فراوانی پروفاژ تایپها و ژنهای رمز کننده بتا-لایزین و استافیلوکیناز در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین جداسازی شده از بیماران در تهران در سال ۱۳۹۶

فاطمه محقق[۱]، فاتح رحیمی[۲]*

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

چکیده

زمینه و هدف: *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین یک باکتری بیماریزای فرصت طلب مرتبط با عفونتهای بیمارستانی و اکتسابی از جامعه است که باعث مرگ و میر بیماران به میزان قابل توجهی می شود. این باکتریها از توانایی بالایی برای کسب عناصر ژنتیکی متحرک (مانند باکتریوفاژها) از طریق پدیده انتقال افقی ژن برخوردار می باشند. باکتریوفاژها می توانند از طریق فرآیند تبدیل فاژی سویه های غیربیماریزا را به سویه های بیماریزا تبدیل نمایند که آنها را قادر به تولید عوامل حدت مختلفی از قبیل بتا-لایزین، استافیلوکیناز، انتروتوکسینها، TSST-1، لیپاز، اکسفولیاتیو توکسین A و پنتون-ولنتاین لوکوسیدین می کند. این مطالعه با هدف تعیین حضور پروفاژ تایپهای مختلف و ژنهای رمزکننده همولایزین و استافیلوکیناز در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین جداسازی شده از بیماران در تهران به انجام رسیده است.

مواد و روشها: در طی سال ۱۳۹۶، در مجموع ۵۰ جدایه مشکوک به *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین از نمونه های بیماران در دو بیمارستان مرجع در شهر تهران جمع آوری شدند. تمامی سویه ها با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *nuc*A مورد شناسایی قرار گرفتند و مقاومت سویه ها نسبت به متی سیلین با استفاده از ترکیبی از روش انتشار از دیسک (بر اساس دستورالعملهای CLSI) و آزمون PCR با پرایمرهای اختصاصی ژن *mec*A تعیین گردید. به منظور پروفاژ تایپینگ سویه ها از آزمون multiplex-PCR استفاده گردید و تمامی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین جهت تعیین وجود ژنهای حدت *hlb* و *sak* مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: تمامی ۵۰ جدایه جمع آوری شده از بیماران در دو بیمارستان مرجع به عنوان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین مورد تایید قرار گرفتند. به استثناء پروفاژ تایپهای SGD و SGL، تمامی پروفاژ تایپها در میان سویه ها شناسایی شدند که در این میان تایپ SGF و ساب تایپهای SGFa و SGFb در تمامی سویه ها حاضر بودند و فراوانی پروفاژ تایپهای SGA و SGB نیز به ترتیب محدود به ۱۶ و ۶۴ درصد سویه ها بود. علاوه بر این، ۴ الگوی پروفاژی نیز در میان سویه ها تعیین گردید که الگوی پروفاژی شماره ۳ (مشتمل بر پروفاژ تایپهای SGB، SGF، SGFa و SGFb) غالبترین الگوی شناسایی شده بود. همچنین، ۱۰۰ و ۸۲ درصد سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین به ترتیب واجد ژنهای *hlb* و *sak* بودند.

نتیجه گیری: نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان دهنده فراوانی بالای پروفاژ تایپها و ژنهای عوامل حدت در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در بیمارستانهای مورد مطالعه است. این سویه ها از پتانسیل بالایی جهت تولید طیف وسیعی از عوامل حدت و متعاقبا ایجاد بیماریهای مختلف برخوردار می باشند.

