بررسی مولکولی ژنهای رمزکننده عوامل حدت در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه جدا شده از بیماران در تهران در سالهای ۱۴۰۱-۱۳۹۸

فاتح رحیمی[1*]

۱- دکتری تخصصی باکتری شناسی، دانشیار بخش میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوریهای زیستی، دانشگاه اصفهان
*نشانی برای مکاتبه: f.rahimi@sci.ui.ac.ir

دریافت مقاله: دی ۱۴۰۲ پذیرش برای چاپ: اسفند ۱۴۰۲

چکیده

سابقه و هدف: *عفونتهای استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه عمدتاً مرتبط با عفونتهای پوست و بافتهای نرم (از یک زرد زخم ساده تا فاشیای نکروزه) هستند. این سویه ها واجد ژنهای مربوط به تایپهای IV، V و VII کاست کروموزومی ژن mec (SCCmec)، لوکوسیدین پنتون-ولنتاین و پروفاژ تایپ SGA می باشند و اغلب نسبت به انواع آنتی بیوتیکهای غیر بتا-لاکتام حساس هستند. در مطالعه حاضر، فراوانی انواع SCCmec تایپها، پروفاژ تایپها و مجموعه ای از ژنهای مربوط به عوامل حدت در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه جدا شده از بیماران در یک بیمارستان مرجع در تهران در سالهای ۱۳۹۸-۱۴۰۱ مورد بررسی قرار گرفت.*

روش کار: *در مجموع ۴۸۹ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از آزمایشگاه یک بیمارستان مرجع در شهر تهران جمع آوری شدند و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژنهای nucA، mecA و mecC مورد شناسایی قرار گرفتند. حضور SCCmec تایپهای مختلف در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین تأیید شده با استفاده از آزمون multiplex-PCR مورد بررسی قرار گرفت و سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژنهای مربوط به پروفاژ تایپهای مختلف تایپ شدند. علاوه بر این، فراوانی ژنهای انتروتوکسین استافیلوکوکی (sea-seq)، pvl و tst نیز تعیین گردید.*

یافته ها: *در مجموع ۴۶۳ سویه (۹۵ درصد) به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مورد تأیید قرار گرفتند، و ۵۶ سویه (۱۲ درصد) واجد SCCmec تایپهای IV (a و c) و V بودند که به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه انتخاب شدند. علاوه بر این، ۴ پروفاژ تایپ مختلف و ۲ ساب تایپ در سویه ها شناسایی شدند، که در این میان تمام سویه ها از نظر حضور پروفاژ تایپهای SGA، SGF، SGFa و SGFb مثبت بودند. همچنین، ۴ الگوی پروفاژی نیز در میان سویه ها تعیین گردید که الگوی پروفاژی ۱ که واجد تمامی پروفاژ تایپهای شناسایی شده بود به عنوان الگوی غالب مشخص شد. از طرف دیگر، به استثناء ژنهای seb و seh سایر ۱۴ ژن انترتوکسینی دیگر در این مطالعه شناسایی شدند و ۱۰۰ درصد سویه ها از نظر وجود ژنهای sea، sek و seq مثبت بودند. به علاوه، ۵ الگوی ژنی انتروتوکسینی مختلف نیز در این مطالعه تشخیص داده شد که ۱۸ درصد سویه ها واجد ۱۱ و ۱۲ ژن انتروتوکسینی بودند. همچنین، ۲۹ و ۱۰۰ درصد سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه به ترتیب واجد ژنهای tst و pvl بودند.*

نتیجه گیری: *نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده شیوع سویه های بیماریزای استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه در میان بیماران در بیمارستان مورد مطالعه است که اطلاعات ارزشمندی در مورد ارتباط پروفاژ تایپها وعوامل حدت در این سویه ها در اختیار قرار می دهد.*

کلمات کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه، SCCmec تایپ، پروفاژ تایپ SGA، انتروتوکسین استافیلوکوکی، پنتون-ولنتاین لوکوسیدین، TSST-1

مقدمه

سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* یک تهدید جهانی مهم برای سلامتی انسان به شمار می روند و به عنوان عامل ایجاد طیف وسیعی از انواع عفونتها از آبسه ساده تا اندوکاردیت، سندرم شوک سمی و سپسیس شناخته می شوند (۱). تعیین پروفایل ژنی بیماریزایی و خصوصیات مولکولی سویه ها، شناخت بیشتری در مورد نتایج بالینی ناشی از عفونتها در اختیار قرار می دهد. مرگ و میر ناشی از سویه های باکتریایی مقاوم به داروها (*اشرشیا کلای، استافیلوکوکوس اورئوس، کلبسیلا نومونیه، استرپتوکوکوس نومونیه، سودوموناس آئروژینوزا* و *اسینتوباکتر بومانی*) مستقیماً باعث مرگ ۹۲۹۰۰۰ نفر شده است (۲). بر اساس تحقیقات اخیر، *استافیوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین[۱] به عنوان مرگبارترین ترکیب باکتری بیماریزا-مقاومت به آنتی بیوتیک در جهان در سال ۲۰۱۹ معرفی گردید؛ و ۱۲۱۰۰۰ مرگ ناشی از این باکتری گزارش گردید که به عنوان یک عامل جدی تهدید کننده سلامت در سراسر جهان محسوب می شود (۲).

از نظر ژنتیکی، ایزوله های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین به دو دسته *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه[۲] (که عوامل مولکولی این گروه و بیماری زایی آن تاحدودی ناشناخته است) و *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از بیمارستان[۳] (که واجد سازوکارهای مقاومت آنتی بیوتیکی متعددی هستند و عوامل حدت مختلفی تولید می کنند که با عوارض و مرگ و میر بالا در بیمارستانها مرتبط می باشند) تقسیم بندی می شوند. اعتقاد بر این است که در مقایسه با سویه های حساس به متی سیلین، سویه های مقاوم به متی سیلین واجد ژنهای حدت بیشتری هستند و طبیعتا از قدرت بیماریزایی بالاتری نیز برخوردار می باشند (۳, ۴). بسیاری از سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* می توانند با تولید آنزیمها و توکسینهای مختلف مانند سموم ایجاد کننده منفذ، توکسین اکسفولیاتیو[۴]، انتروتوکسینهای استافیلوکوکی و سوپرآنتی ژنها از موانع دفاعی سیستم ایمنی میزبان فرار کنند (۵). این سموم باعث تسهیل کلونیزاسیون باکتری در بافت میزبان و فرار از پاسخهای ایمنی میزبان و در نتیجه ایجاد عفونت می شوند (۶).

سوپرآنتی ژنها از جمله سم سندرم شوک سمی[۵] و انتروتوکسینهای مختلف، کبد را تحت تأثیر قرار می دهند و باعث اختلال در عملکرد سلولهای کبدی می شوند؛ که منجر به افزایش حساسیت به شوک اندوتوکسینی، فعال شدن پلی کلونال لنفوسیتهای T، آزادسازی گسترده سایتوکاینها و شروع شوک سمی می شود (۶, ۷).

