار بودند که نشان دهنده تفاوت در سویه های مورد مطالعه در شهرهای مورد مطالعه است. در مطالعات مختلف تاکنون فراوانیهای مختلفی از الگوهای پروفاژی و همچنین پروفاژ تایپها در کشور گزارش شده است (۱, ۲, ۴, ۶, ۸, ۱۷, ۲۳-۲۱, ۲۵ ,۲۷, ۳۶-۳۴) که نشان دهنده تنوع بالای جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در منابع مختلف در کشور است. با توجه به اینکه پروفاژها به عنوان بخشی از عناصر ژنتیکی متحرک در استافیلوکوکوس اورئوس رمزکننده طیف وسیعی از عوامل حدت مختلف از قبیل انواع انتروتوکسینها (A, G, K, P, Q)، پنتون ولنتاین لوکوسیدین، سندرم شوک سمی، استافیلوکیناز، همولایزین، اکسفولیاتیو توکسین و لوکوسیدین می باشند، بنابراین حضور پروفاژ تایپهای مختلف در میان جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین می تواند نشان دهنده پتانسیل بالقوه بالای این جدایه ها برای تولید طیف گسترده ای از عوامل حدت و همچنین عفونتهای مختلف در انسان باشد.

همچنین، در این مطالعه ۴ تایپ SCCmec شامل تایپهای II، III، IV و V مورد شناسایی قرار گرفتند که در میان تمامی جدایه های مقاوم به متی سیلین، SCCmecتایپ III فراوانترین تایپ بود. در سویه های مربوط به شهر تهران فراوانی تایپهای II و IV بیشتر از سویه های مربوط به اصفهان بود و همچنین، فراوانی تایپهای III و IV نیز در سویه های مربوط به اصفهان بیشتر بود. در تمامی مطالعات صورت گرفته در کشور، SCCmec تایپ III غالبترین تایپ در میان جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در تمامی نمونه های بالینی، دامی، غذایی و محیطی بوده است (۱, ۲, ۴, ۱۴-۱۱, ۲۳, ۲۵, ۲۶, ۳۷)؛ که نشان دهنده منشاء بیمارستانی جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در کشور است. این جدایه ها از بیمارستانها منشاء گرفته و در تمامی جامعه منتشر شده اند. نکته حائز اهمیت در این مطالعه، فراوانی ۱۸ و ۱۹ درصدی SCCmec تایپهای IV و V در شهرهای تهران و اصفهان است که در مجوع ۱۸ درصد سویه ها در این مطالعه اکستابی از جامعه بودند (و واجد پروفاژ تایپ SGA) که در مقایسه با سایر مطالعات تا حدودی بالاتر است بنابراین، به نظر می رسد که این سویه ها متعلق به کلون تایپهایی هستند که از جامعه منشاء گرفته اند و در اثر عدم توجه و سوء مدیریت در کنترل عفونت در بیمارستانها به مراکز درمانی راه یافته و در این محیطها کلونیزه شده اند.

نتیجه گیری

بر اساس یافته های حاصل از این مطالعه می توان اعلام داشت که جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از فراوانی نسبتا بالایی در شهرهای تهران و اصفهان برخوردار هستند. این جدایه ها با توجه به داشتن انواع پروفاژ تایپهای مختلف قادر به تولید بسیاری از عوامل حدت هستند که این جدایه ها را مبدل به بیماریزاهای بالقوه می کند. بیشتر این جدایه ها اکتسابی از بیمارستان هستند که نشان دهنده دوام و بقاء کلون تایپهای مختلف از این جدایه ها در بیمارستانهای مورد مطالعه است که در اثر عدم رعایت اصول کنترل عفونت به شکل گسترده ای در بیمارستانها منتشر شده اند. همچنین، در صورت عدم توجه به جدایه های اکتسابی از جامعه در آینده شاهد انتشار گسترده تر این جدایه ها (که اکنون نسبت به طیف گسترده ای از عوامل ضدمیکروبی نیز مقاوم شده اند) در بیمارستانها و طبیعتا در جامعه، مزارع پرورش دام و طیور، محیط و مواد غذایی خواهیم بود.

تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه اصفهان به انجام رسیده است.