واژگان کلیدی: ***استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین، پروفاژ تایپ، بتا-لایزین، استافیلوکیناز، multiplex-PCR**

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین یک باکتری بیماریزای بی هوازی اختیاری و فرصت طلب است که به عنوان عامل اصلی ایجاد عفونتهای اکتسابی از بیمارستان و جامعه شناخته می شود (۱). این باکتری در بخش قدامی حفره بینی (شایعترین محل کلونیزاسیون)، پوست (به ویژه نواحی آسیب دیده)، ناحیه پرینه، واژن، زیربغل، ناف نوزادان و اورفارنکس کلونیزه می شود و می تواند طیف وسیعی از بیماریها از جمله آبسه، پنومونی، مسمومیت غذایی، عفونتهای پس از جراحی، عفونتهای پوست و بافتهای نرم، گندخونی، باکتریمی و اندوکاردیت را ایجاد کند (۲). سویه های بیماریزای *استافیلوکوکوس اورئوس* اغلب قادر به تولید انواعی از عوامل حدت از جمله بتا-لایزین، استافیلوکیناز، انتروتوکسینها، اجزای سطح میکروبی شناسایی کننده مولکول های ماتریکس چسبنده (MSCRAMMs)، TSST-1، کپسول پلی ساکاریدی، پنتون-والنتین لکوسیدین (PVL) و توکسین اکسفولیاتیو می باشند (۳). بسیاری از عوامل حدت توسط عناصر ژنتیکی متحرک مانند پلاسمیدها، پروفاژها و جزایر بیماریزایی رمزگذاری می شوند (۱).

پروفاژها از جمله عناصر ژنتیکی متحرک در باکتریها محسوب می شوند که از تنوع و گستردگی بالایی در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین برخوردار می باشند و با تبدیل سویه های غیربیماریزا به سویه های بیماریزا نقشی کلیدی در رمزگذاری و انتشار عوامل حدت و همچنین بیماریزایی جدایه ها ایفا می نمایند. روشهای معمول شناسایی باکتریوفاژها که مبتنی بر القاء پروفاژها از جدایه های لایزوژنیک هستند روشهایی بسیار سخت، زمانبر و طولانی می باشند که استفاده از آنها در سالهای اخیر بسیار کاهش پیدا کرده است. در مقابل روشهای مبتنی بر PCR روشهایی بسیار اختصاصی و سریع هستند که می توان از آنها جهت تایپینگ باکتریها (بر اساس وجود پروفاژ تایپهای SGA، SGB، SGD، SGF، SGFa، SGFb و SGL) استفاده کرد (۱).

این مطالعه با هدف بررسی حضور پروفاژ تایپهای مختلف و همچنین تعیین ژنهای رمزکننده بتا-لایزین و استافیلوکیناز در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین جدا شده از بیماران مراجعه کننده به دو بیمارستان در شهر تهران به انجام رسیده است.

روش کار

جمع آوری جدایه ها

در طی سال ۱۳۹۶، در مجموع ۵۰ جدایه مشکوک به *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین که از نمونه های بیماران در آزمایشگاه دو بیمارستان مرجع در شهر تهران جداسازی شده بودند به صورت هفتگی جمع آوری و به آزمایشگاه باکتری شناسی دانشگاه اصفهان منتقل شدند. تمامی بیماران به مدت حداقل ۷۲ ساعت در دو بیمارستان مورد نظر بستری بودند و نمونه های بیماران پس از نمونه گیری به آزمایشگاه بیمارستان منتقل و مورد بررسی قرار گرفته و پس از آن جدایه های مشکوک به *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین از طریق آزمایشگاه در اختیار گروه تحقیقاتی قرار می گرفت. همانگونه که در جدول ۱ نشان داده شده است، در این مطالعه از مجموع ۵۰ جدایه مورد بررسی، ۲۳ جدایه (۴۶ درصد) از خانمها و ۲۷ جدایه (۵۴ درصد) از آقایان جداسازی شدند. همچنین، بیشترین جدایه ها (۳۸ درصد) مربوط به بیماران بستری در بخش جراحی بود و ۳۲ درصد جدایه ها نیز از بیماران بستری در بخش مراقبتهای ویژه جداسازی شدند. علاوه بر این، به ترتیب ۱۴، ۱۰ و ۶ درصد جدایه ها نیز متعلق به بیماران در بخشهای ریه، زنان و آنکولوژی بود. در این مطالعه ۴۸، ۲۸ و ۲۴ درصد جدایه های باکتریایی جمع آوری شده به ترتیب از نمونه های زخم، ادرار و خلط جداسازی شده بودند. بیشترین جدایه ها به ترتیب متعلق به بیماران در بازه های سنی ۳۱-۴۰ سال (۲۴ درصد) و ۲۱-۳۰ سال (۲۲ درصد) بودند و کمترین فراوانی جدایه ها نیز مربوط به بازه سنی ۸۱-۹۰ سال بود (جدول ۲).