تاکنون بیست و چهار انتروتوکسین استافیلوکوکی شناسایی شده است که با توجه به فعالیت استفراغی آنها را به دو گروه انتروتوکسینهای استافیلوکوکی کلاسیک (گروه ۱) و جدید (گروه ۲) تقسیم بندی کرده اند. گروه کلاسیک شامل پنج توکسین SEA، SEB، SEC، SED و SEE است که به عنوان عامل تقریباً ۹۵ درصد از موارد مسمومیت غذایی با *استافیلوکوکوس اورئوس* محسوب می شوند و می‌توانند به عنوان سوپرآنتی ژن عمل کنند. در مقابل، گروه دیگر (گروه ۲) واجد ۱۹ انتروتوکسین استافیلوکوکی دیگر است که احتمالاً باعث ایجاد ۵ درصد از موارد مسمومیت غذایی ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* در انسان می شود (۸). سوپرآنتی ژنهای انتروتوکسینی و شبه انتروتوکسینی (SEG-SEY)، TSST سوپرآنتی ژنهایی با فعالیت سوپرآنتی ژنیک قابل اثبات هستند (که برخی از آنها به تازگی توصیف شده اند) که می‌توانند باعث ایجاد گاستروانتریت شدید، حالت تهوع و استفراغ شوند (۹, ۱۰). TSST-1 یک سوپرآنتی ژن بسیار قوی است و به عنوان شایعترین عامل ایجاد سندرم شوک سمی شناخته می شود (۷). همچنین، بر اساس شباهت توالیهای نوکلئوتیدی و اسیدهای آمینه سوپرآنتی ژنهای استافیلوکوکی به ۳ گروه کلی تقسیم بندی می شوند. گروه SEA (SEA، SED، SEE، SE/J، SEH، SEN، SEO، SEP و SES)، گروه SEB (SEB، SEC، SEG، SER، SE/U و SE/W)، SEI (SEI، SEK، SEL، SEQ، SEM و SE/V) و گروه SE/X (TSST-1، SET، SE/X، SE/Y و سایر اگزوتوکسینهای استافیلوکوکی که به عنوان توکسینهای شبه سوپرآنتی ژن[۶] شناخته می شوند) (۷, ۱۱). این مطالعه با هدف بررسی فراوانی ژنهای رمزکننده انتروتوکسینهای استافیلوکوکی در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه جدا شده از بیماران

[۱] Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA)
[۲] Community acquired MRSA (CA-MRSA)
[۳] Hospital acquired MRSA (HA-MRSA)
[۴] Exfoliative toxin (ET)
[۵] Toxic shock syndrome toxin (TSST)
[۶] Superantigen-like (SSL) toxins

مراجعه کننده به یک مرکز درمانی در شهر تهران در بازه زمانی سالهای ۱۴۰۱-۱۳۹۸ انجام رسیده است.

مواد و روش‌ها

جمع آوری و شناسایی ایزوله های *استافیلوکوکوس اورئوس*

در این مطالعه در مجموع ۴۸۹ ایزوله مشکوک به *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین از بیماران بستری در یک بیمارستان مرجع در شهر تهران در بازه زمانی سالهای ۱۴۰۱-۱۳۹۸ جمع آوری شدند. تمام ایزوله ها مستقیما توسط آزمایشگاه بیمارستان مورد نظر از بیماران جداسازی شده بودند و پلیتهای مربوط به هر ایزوله باکتریایی به صورت هفتگی جمع آوری و با رعایت زنجیره سرد به آزمایشگاه باکتری شناسی دانشگاه اصفهان منتقل شدند. ایزوله های باکتریایی مربوط به نمونه های زخم (۱۹۱ ایزوله، ۳۹ درصد)، ادرار (۱۳۴ ایزوله، ۲۷ درصد)، سواب نازوفارنکس (۶۲ ایزوله، ۱۳ درصد)، خون (۴۸ ایزوله، ۱۰ درصد)، چرک (۳۹ ایزوله، ۸ درصد)، مایع صفاقی (۸ ایزوله، ۲ درصد) و خلط (۷ ایزوله، ۱ درصد) بودند (جدول ۱). همچنین، بیشترین فراوانی ایزوله ها به ترتیب متعلق به بیماران در بخشهای ICU (۲۳ درصد)، داخلی (۲۰ درصد)، زنان (۱۵ درصد) و اورولوژی (۱۳ درصد) بود. علاوه بر این، ۲۲۴ (۴۵ درصد) و ۲۶۵ (۵۵ درصد) ایزوله به ترتیب متعلق به آقایان و خانمها بود که در میان نمونه های آقایان ۳۹ و ۲۵ درصد ایزوله ها به ترتیب از ادرار و زخم جداسازی شدند و در مورد خانمها نیز بیشترین فراوانی ایزوله ها متعلق به نمونه های زخم (۴۶ درصد) و ادرار (۲۱ درصد) بودند (جدول ۲). تمامی ایزوله ها که در آزمایشگاه بیمارستان به عنوان *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد شناسایی قرار گرفته بودند در ابتدا بر روی محیط کلمبیا آگار (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) کشت داده شدند و سپس ایزوله های خالص در محیط مغذی واجد ۵۰ درصد گلیسرول در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره شدند. جهت شناسایی و تشخیص قطعی ایزوله ها از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *nuc*A استفاده گردید (۳).

تعیین مقاومت ایزوله ها نسبت به متی سیلین

جهت تعیین مقاومت ایزوله های جمع آوری شده از آزمایشگاه بیمارستان مورد نظر بر اساس دستورالعمل Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)

از آزمون غربالگری آگار[۷] با استفاده از محیط مولر هینتون آگار (Scharlau, Spain) واجد ۶ میکروگرم/میلی لیتر آنتی بیوتیک اگزاسیلین (Merck, Darmstadt, Germany) و ۴ درصد نمک استفاده شد (۱۲). سپس، هر ایزوله جداسازی شده بر روری محیط واجد آنتی بیوتیک کشت داده شد و سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک که قادر به رشد بر روی محیط بودند به عنوان ایزوله های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین انتخاب شدند. در نهایت به منظور تأیید مقاومت به متی سیلین در میان هر ایزوله باکتریایی از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژنهای *mec*A و *mec*C استفاده گردید (۳, ۱۳).

[۷] Agar screening

جدول ۱- فراوانی ایزوله های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین جداسازی شده از نمونه های بیماران در بخشهای مختلف بیمارستان.