REFERENCE

1. 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.
2. 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(6):796-804.
3. Rahimi F. Molecular characteristics of biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* isolates causing urinary tract infections. Archives of Clinical Infectious Diseases. 2018;13(6):e61704.
4. 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.
5. Rahimi F, Karimi S. Biofilm producing *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from clinical samples in Tehran, Iran. Archives of Clinical Infectious Diseases. 2016;11(3):e33343.
6. 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.
7. Clinical and Laboratory Standard Institute C. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 28th informational supplement. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa. 2018.
8. 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.
9. 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.
10. 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.

11. Fatholahzadeh B, Emaneini M, Aligholi M, Gilbert G, Taherikalani M, Jonaidi N, et al. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones from a teaching hospital in Tehran. Japanese Journal of Infectious Diseases. 2009;62(4):309-11.

12. Goudarzi M, Abiri P, Nasirian S, Afshari SG. SCC*mec* and *spa* typing of *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients with urinary tract infection: emergence of *spa* Types t426 and t021 in Iran. Jundishapur Journal of Microbiology. 2018;11(5):1-6.

13. Goudarzi M, Goudarzi H, Figueiredo AMS, Udo EE, Fazeli M, Asadzadeh M, et al. Molecular characterization of methicillin resistant S*taphylococcus aureus* strains isolated from intensive care units in Iran: ST22-SCC*mec* IV/t790 emerges as the major clone. PloS One. 2016;11(5):e0155529.

14. 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.

15. Rahimi F. Characterization of resistance to aminoglycosides in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from a tertiary care hospital in Tehran, Iran. Jundishapur Journal of Microbiology. 2016;9(1):e29237.

16. 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.

17. 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.

18. 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.

19. 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.

20. Rahimi F, Danesh M, Mehmandoost J, Shokri D. Prophage typing and SCC*mec* typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients in Isfahan. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2016;20(71):49-58.

21. 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. 2016;11(4):e35601.

22. Rahimi F, Karimi S. Isolation of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* from Zayanderud river in Isfahan. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2016;21(72):55-60.

23. Rahimi F, Karimi S, Pourshafie MR. Typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients in Isfahan. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2014;19(64):21-30.

24. Rahimi F, Pourshafie MR. Aminoglycoside resistance among meticillin resistant *Staphylococcus aureus* strains ssolated from two hospitals in Tehran Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2015;20(69):55-61.

25. 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.

26. 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.

27. Rahimi F, Shokoohizadeh L. Characterization of virulence factors and prophage profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from a referral hospital in Tehran, Iran. Archives of Clinical Infectious Diseases. 2018;13(5):e59385.

28. Karimi A, Rahimi F. Phenotypic and genotypic characterization of biofilm formation among *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients with urinary tract infection in a hospital in Isfahan during 2016. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2019;24(86):26-35.

29. Rahimi F. Isolation of biofilm producing methicillin resistant and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* strains from patients with urinary tract infection in Isfahan. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2018;23(82):37-44.

30. Muder RR, Brennen C, Rihs JD, Wagener MM, Obman A, Obman A, et al. Isolation of *Staphylococcus aureus* from the urinary tract: association of isolation with symptomatic urinary tract infection and subsequent staphylococcal bacteremia. Clinical Infectious Diseases. 2006;42(1):46-50.

31. Ahmed OB. Prevalence of *mecA*, PVL and *ica* genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from urinary tract infections patients. African Journal of Microbiology Research. 2014;8(50):3908-12.

32. Onanuga A, Awhowho GO. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* strains from patients with urinary tract infections in Yenagoa, Nigeria. Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences. 2012;4(3):226.

33. Ray P, Manchanda V, Bajaj J, Chitnis D, Gautam V, Goswami P, et al. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in India: prevalence & susceptibility pattern. Indian Journal of Medical Research. 2013;137(2):363.

Rahimi F, Amin N. Characteristics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from chicken meat samples in Isfahan. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2020;25(88):1-8.

34. Rahimi F, Karimi S. Antibiotic resistance pattern and prophage typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from chicken husbandries in tehran. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2014;18(62):17-22.

35. Rahimi F, Karimi S. Characteristics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from poultry in Iran. Archives of Clinical Infectious Diseases. 2015;10(4):e30885.

36. Karimi A, Rahimi F. Typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients with urinary tract infection in Isfahan during 2017. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine 2019;24(87):43-50.