جدول ۱- فراوانی جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در میان نمونه های بیماران و بخشهای مختلف بیمارستان.

نمونه / بخش بیمارستان	زخم		ادرار		خلط		تعداد (درصد)
	زن	مرد	زن	مرد	زن	مرد	
زنان	-	-	۵	-	-	-	۵ (۱۰)
مراقبتهای ویژه	۲	۶	-	۳	۳	۲	۱۶ (۳۲)
جراحی	۶	۱۰	۲	۱	-	-	۱۹ (۳۸)
ریه	-	-	-	-	۳	۴	۷ (۱۴)
آنکولوژی	-	-	۲	۱	-	-	۳ (۶)
تعداد (درصد)	۸ (۱۶)	۱۶ (۳۲)	۹ (۱۸)	۵ (۱۰)	۶ (۱۲)	۶ (۱۲)	۵۰

تمامی جدایه ها پس از انتقال به آزمایشگاه در ابتدا بر روی محیط ژلوز مغذی (Biolife, Italy) به صورت خطی کشت داده شدند و پس از خالص سازی جهت انجام مطالعات بیشتر در لوله های کرایو واجد آبگوشت مغذی (Biolife, Italy) و گلیسرول در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. سپس به منظور شناسایی و تایید نهایی جدایه ها از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژنهای *nuc*A و *mec*A استفاده گردید.

جدول ۲- فراوانی جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در میان نمونه های بیماران بر اساس بازه سنی در جنسهای مختلف.

نمونه / بازه سنی	زخم		ادرار		خلط		تعداد (درصد)
	زن	مرد	زن	مرد	زن	مرد	
۲۱-۳۰	۱	۷	۱	۱	۱	-	۱۱ (۲۲)
۳۱-۴۰	۴	۲	۴	۱	-	۱	۱۲ (۲۴)
۴۱-۵۰	۲	۲	۱	۱	-	۱	۷ (۱۴)
۵۱-۶۰	-	۳	۱	۱	-	-	۵ (۱۰)
۶۱-۷۰	۱	-	۲	-	۲	-	۵ (۱۰)
۷۱-۸۰	-	۱	-	۱	۱	۳	۶ (۱۲)
۸۱-۹۰	-	۱	-	-	۲	۱	۴ (۸)
تعداد (درصد)	۸ (۱۶)	۱۶ (۳۲)	۹ (۱۸)	۵ (۱۰)	۶ (۱۲)	۶ (۱۲)	۵۰

تعیین مقاومت نسبت به سفوکسی تین

جهت بررسی مقاومت سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد شناسایی قرار گرفته نسبت به متی سیلین، از روش انتشار از دیسک آنتی بیوتیک سفوکسی تین (۳۰ میکروگرم) بر روی محیط ژلوز مولر هینتون (Biolife, Italy) و بر اساس دستورالعملهای ارائه شده از جانب (Clinical Laboratory and Standard Institute (CLSI استفاده شد (۴).

استخراج DNA

در این مطالعه استخراج DNA با استفاده از کیت (SinaPure-Gram Positive Bacteria (EX6021تهیه شده از شرکت سیناکلون و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. جهت بررسی کیفیت DNA استخراج شده از ژل الکتروفورز با آگار ۰/۷ درصد استفاده گردید.