نمونه	بخش							مجموع (درصد)
	اورولوژی (درصد)	کنسر (درصد)	اطفال (درصد)	جراحی (درصد)	زنان (درصد)	داخلی (درصد)	ICU (درصد)	
زخم	-	۲۰ (۱۱)	۶ (۳)	۳۱ (۱۶)	۳۹ (۲۰)	۳۶ (۱۹)	۵۹ (۳۱)	۱۹۱ (۳۹)
ادرار	۵۹ (۴۴)	۱۱ (۸)	۵ (۴)	-	۱۷ (۱۳)	۱۴ (۱۰)	۲۸ (۲۱)	۱۳۴ (۲۷)
سواب نازوفارنکس	-	۸ (۱۳)	۱۰ (۱۶)	-	-	۳۲ (۵۲)	۱۲ (۱۹)	۶۲ (۱۳)
خون	۷ (۱۵)	۱۳ (۲۷)	۴ (۸)	۹ (۱۹)	۲ (۴)	۹ (۱۹)	۴ (۸)	۴۸ (۱۰)
چرک	-	-	-	۱۸ (۴۶)	۱۳ (۳۳)	-	۸ (۲۱)	۳۹ (۸)
مایع صفاقی	-	-	-	۵ (۶۲)	-	۳ (۳۸)	-	۸ (۲)
خلط	-	۱ (۱۴)	-	-	-	۵ (۷۲)	۱ (۱۴)	۷ (۱)
مجموع (درصد)	۶۶ (۱۳)	۵۳ (۱۱)	۲۵ (۵)	۶۳ (۱۳)	۷۱ (۱۵)	۹۹ (۲۰)	۱۱۲ (۲۳)	۴۸۹

جدول ۲- فراوانی ایزوله های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین جداسازی شده از نمونه های مربوط به آقایان و خانمهای بستری در بیمارستان.

نمونه	جنسیت		مجموع (درصد)
	آقایان (درصد)	خانمها (درصد)	
زخم	۶۴ (۲۹)	۱۲۲ (۴۶)	۱۸۶ (۳۸)
ادرار	۷۹ (۳۵)	۵۵ (۲۱)	۱۳۴ (۲۷)
سواب نازوفارنکس	۲۹ (۱۳)	۳۳ (۱۲)	۶۲ (۱۳)
خون	۳۲ (۱۴)	۲۱ (۸)	۵۴ (۱۱)
چرک	۱۶ (۷)	۲۳ (۹)	۳۹ (۸)
مایع صفاقی	۳ (۱)	۵ (۲)	۸ (۲)
خلط	۱ (۱)	۶ (۲)	۷ (۱)
مجموع (درصد)	۲۲۴ (۴۵)	۲۶۵ (۵۵)	۴۸۹

آزمونهای مولکولی

استخراج DNA

به منظور استخراج DNA در این مطالعه از روش جوشاندن بر اساس دستورالعمل رحیمی و همکاران استفاده گردید (۱۴). در ابتدا یک لوپ از کشت خالص و تازه هر ایزوله باکتریایی در ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل ورتکس و حل گردید و سوسپانسیون حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه ترموبلاک (HPN-24، پدیده نوژن پارس) در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد جوشانده شد. پس از آن، میکروتیوبها در دستگاه سانتریفیوژ یخچالدار (ARM-500، ارمغان طب ایرانیان) به مدت ۱۵ دقیقه در g × ۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ شدند و در نهایت از مایع رویی به عنوان DNA در آزمونهای مولکولی استفاده گردید.

شناسایی ایزوله های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین

جهت شناسایی ایزوله های *استافیلوکوکوس اورئوس* از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *nuc*A (جدول ۳) بر اساس دستورالعمل و برنامه حرارتی پیشین استفاده گردید (۳). طول قطعه مورد انتظار برای ژن *nuc*A نیز ۴۰۰ جفت باز بود. همچنین، برای تأیید مقاومت به اگزاسیلین پرایمرهای اختصاصی ژنهای *mec*A (وزن قطعه ۳۱۰ جفت باز) و *mec*C (وزن قطعه ۳۸۳ جفت باز) (جدول ۳) بر اساس پروتکل معرفی شده پیشین مورد استفاده قرار گرفتند (۳, ۱۳).

SCC*mec* تایپینگ سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین

به منظور تعیین حضور SCC*mec* تایپهای مختلف (I-V) در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین از آزمون multiplex-PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تایپهای I، II، III، IVa، IVb، IVc، IVd و V (جدول ۳) و برنامه حرارتی تأیید شده پیشین استفاده گردید (۱۵).

پروفاژ تایپینگ سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین

در این مطالعه جهت تعیین وجود پروفاژ تایپهای مختلف (SGA، SGB، SGFa، SGFb، SGD و SGL) و همچنین پروفاژ تایپینگ سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین از آزمون multiplex-PCR با پرایمرهای اختصاصی (جدول ۳) بر اساس دستورالعمل Pantucek و همکاران (۱۶) و برنامه اصلاح شده توسط رحیمی و همکاران استفاده گردید (۱۷).

تعیین وجود عوامل حدت در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین

وجود ژنهای رمزکننده انتروتوکسینهای استافیلوکوکی (*sea*-*seq*) در میان سویه های مقاوم به متی سیلین با استفاده از دو آزمون multiplex-PCR جداگانه و با پرایمرهای اختصاصی (جدول ۳) تعیین گردید (۱۸). همچنین، به منظور بررسی ژنهای *tst* و *pvl* از آزمونهای PCR جداگانه با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۳) استفاده گردید (۱۹, ۲۰).

تجزیه و تحلیل داده ها

به منظور انجام بررسیهای آماری و تجزیه و تحلیل داده های به دست آمده در طی آزمونهای مختلف از آزمون Chi-squared و نرم افزار GraphPad Prism 8 استفاده گردید. همچنین جهت رسم نمودار نیز از این برنامه استفاده گردید.

نتایج

شناسایی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین

بر اساس نتایج حاصل از آزمونهای کشت بر روی محیط واجد آنتی بیوتیک و PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژنهای *nuc*A و *mec*A مشخص گردید که از مجموع ۴۸۹ ایزوله جمع آوری شده از آزمایشگاه بیمارستان مورد مطالعه، تمامی ایزوله ها واجد ژن *nuc*A بودند و به عنوان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد تأیید قرار گرفتند، اما تنها ۴۶۳ سویه (۹۵ درصد) قادر به رشد بر روی محیط واجد اگزاسیلین بودند و همچنین واجد ژن *mec*A بودند که به عنوان *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین مورد شناسایی و تأیید قرار گرفتند، ۲۶ سویه (۵ درصد) نیز فاقد مقاومت به متی سیلین بودند و به اشتباه در آزمایشگاه شناسایی شده بودند. در این مطالعه هیچکدام از سویه ها واجد ژن *mec*C نبودند. همچنین، ۲۱۹ سویه (۴۷ درصد) از آقایان و ۲۴۴ سویه (۵۳ درصد) نیز از خانمها جداسازی شدند (جدول ۴). علاوه بر این، بیشترین تعداد سویه ها متعلق به بیماران در بازه سنی ۵۰-۵۹ سال (۲۴ درصد) و سپس ۶۰-۶۹ سال (۲۳ درصد) بود. ضمنا، در هیچکدام از بازه های سنی تفاوت معنی داری بین فراوانی سویه های جداسازی شده از آقایان و خانمها مشاهده نشد.