آزمونهای PCR

شناسایی جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین

به منظور شناسایی و تأیید سویه های مورد مطالعه که در آزمایشگاه بیمارستانها به عنوان *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد شناسایی اولیه قرار گرفته بودند از آزمون PCR و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *nuc*A براساس پروتکل و چرخه حرارتی که پیشتر توسط رحیمی و همکاران بهینه سازی شده بود، استفاده گردید (۵). همچنین به منظور تأیید مقاومت نسبت به متی سیلین در میان سویه های شناسایی شده از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *mec*A بر اساس چرخه حرارتی و دستورالعمل پیشین استفاده گردید (۶) (جدول ۳).

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

به منظور بررسی حضور پروفاژ تایپهای SGA، SGB، SGF (SGFa & SGFb)، SGD و SGL در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین، آزمون Multiplex-PCR با پرایمرهای اختصاصی و چرخه حرارتی و مخلوط واکنش بر اساس دستورالعمل رحیمی و همکاران مورد استفاده قرار گرفت (۷) (جدول ۳).

شناسایی ژنهای *sak* و *hlb*

جهت شناسایی حضور ژنهای بتا-لایزین (*hlb*) و استافیلوکیناز (*sak*) در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین از آزمونهای PCR جداگانه با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و دستورالعملی که پیشتر معرفی شده بود، استفاده گردید (۸) (جدول ۳).

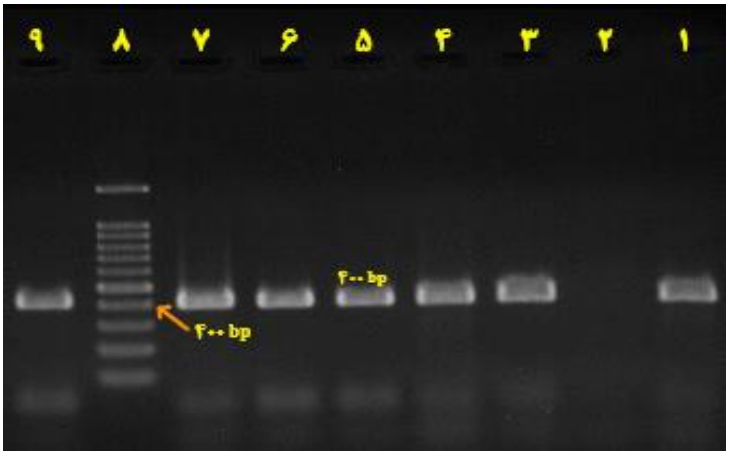
جدول ۳- توالی پرایمرها و برنامه دمایی تکثیر ژنهای مختلف.

نام پرایمر	توالی پرایمر	وزن (bp) محصول	برنامه دمایی
	F:5′-AGTTCAGCAAATGCATCACA		
	R:5′-TAGCCAAGCCTTGACGAACT		
	F:5′-GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA		
	R:5′-CCAATTCCACATTGTTTCGGTCTAA)		
	F:5′-TATCAGGCGAGAATTAAGGG		
	R:5′-CTTTGACATGACATCCGCTTGAC		
	F:5′-ACTTATCCAGGTGGYGTTATTG		
	R:5′-TGTATTTAATTTCGCCGTTAGTG		
	F:5′-CGATGGACGGCTACACAGA		
	R:5′-TTGTTCAGAAACTTCCCAACCTG		
	F:5′-TACGGGAAAATATTCGGAAG		
	R:5′-ATAATCCGCACCTCATTCCT		
	F:5′-AGACACATTAAGTCGCACGATAG		
	R:5′-TCTTCTCTGGCACGGTCTCTT		
	F:5′-TGGGCTTCATTCTACGGTGA		
	R:5′-GTAATTTAATGAATCCACGAGAT		
	F:5′-GCTTAAAACAGTAACGGTGACAGTG		
	R:5′-TGCTACATCATCAAGAACACCTGG		
	F:5′-GTGCATCAAGTTCATTCGAC		
	R:5′-TAAGTTGAATCCAGGGTTTT		
	F:5′-AGCTTCAAACTTAAATGTCA		
	R:5′-CCGAGTACAGGTGTTTGGTA		