جدول ۳- توالی پرایمرها و برنامه حرارتی مورد استفاده در آزمونهای PCR.

نام پرایمر	توالی پرایمر	طول قطعه (جفت باز)	منبع	برنامه حرارتی
*nuc*A	F: 5′-AGTTCAGCAAATGCATCACA R: 5′-TAGCCAAGCCTTGACGAACT	400	3	94°C: 5 min, 30 cycles (94°C: 45 S, 62°C: 45 S, 72°C: 30 S), 72°C: 7 min
mecA	F: 5′-GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA R: 5′-CCAATTCCACATTGTTTCGGTCTAA)	310	3	94°C: 10 min, 25 cycles (94°C: 45 S, 55°C: 45 S, 72°C: 105 S), 72°C: 8 min
mecC	F: 5′-TGAACGAAGCAACAGTACACC R: 5′- AGATCTTTTCCGTTTTCAGCCT	238	13	95°C: 5 min, 35 cycles (95°C: 45 S, 50°C: 45 S, 72°C: 1 min), 72°C: 2 min
SCC*mec* Type I	F: GCTTTAAAGAGTGTCGTTACAGG R: GTCTCTCATAGTATGACGTCC	613	15	94°C: 5 min, 10 cycles (94°C: 45 S, 65°C: 45 S, 72°C: 90 S), 25 cycles (94°C: 45 S, 55°C: 45 S, 72°C: 90 S), 72°C: 10 min
SCC*mec* Type II	F: CGTTGAAGATGATGAAGCG R: CGAAATCAATGGTTAATGGACC	398		
SCC*mec* Type III	F: CCATATTGTGTACGATGCG R: CCTTAGTTGTCGTAACAGATCG	280		
SCC*mec* Type IVa	F: GCCTTATTCGAAGAAACCG R: CTACTCTTCTGAAAAGCGTCG	776		
SCC*mec* Type IVb	F: TCTGGAATTACTTCAGCTGC R: AAACAATATTGCTCTCCCTC	493		
SCC*mec* Type IVc	F: ACATATTTGTATTATCGGAGAGC R: TTGGTATGAGGTATTGCTGG	200		
SCC*mec* Type IVd	F: CTCAAAATACGGACCCCAATACA R: TGCTCCAGTAATTGCTAAAG	881		
SCC*mec* Type V	F: GAACATTGTTACTTAAATGAGCG R: TGAAAGTTGTACCCTTGACACC	325		
SGA	F: 5′-TATCAGGCGAGAATTAAGGG R: 5′-CTTTGACATGACATCCGCTTGAC	744	16	94°C: 10 min, 30 cycles (94°C: 1 min, 55°C: 90 S, 70°C: 90 S), 70°C: 10 min
SGB	F: 5′-ACTTATCCAGGTGGYGTTATTG R: 5′-TGTATTTAATTTCGCCGTTAGTG	405		
SGF	F: 5′-CGATGGACGGCTACACAGA R: 5′-TTGTTCAGAAACTTCCCAACCTG	155		
SGFa	F: 5′-TACGGGAAAATATTCGGAAG R: 5′-ATAATCCGCACCTCATTCCT	548		
SGFb	F: 5′-AGACACATTAAGTCGCACGATAG R: 5′-TCTTCTCTGGCACGGTCTCTT	147		
SGD	F: 5′-TGGGCTTCATTCTACGGTGA R: 5′-GTAATTTAATGAATCCACGAGAT	331		
SGL	F: 5′-GCTTAAAACAGTAACGGTGACAGTG R: 5′-TGCTACATCATCAAGAACACCTGG	748		
pvl	F: ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA R: GCATCAAGTGTATTGGATAGCAAAAGC	443	19	94°C: 10 min, 10 cycles (94°C: 45 S, 55°C: 45 S, 72°C: 75 S), 25 cycles (94°C: 45 S, 50°C: 45 S, 72°C: 75 S) 72°C: 10 min
tst	F: 5′-ATGGCAGCATCAGCTTGATA R: TTTCCAATAACCACCCGTTT	350	20	94°C: 4 min, 30 cycles (94°C: 30 S, 55°C: 2 min, 72°C: 1 min), 72°C: 7 min

ادامه جدول ۳- توالی پرایمرها و برنامه حرارتی مورد استفاده در آزمونهای PCR.

نام پرایمر	توالی پرایمر	طول قطعه (جفت باز)	منبع	برنامه حرارتی
sea	F: 5′-TAAGGAGGTGGTGCCTATGG	180	18	94°C: 5 min, 30 cycles (94°C: 45 S, 62°C: 45 S, 72°C: 105 S), 72°C: 10 min
	R: 5′-CATCGAAACCAGCCAAAGTT			
seb	F: 5′-TCGCATCAAACTGACAAACG	478		
	R: 5′-GCAGGTACTCTATAAGTGCC			
sec	F: 5′-ACCAGACCCTATGCCAGATG	371		
	R: 5′-TCCCATTATCAAAGTGGTTTCC			
sed	F: 5′-TCAATTCAAAAGAAATGGCTCA	339		
	R: 5′-TTTTTCCGCGCTGTATTTTT			
see	F: 5′-TACCAATTAACTTGTGGATAGAC	170		
	R: 5′-CTCTTTGCACCTTACCGC			
seg	F: 5′-CCACCTGTTGAAGGAAGAGG	432		
	R: 5′-TGCAGAACCATCAAACTCGT			
seh	F: 5′-TCACATCATATGCGAAAGCAG	463		
	R: 5′-TCGGACAATATTTTTCTGATCTTT			
sei	F: 5′-CTCAAGGTGATATTGGTGTAGG	529		
	R: 5′-CAGGCAGTCCATCTCCTGTA			
sej	F: 5′-GGTTTTCAATGTTCTGGTGGT	306		
	R: 5′-AACCAACGGTTCTTTTGAGG			
sel	F: 5′-CACCAGAATCACACCGCTTA	204		
	R: 5′-CTGTTTGATGCTTGCCATTG			
sek	F: 5′-ATGAATCTTATGATTTAATTTCAGAATCAA	545	18	95°C: 15 min, 40 cycles (94°C: 30 S, 55°C: 45 S, 72°C: 1 min), 72°C: 10 min
	R: 5′-ATTTATATCGTTTCTTTATAAGAAATATCG			
sem	F: 5′-ATGAAAAGAATACTTATCATTGTTGTTTTATTG	720		
	R: 5′-CTTCAACTTTCGTCCTTATAAGATATTTC			
sen	F: 5′-ATAAAAAATATTAAAAAGCTTATGAGATTGTTC	777		
	R: 5′-ACTTAATCTTTATATAAAAATACATCAATATG			
seo	F: 5′- TATGTAGTGTAAACAATGCATATGCA	685		
	R: 5′-TCTATTGTTTTATTATCATTATAAATTTGCAAAT			
sep	F: 5′-TTAGACAAACCTATTATCATAATGGAAGT	618		
	R: 5′-TATATAAATATATATCAATATGCATATTTTTAGACT			
seq	F: 5′-GGAAAATACACTTTATATTCACAGTTTCA	539		
	R: 5′-ATTTATTCAGTTTTCTCATATGAAATCTC			