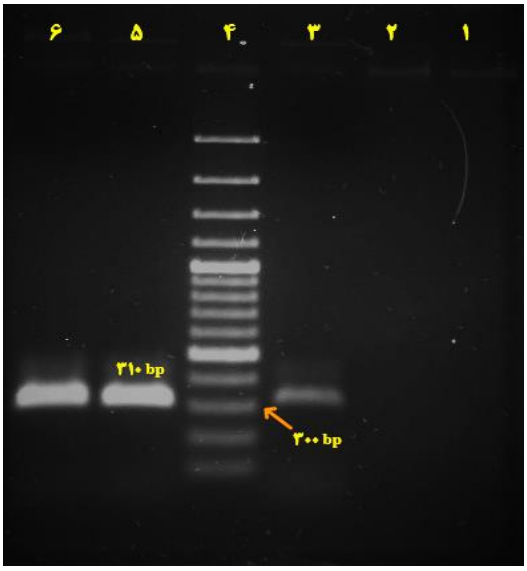
نتایج

شناسایی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین

تمامی ۵۰ جدایه مشکوک به *استافیلوکوکوس اورئوس* جمع آوری شده از دو بیمارستان مورد مطالعه در شهر تهران با استفاده از آزمون PCR برای ژن *nuc*A به عنوان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* شناسایی شدند (شکل ۱) که نتایج به دست آمده از آزمون مولکولی در این مطالعه با روشهای شناسایی فنوتایپی مورد استفاده در آزمایشگاه کاملا همخوانی داشت. علاوه بر این، تمامی ۵۰ سویه جداسازی شده نسبت به دیسک سفوکسی تین مقاوم بودند و همچنین واجد ژن *mec*A نیز بودند (شکل ۲) که به عنوان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین مورد تأیید قرار گرفتند.



شکل ۱- آزمون PCR جهت شناسایی ژن *nucA* در میان سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*. ۱: کنترل مثبت؛ ۲: کنترل منفی؛ ۳-۷ و ۹: سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین؛ ۸: مارکر.



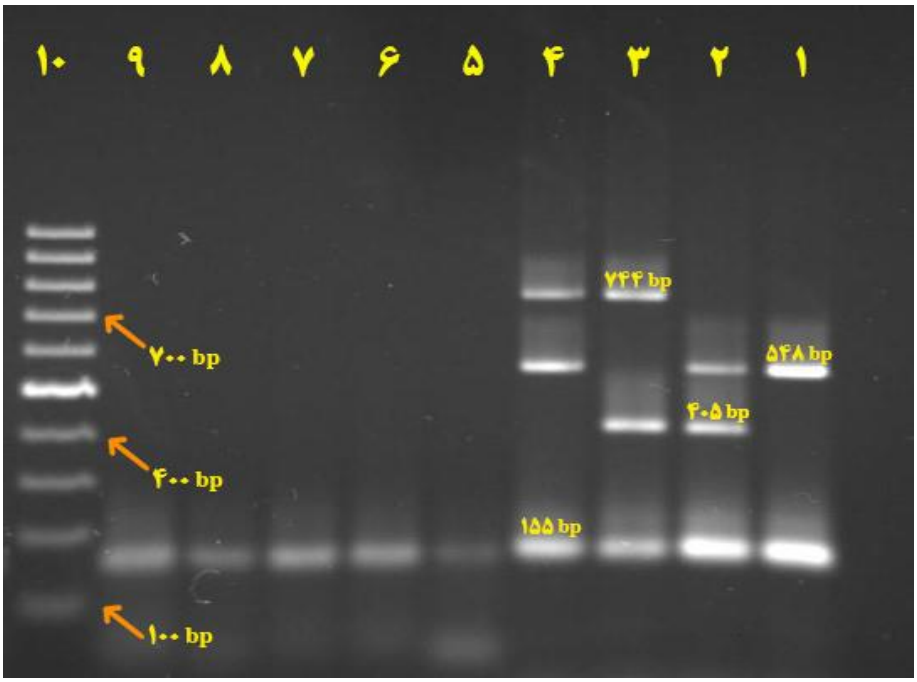
شکل ۲- آزمون PCR جهت شناسایی ژن *mecA* در میان سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین . ۱ و ۲: کنترل منفی؛ ۳: کنترل مثبت؛ ۴: مارکر؛ ۵ و ۶: سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین واجد *mecA*.

بررسی حضور پروفاژ تایپهای مختلف در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین

در این مطالعه در مجموع ۳ پروفاژ تایپ SGA، SGB و SGF و دو ساب تایپ SGFa و SGFb (شکل ۳) در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین شناسایی گردید (جدول ۴). پروفاژ تایپ SGF و دو ساب تایپ آن (SGFa و SGFb) در تمامی ۵۰ سویه (۱۰۰ درصد) مورد مطالعه شناسایی گردیدند و به عنوان تایپهای غالب معرفی شدند. همچنین، پروفاژ تایپهای SGB و SGA نیز به ترتیب در ۶۴ و ۱۶ درصد از سویه ها شناسایی شدند و هیچکدام از سویه ها نیز واجد پروفاژ تایپهای SGD و SGL نبودند. علاوه بر این، ۴ الگوی پروفاژی مختلف نیز در میان سویه ها تعیین گردید که الگوی پروفاژی شماره ۳ (SGB، SGF، SGFa و SGFb) به عنوان الگوی غالب (۲۹ سویه، ۵۸ درصد) در این مطالعه تعیین گردید؛ در حالی که الگوی پروفاژی شماره ۲ از کمترین فراوانی (۳ سویه، ۶ درصد) برخوردار بود.

جدول ۴- نتایج حاصل از شناسایی پروفاژ تایپهای مختلف در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین.

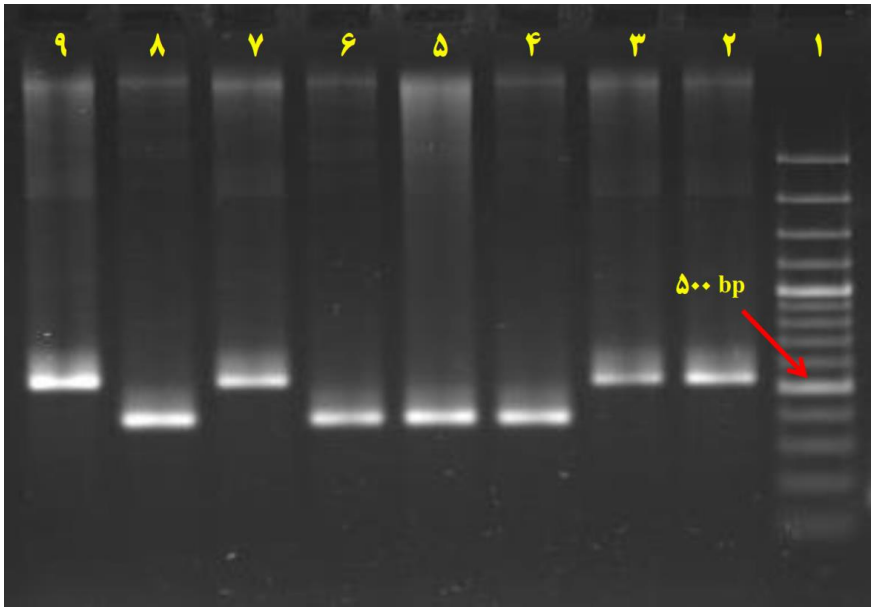
الگوی پروفاژی	پروفاژ تایپ							تعداد (درصد)
	SGA	SGB	SGF	SGFa	SGFb	SGD	SGL	
۱	–	–	+	+	+	–	–	۱۳ (۲۶)
۲	+	+	+	+	+	–	–	۳ (۶)
۳	–	+	+	+	+	–	–	۲۹ (۵۸)
۴	+	–	+	+	+	–	–	۵ (۱۰)