تایپینگ سویه ها SCC*mec*

بر اساس نتایج حاصل از آزمون PCR، ژن *mecA* در میان تمامی سویه ها شناسایی گردید و نتایج حاصل از آزمون PCR کاملا منطبق بر آزمون مقامت میکروبی بود. همچنین، نتایج حاصل از بررسی ژن *mecC* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی نشان داد که تمامی سویه ها فاقد این ژن بودند. علاوه بر این، در این مطالعه ۳۳ سویه (۷ درصد) واجد SCC*mec* تایپ IVa، ۹ سویه (۲ درصد) واجد SCC*mec* تایپ IVc و ۱۴ سویه (۳ درصد) نیز واجد SCC*mec* تایپ V بودند. بنابراین در مجموع ۵۶ سویه (۱۲ درصد) که واجد SCC*mec* تایپهای IV و V بودند به عنوان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه شناسایی شدند. همچنین، ۴۰۷ سویه (۸۸ درصد) نیز به عنوان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از بیمارستان طبقه بندی شدند؛ که واجد SCC*mec* تایپهای III (۶۳ درصد)، I (۱۹ درصد) و II (۶ درصد) بودند.

جدول ۴- فراوانی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در میان خانمها و آقایان در بازه های سنی مختلف.

بازه سنی (سال)	آقایان (درصد)	خانمها (درصد)	مجموع (درصد)	*P* value
۱-۹	(۲) ۴	(۲) ۶	(۲) ۱۰	۱/۰۰۰۰
۱۰-۱۹	(۵) ۱۱	(۳) ۸	(۴) ۱۹	۰/۷۲۰۹
۲۰-۲۹	(۵) ۱۲	(۷) ۱۷	(۶) ۲۹	۰/۷۶۷۳
۳۰-۳۹	(۱۳) ۲۹	(۱۶) ۳۸	(۱۴) ۶۷	۰/۶۸۸۵
۴۰-۴۹	(۱۵) ۳۲	(۱۸) ۴۲	(۱۶) ۷۴	۰/۷۰۳۷
۵۰-۵۹	(۲۱) ۴۵	(۲۶) ۶۴	(۲۴) ۱۰۹	۰/۵۰۵۰
۶۰-۶۹	(۲۶) ۵۸	(۱۹) ۴۶	(۲۳) ۱۰۴	۰/۳۰۹۶
۷۰-۷۹	(۷) ۱۵	(۷) ۱۷	(۷) ۳۲	۱/۰۰۰۰
۸۰-۸۹	(۶) ۱۳	(۲) ۶	(۴) ۱۹	۰/۲۷۹۰
مجموع	(۴۷) ۲۱۹	(۵۳) ۲۴۴	۴۶۳	۰/۴۷۹۶

پروفاژ تایپینگ سویه ها

در مطالعه حاضر در مجموع ۴ پروفاژ تایپ (SGA، SGB، SGF و SGL) و دو ساب تایپ (SGFa و SGFb) در میان ۵۶ سویه *استافیلوکوکوس ارئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه شناسایی گردید (جدول ۵). بر این اساس مشخص گردید که تمامی سویه ها (۱۰۰ درصد) واجد پروفاژ تایپهای SGA و SGF و ساب تایپهای SGFa و SGFb بودند. همچنین هیچکدام از سویه ها واجد پروفاژ تایپ SGD نبودند و فراوانی پروفاژ تایپهای SGB و SGL نیز به ترتیب محدود به ۶۴ درصد (۳۶ سویه) و ۴۵ درصد (۲۵ سویه) سویه ها بود. همچنین، ۴ الگوی پروفاژی نیز در میان سویه ها شناسایی گردید که الگوی شماره ۱ که متشکل از تمامی پروفاژ تایپهای شناسایی شده بود در ۳۶ درصد از سویه ها شناسایی گردید و به عنوان الگوی غالب در این مطالعه تعیین گردید. از طرف دیگر، ۲۸ و ۲۷ درصد سویه های نیز به ترتیب واجد الگوهای شماره ۳ (شامل پروفاژ تایپهای SGA، SGB، SGF، SGFa و SGFb) و شماره ۴ (شامل پروفاژ تایپهای SGA، SGF، SGFa و SGFb) بودند. بنابراین، تمامی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه واجد پروفاژ تایپ SGA بودند.

جدول ۵- فراوانی پروفاژ تایپها و الگوهای پروفاژی در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه.

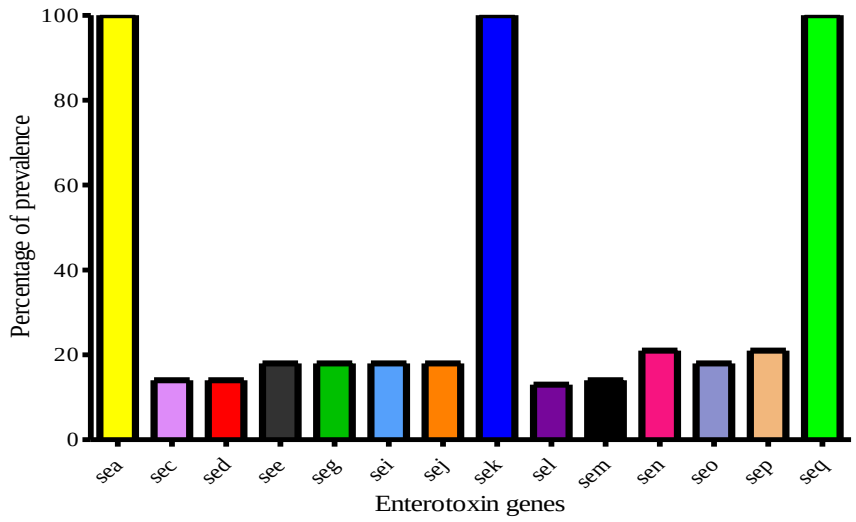
الگوی پروفاژی	پروفاژ تایپ						تعداد (درصد)
	SGA	SGB	SGF	SGFa	SGFb	SGL	
۱	+	+	+	+	+	+	۲۰ (۳۶)
۲	+	−	+	+	+	+	۵ (۹)
۳	+	+	+	+	+	−	۱۶ (۲۸)
۴	+	−	+	+	+	−	۱۵ (۲۷)