شکل۳- آزمون Multiplex-PCR جهت شناسایی پروفاژ تایپ‌های مختلف در میان سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین . ۱۰: مارکر؛ ۱: سویه مورد بررسی واجد پروفاژ تایپ SGF و SGFa؛ ۲: سویه مورد بررسی واجد پروفاژ تایپ SGF,SGB و SGFa ؛ ۳: سویه مورد بررسی واجد پروفاژ تایپ SGF,SGB و SGA ؛ ۴: سویه مورد بررسی واجد پروفاژ تایپ SGF,SGFa و SGA ؛ ۹-۵ : سویه‌های مورد بررسی واجد پروفاژ تایپ SGF.

شناسایی ژنهای *sak* و *hlb*

بر اساس نتایج حاصل از آزمونهای PCR جداگانه (شکل ۴) جهت شناسایی ژنهای *sak* و *hlb* در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین، ژن *hlb* در ۱۰۰ درصد سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین شناسایی شد و فراوانی ژن *sak* نیز محدود به ۴۱ سویه (۸۲ درصد) بود.



شکل ۴- آزمونهای PCR جهت شناسایی ژنهای *sak* و *hlb* در میان سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*. ۱: مارکر؛ ۲ و ۳ و ۷: سویه های واجد ژن *hlb*؛ ۶-۴: سویه های واجد ژن *sak*؛ ۸ و ۹: کنترل مثبت.

بحث

استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین به عنوان یک باکتری بیماریزای فرصت طلب نقش بسیار مهمی در ایجاد عفونتهای بیمارستانی در سراسر جهان ایفا می نماید. این باکتری که از قدرت بالایی جهت کسب مقاومت نسبت به عوامل ضدمیکروبی مختلف برخوردار است و قادر به تولید طیف وسیعی از عوامل حدت می باشد، به یکی از معضلات بزرگ بهداشتی و درمانی در بیمارستانها و جوامع در سراسر جهان مبدل گشته است. شناسایی صحیح این باکتری و عوامل حدت مختلف آن و همچنین ارائه راهکار درمانی مناسب می تواند در جلوگیری از توسعه و گسترش عفونتهای ناشی از این باکتری بسیار حائز اهمیت باشد.

در این مطالعه تمامی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد بررسی نسبت به دیسک سفوکسی تین مقاومت نشان دادند و همچنین واجد ژن *mecA* نیز بودند. این یافته در سایر گزارشات نیز ارائه شده است (۱, ۳, ۶, ۷). از آنجا که در مطالعه حاضر تمامی سویه های جمع آوری شده از نمونه های مختلف بیماران در هر دو بیمارستان مورد مطالعه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین بودند بنابراین نمی توان آمار صحیحی در ارتباط با فراوانی مقاومت به متی سیلین در این بیمارستانها ارائه کرد. اما تا کنون گزارشات مختلفی از شیوع سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در کشور (۲-۱۹/۵۲ درصد) ارائه شده است که نشان دهنده فراوانی بالای این سویه ها در بیمارستانهای کشور است (۱, ۳, ۶, ۷, ۱۱-۹). علاوه بر این، فراوانی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در مطالعات مختلف در جهان نیز ۱۰۰-۴۳ درصد گزارش شده است (۱۲-۱۶) تفاوت در فراوانی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در نقاط مختلف جهان می تواند ناشی از اختلاف کشورها از نظر موقعیتهای جغرافیایی، تفاوت در تعداد

سویه های مورد مطالعه، تراکم جمعیت و روشهای مربوط به تشخیص و بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی این سویه ها باشد. از طرفی، اختلاف در سیاستهای درمانی و یا کنترل بهداشت به همراه تجویز نادرست و فراوان آنتی بیوتیکها در عفونتهای غیر باکتریایی، به ظهور و گسترش سویه های مقاوم به چند دارو کمک می کند.