فراوانی ژنهای مربوط به عوامل حدت

بر اساس نتایج به دست آمده از آزمونهای multiplex-PCR جداگانه جهت شناسایی ژنهای مربوط به انتروتوکسینها در مجموع ۱۴ ژن (*sea*، *sec*، *sed*، *see*، *seg*، *sei*، *sej*، *sek*، *sel*، *sem*، *sen*، *seo*، *sep* و *seq*) در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه شناسایی گردید (شکل ۱)؛ که در این میان، ۳ ژن *sea*، *sek* و *seq* در تمامی سویه ها (۱۰۰ درصد) حاضر بودند و پس از آن ژنهای *sen* و *sep* (۲۱ درصد) از بیشترین فراوانی در میان سویه ها برخوردار بودند. همچنین، کمترین فراوانی نیز مربوط به ژنهای *sel* (۱۳ درصد)، *sec*، *sed* و *sem* (۱۴ درصد) بود. علاوه بر این، همانگونه که در جدول ۶ نشان داده شده است، در مجموع ۵ الگوی ژنی نیز بر اساس حضور ژنهای رمزکننده انتروتوکسینها در میان سویه ها شناسایی گردید، که بر این اساس الگوی ژنی شماره ۱، متشکل از ژنهای *sea*، *sek* و *seq* در ۷۲ درصد سویه ها (۴۱ سویه) شناسایی گردید و به عنوان فراوانترین الگو در این مطالعه معرفی گردید؛ و ۲۸ درصد سویه ها نیز واجد ۱۲-۷ ژن مختلف انتروتوکسینی بودند. از طرف دیگر، الگوهای شماره ۴ و ۵ که به ترتیب متشکل از ۱۱ و ۱۲ ژن انتروتوکسینی بودند نیز در ۱۸ درصد سویه ها شناسایی شدند. همچنین، تمامی ۵۶ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه از نظر وجود ژن *pvl* مثبت بودند و ژن *tst* نیز در ۱۶ سویه (۲۹ درصد) شناسایی گردید.

جدول ۶- الگوهای ژنهای انتروتوکسینی در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه.

الگو	ژنهای انتروتوکسینی	تعداد	درصد
۱	*sea, sek, seq*	۴۱	۷۲
۲	*sea, sek, seq, sec, sed, sem, seo*	۳	۵
۳	*sea, sek, seq, sel, sem, sen, seo, sep*	۲	۴
۴	*sea, sek, seq, sec, see, seg, sei, sej, sen, seo, sep*	۵	۹
۵	*sea, sek, seq, sed, see, seg, sei, sej, sel, sem, sen, sep*	۵	۹



شکل ۱- درصد فراوانی ژنهای رمزکننده انتروتوکسینها در سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه.

بحث

کلونیزه شدن انسان با *استافیلوکوکوس اورئوس* یک ارتباط بدون علامت و از نوع همسفرگی[۸] است. عفونت علامتی ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* از شیوع کمتری برخوردار است و ممکن است به دنبال برهم خوردن تمامیت و یکپارچگی سدهای محافظت کننده پوست یا مخاطات رخ دهد و شدت آن نیز تحت تأثیر عوامل حدت باکتری و شرایط میزبان قرار دارد. بیماریهای ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* مشتمل بر طیف وسیعی از بیماریها، از عفونتهای سطحی پوست و بافت نرم تا بیماریهای تهاجمی تهدید کننده زندگی از جمله باکتریمی، اندوکاردیت و سندرم شوک سمی، می باشند (۲۱). *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین از جمله عوامل مهم ایجاد عفونتهای بیمارستانی در سراسر جهان محسوب می شود. با این حال، همه گیرشناسی *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در دهه های اخیر دستخوش تغییراتی قرار گرفته است و جداسازی ایزوله های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین دیگر تنها محدود به بیماران بستری در بیمارستان یا افرادی با عوامل خطر مستعد کننده نیست (۲۱, ۲۲). شیوع ایزوله های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه در سراسر جهان در جمعیتهای مختلف جامعه گزارش شده است. سویه های اکتسابی از جامعه هم اکنون به عنوان کلون تایپهای مجزا شناخته می‌شوند که با سویه‌های سنتی اکتسابی از بیمارستان کاملا متفاوت هستند. علیرغم اینکه بر اساس تعریف، سویه های اکتسابی از بیمارستان و جامعه هر دو نسبت به متی سیلین (و تمام آنتی بیوتیکهای بتا-لاکتام) مقاوم هستند، اما تفاوتهای مهمی بین این دو دسته وجود دارد (۳).

ایزوله های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از بیمارستان و اکتسابی از جامعه را می توان به روشهای مختلفی از قبیل محل احتمالی اکتساب (جامعه یا بیمارستان)، الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی، ژنوتایپ (به عنوان قطعی ترین روش)، همه گیرشناسی و جنبه های بالینی عفونت از یکدیگر متمایز کرد (۲۲). بر خلاف سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از بیمارستان، بیشتر سویه های اکتسابی از جامعه نسبت به چندین عامل ضد میکروبی حساسیت نشان می دهند. در موارد عفونت ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه که نیازی به بستری شدن در بیمارستان نیست، اما استفاده از آنتی بیوتیکهای خوراکی تری متوپریم-سولفامتوکسازول، داکسی سایکلین و کلیندامایسین و یا ترکیب آنتی بیوتیکهای تری متوپریم-سولفامتوکسازول و ریفامپین ممکن است برای آنها ضروری تشخیص داده می شود (۲۳). پیش از گسترش فناوریهای ژنتیکی در آزمایشگاه های میکروبشناسی، شناسایی عوامل خطر و همه گیرشناسی جهت افتراق موارد عفونت ناشی از سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه و اکتسابی از بیمارستان مورد استفاده قرار می گرفت و محل اکتساب (جامعه یا بیمارستان) مبنای تعیین این سویه ها بود. اما در حال حاضر این روش افتراق دیگر با واقعیت بالینی مطابقت ندارد، زیرا سویه های اکتسابی از جامعه به بیمارستانها راه یافته و در مراکز درمانی منتشر شده و به یک عامل بیماریزای بیمارستانی شایع مبدل شده اند. در مطالعه ای در آمریکایی مشخص گردید که سویه های اکتسابی از جامعه هم در جوامع و هم در بیمارستانها در حال گسترش هستند (۲۴). در کانادا، بیش از ۲۰ درصد از عفونتهای بیمارستانی ناشی از ایزوله های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین توسط ایزوله های اکتسابی از جامعه ایجاد می شود (۲۱, ۲۵). همچنین، در مطالعه دیگری در آلبرتا کانادا گزارش گردید که ۲۷/۶ درصد از عفونتهای *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در بیمارستانها ناشی از سویه های اکتسابی از جامعه و ۲۷/۵ درصد نیز متعلق به سویه های اکتسابی از بیمارستان بودند (۲۶). بنابراین به نظر می رسد که با توجه به اینکه هم جوامع و هم بیمارستانها به محیطهای غنی از آنتی بیوتیکهای مختلف مبدل شده اند بنابراین، ایزوله های باکتریایی نیز در حال تبادل بین هر دو محیط می باشند و ظهور جدایه های با عنوان اکتسابی از بیمارستان و جامعه در هر دو محیط به یک امر عادی مبدل شده است.

در مطالعه حاضر ۵ درصد ایزوله های جمع آوری شده از بیمارستان مورد مطالعه نسبت به متی سیلین حساس بودند که در آزمایشگاه به اشتباه به عنوان ایزوله های مقاوم به متی سیلین گزارش شده بودند. با توجه به اینکه در آزمایشگاه های تشخیص طبی از دیسکهای آنتی بیوتیک ایرانی و همچنین روشهای غیراستاندارد و سنتی جهت بررسی مقاومت ایزوله های باکتریایی نسبت به آنتی بیوتیکهای مختلف استفاده می شود، لذا چنین اشتباهات فاحشی چندان هم عجیب و دور از ذهن نیست. بنابراین، استفاده از دیسکهای آنتی بیوتیکی

---

[۸] Commensalism

استاندارد خارجی و انجام آزمون انتشار دیسک بر اساس دستورالعملهای CLSI (تنظیم pH و قطر محیط کشت مولر هینتون آگار در داخل پلیت، استفاده از دیسک آنتی بیوتیک سفوکسی تین به جای دیسک اگزاسیلین، انکوباسیون در دمای استاندارد و همچنین اضافه نمودن ۴ درصد NaCl به محیط کشت جهت تعیین مقاومت به متی سیلین) یا تعیین حضور ژنهای *mec*A و *mec*C با استفاده از پرایمرهای اختصاصی باعث افزایش دقت در تشخیص و همچنین کاهش چنین اشتباهات فاحشی خواهد شد.

بر اساس نتایج حاصل از آزمون SCC*mec* تایپینگ در این مطالعه، ۱۲ درصد سویه ها واجد تایپهای IVa (۷ درصد)، V (۳ درصد) و IVc (۲ درصد) بودند که به عنوان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه مورد شناسایی قرار گرفتند. همچنین ۸۸ درصد سویه ها نیز اکتسابی از بیمارستان بودند که واجد SCC*mec* تایپهای III، I و II بودند. به طور کلی این یافته ها منطبق بر سایر مطالعات انجام گرفته در ایران بر روی نمونه های بالینی، محیطی، دامی و غذایی می باشد (۳, ۴, ۱۴, ۱۵, ۱۸, ۲۷-۳۱). در تمامی آن مطالعات سویه های اکتسابی از جامعه واجد تایپهای IV (a , c) و V بودند. بنابراین به نظر می رسد با توجه به شباهت نتایج در گزارشات ارائه شده در سالهای مختلف، می توان اذعان داشت که سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین (اکتسابی از بیمارستان و جامعه) متعلق به کلون تایپهای مشخصی هستند که در بیمارستانها و جامعه در حال گردش هستند و در طی سالهای مختلف و علیرغم فشارهای انتخابی محیط توانسته اند به عنوان سویه های بیماریزا و مقاوم به آنتی بیوتیک در تمامی مراکز مورد بررسی حاضر باشند و همچنان دوام داشته باشند. با توجه به تداوم حضور این کلون تایپها در سالهای مختلف و گسترش آنها در مراکز درمانی و بخشهای مختلف جامعه و حتی مواد غذایی و مزارع پرورش دام و طیور می توان اذعان داشت که تمهیدات کنترل عفونت مورد استفاده در بیمارستانها چندان مؤثر نبوده و این سویه ها مبدل به یک معضل بهداشتی مهم در ایران شده اند.

در این مطالعه تمامی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه واجد پروفاژ تایپهای SGA و SGF و دو ساب تایپ SGFa و SGFb بودند. همچنین پروفاژ تایپهای SGB و SGL نیز به ترتیب در ۶۴ و ۴۵ درصد سویه ها شناسایی شدند. در سایر مطالعات انجام گرفته در کشور نیز تاکنون نتایج مشابهی ارائه شده است (۳, ۵, ۱۵, ۱۷, ۱۸, ۲۰, ۳۲-۲۸). همچنین، ۴ الگوی پروفاژی نیز در این مطالعه تعیین گردید که الگوی شماره ۱ واجد تمامی پروفاژ تایپهای شناسایی شده بود در ۳۶ درصد سویه ها حاضر بود و به عنوان الگوی غالب معرفی گردید. با توجه به اینکه این سویه های واجد پروفاژ تایپها قادر به تولید پنتون-ولنتاین لوکوسیدین (پروفاژ تایپ SGA) ، آنزیم لیپاز و توکسین سندرک شوک سمی-۱ و توکسین اکسفولیاتیو (پروفاژ تایپ SGB) و انتروتوکسینها A، G، K، P و Q و آنزیمهای استافیلوکیناز، لیپاز و بتا-لیزین (پروفاژ تایپ SGF) می باشند؛ بنابراین سویه های اکتسابی از جامعه به طور بالقوه واجد پتانسیل تولید طیف وسیعی از عوامل حدت می باشند (۱۷, ۳۳).

بر اساس نتایج حاصل در این مطالعه، در مجموع ۱۴ ژن مربوط به انتروتوکسینهای استافیلوکوکی مورد شناسایی قرار گرفتند و تمامی سویه ها حداقل شامل ۳ ژن مربوط به انتروکسینهای A، K و Q بودند. این یافته منطبق بر سایر مطالعات انجام گرفته در ایران است که تمامی سویه های مقاوم به متی سیلین واجد این سه ژن انتروتوکسین بوده اند (۵, ۱۸, ۲۰, ۲۷, ۳۴). با توجه به اینکه هر سه انتروتوکسین مرتبط با پروفاژ تایپ SGF هستند، بنابراین حضور این سه ژن در میان سویه ها کاملا قابل توجیه است (۱۶-۱۸, ۳۲, ۳۳). در مقابل، تعداد ژنهای بیشتری در این مطالعه در مقایسه با سایر مطالعات مورد شناسایی قرار گرفتند (۵, ۱۸, ۲۰, ۲۷, ۳۴) که می تواند ناشی از انتشار کلونال متفاوت کلون تایپهای مختلف در نقاط مختلف و تفاوت در نوع سویه ها و محل جداسازی آنها باشد. همچنین، در این پژوهش ۱۸ درصد سویه ها واجد دو ژن *seg* و *sei* بودند که همانگونه پیشتر نیز نشان داده شد، این دو ژن متعلق به یک کلاستر ژنی انتروتوکسین هستند و همواره با یکدیگر مورد شناسایی قرار گرفته اند (۱۸). همچنین، تمامی سویه ها در این مطالعه از نظر حضور ژن *pvl* مثبت بودند که تأیید کننده ماهیت اکتسابی این سویه ها از جامعه است (۳, ۱۴, ۱۵, ۱۸). چنانچه در مطالعات قبلی نیز اشاره شده است، ژن لوکوسیدین پنتون-ولنتاین از طریق پروفاژ تایپ SGA رمزگذاری می شود بنابراین تمامی سویه های واجد این ژن باید از نظر حضور پروفاژ تایپ SGA نیز مثبت باشند که در اینجا تمامی ۵۶ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین

اکتسابی از جامعه واجد هر دو ژن مربوط به پروفاژ تایپ SGA و لوکوسیدین پنتون-ولنتاین بودند. از طرف دیگر، ۲۹ درصد سویه ها در این مطالعه از نظر ژن *tst* مثبت بودند که در مقایسه با سایر مطالعات پیشین (۵، ۲۰، ۲۸) از شیوع بالاتری برخوردار می باشد که می تواند ناشی از ماهیت سویه ها و حضور بیشتر پروفاژ تایپ SGB در میان این سویه ها باشد. بالا بودن فراوانی ژن رمزکننده توکسین سندرم شوک سمی به عنوان یک سوپرآنتی ژن می تواند عوارض جدی و کشنده برای بیماران به همراه داشته باشد (۷).

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه در میان بیماران مراجعه کننده به بیمارستان مورد نظر از شیوع نسبتا بالایی برخوردار هستند که در مقایسه با مطالعات مشابه در همان بیمارستان در سالهای قبل از فراوانی بیشتری برخوردار هستند و واجد ژنهای مربوط به عوامل حدت بیشتری نیز هستند. عدم اتخاذ و اجرای سیاستهای مؤثر کنترل عفونت در بیمارستانها و عدم فرهنگ سازی مناسب در جامعه باعث شده است که میزان فراوانی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه واجد ژنهای رمزکننده عوامل حدت مختلف هر ساله در کشور افزایش یابد که منجر به تحمیل هزینه های بالای درمانی به بیماران و سیستم بهداشتی کشور می شود.

تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه اصفهان (گرنت اختصاصی اعضای هیأت علمی دانشگاه اصفهان) به انجام رسیده است.

REFERENCE

1. Yu F, Li T, Huang X, Xie J, Xu Y, Tu J, et al. Virulence gene profiling and molecular characterization of hospital-acquired *Staphylococcus aureus* isolates associated with bloodstream infection. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2012;74(4):363-8.
2. Murray CJ, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Aguilar GR, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. The Lancet. 2022;399(10325):629-55.
3. 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.
4. 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.
5. Rahimi F, Khashei S. Characteristics of prophage patterns and virulence genes profiles among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients with diabetic foot infections in a referral hospital in Tehran, Iran Infection Epidemiology and Microbiology. 2023;9(1):15-23.
6. Howden BP, Giulieri SG, Wong Fok Lung T, Baines SL, Sharkey LK, Lee JY, et al. *Staphylococcus aureus* host interactions and adaptation. Nature Reviews Microbiology. 2023;21:380–95.
7. Grispoldi L, Karama M, Armani A, Hadjicharalambous C, Cenci-Goga BT. Staphylococcus aureus enterotoxin in food of animal origin and staphylococcal food poisoning risk assessment from farm to table. Italian Journal of Animal Science. 2021;20(1):677-90.
8. Lefebvre D, Blanco-Valle K, Hennekinne J-A, Simon S, Fenaille F, Becher F, et al. Multiplex detection of 24 staphylococcal enterotoxins in culture supernatant using liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry. Toxins. 2022;14(4):249.
9. Yarwood JM, McCormick JK, Paustian ML, Orwin PM, Kapur V, Schlievert PM. Characterization and expression analysis of *Staphylococcus aureus* pathogenicity island 3: implications for the evolution of staphylococcal pathogenicity islands. Journal of Biological Chemistry. 2002;277(15):13138-47.
10. Ono HK, Hirose S, Naito I, Sato'o Y, Asano K, Hu DL, et al. The emetic activity of staphylococcal enterotoxins, SEK, SEL, SEM, SEN and SEO in a small emetic animal model, the house musk shrew. Microbiology and Immunology. 2017;61(1):12-6.
11. Ono HK, Sato'o Y, Narita K, Naito I, Hirose S, Hisatsune J, et al. Identification and characterization of a novel staphylococcal emetic toxin. Applied and Environmental Microbiology. 2015;81(20):7034-40.
12. Clinical and Laboratory Standard Institute C. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 31th informational supplement. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa. 2021.
13. Ciesielczuk H, Xenophontos M, Lambourne J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harboring *mec*C still eludes us in East London, United Kingdom. Journal of Clinical Microbiology. 2019;57(6):e00020-19.
14. 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.

15. 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.
16. 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.
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, 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.
19. 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.
20. 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.
21. Loewen K, Schreiber Y, Kirlew M, Bocking N, Kelly L. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection: Literature review and clinical update. Canadian Family Physician. 2017;63(7):512-20.
22. Yao Z, Wu Y, Xu H, Lei Y, Long W, Li M, et al. Prevalence and clinical characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections among dermatology inpatients: A 7-year retrospective study at a tertiary care center in southwest China. Frontiers in Public Health. 2023;11:1124930.
23. Bukharie HA. A review of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* for primary care physicians. Journal of Family and Community Medicine. 2010;17(3):117-20.
24. Hadler JL, Petit S, Mandour M, Cartter ML. Trends in invasive infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Connecticut, USA, 2001–2010. Emerging Infectious Diseases. 2012;18(6):917-24.
25. Levesque S, Bourgault A, Galarneau L, Moisan D, Doualla-Bell F, Tremblay C. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* blood culture isolates: results of the Quebec Provincial Surveillance Programme. Epidemiology & Infection. 2015;143(7):1511-8.
26. Taylor G, Bush K, Leal J, Henderson E, Chui L, Louie M. Epidemiology of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections in Alberta, Canada. Journal of Hospital Infection. 2015;89(2):132-5.
27. 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).
28. Rahimi F, Khashei S. Frequency of genes encoding prophage-associated virulence factors among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients with diabetic foot infections in Tehran during 2021-2022. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2023;28(102):21-31.
29. Rahimi F, Qasemi A. Frequency of biofilm production among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients with urinary tract infection in Tehran during 2020-2022. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2023;28(100):43-56.

30. 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.
31. 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.
32. 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.
33. Workman M, Nigro O, Steward G. Identification of prophages in coastal water isolates of *Staphylococcus aureus*. Journal of Young Investigators. 2006;15:1-8.
34. Shettigar K, Murali TS. Virulence factors and clonal diversity of *Staphylococcus aureus* in colonization and wound infection with emphasis on diabetic foot infection. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2020;39(12):2235-46.