میزان مراجعه به بیمارستانها، تفاوت در تمهیدات و سیاستهای کنترل عفونت در بیمارستانهای مختلف، همچنین میزان رعایت شرایط بهداشتی و وضعیت جغرافیایی و آب و هوایی مختلف در شهرها و استانهای کشور باشد.

در این مطالعه تمامی پروفاژ تایپها به استثناء پروفاژ تایپهای SGD و SGL در میان سویه ها شناسایی شدند که در این میان پروفاژ تایپ SGF و ساب تایپهای SGFa و SGFb از بیشترین فراوانی برخوردار بودند و در تمامی سویه های مورد مطالعه شناسایی شدند. این یافته ها منطبق بر سایر مطالعات انجام گرفته در سالهای اخیر در کشور است (۱, ۳, ۵, ۶, ۷, ۱۷-۱۹). همچنین، در این مطالعه در مجموع ۴ الگوی پروفاژی نیز میان سویه ها شناسایی گردید که در این میان الگوی پروفاژی شماره ۳ به عنوان غالب‌ترین الگو معرفی شد. با توجه به شیوع بالای جدایه های واجد الگوی پروفاژی ۳ در میان سویه های جداسازی شده از هر دو بیمارستان، به نظر می رسد که این جدایه ها دارای منشاء مشترک هستند و به احتمال بسیار زیاد متعلق به یک کلون تایپ یا تعدادی کلون تایپ مشخص و مشابه هستند که در بیمارستانها و جامعه شهری تهران پراکنده شده اند. در مطالعات مختلف در ایران و سایر کشورها تا کنون الگوهای پروفاژی مختلفی گزارش شده اند (۱, ۳, ۵, ۶, ۷, ۱۷-۲۱) که این تفاوت در الگوهایی پروفاژی در مطالعات مختلف را می توان مرتبط با تفاوتهای جغرافیایی در محلهای انجام آزمایش و تفاوت در کلون تایپهای مختلف منتشر شده در کشورها و شهرها دانست. علاوه بر این، حضور ۴ الگوی پروفاژی متفاوت در میان سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین نشان دهنده توانایی بالقوه این سویه ها جهت تولید طیف وسیعی از عوامل حدت مرتبط با پروفاژها مانند استافیلوکیناز، بتا-لایزین، انتروتوکسینهای مختلف، توکسین اکسفولیاتیو A، پنتون ولنتاین لوکوسیدین، TSST-1 و ... می باشد.

تمامی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در دو بیمارستان مورد بررسی واجد ژن *hlb* بودند که این نتایج با یافته های رحیمی و کریمی در سال ۱۳۹۴ مطابقت داشت (۳). اما در دو مطالعه دیگر، تقی زاده و همکاران در سال ۱۳۹۶ و پورتقی در سال ۱۳۹۳ به ترتیب در تهران و کرج فراوانی ژن *hlb* را ۱۱/۹ درصد و ۱۷/۷ درصد گزارش کردند که بسیار کمتر از فراوانی این ژن در مطالعه حاضر است. دلیل این تفاوت را می توان ناشی از تفاوت در بیمارستانهای مورد مطالعه و همچنین تفاوت در سویه های مورد بررسی دانست چرا که در مطالعه حاضر تنها سویه های مقاوم به متی سیلین مورد بررسی قرار گرفته اند (۲۲, ۲۳). همچنین، ۸۲ درصد از سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در مطالعه حاضر واجد ژن *sak* بودند. رحیمی و کریمی در سال ۱۳۹۴ و رحیمی و شکوهی زاده در سال ۱۳۹۷ فراوانی ژن *sak* را به ترتیب ۸۵ و ۹۳ درصد گزارش نمودند که تا حدود زیادی با نتایج بدست آمده از این مطالعه مطابقت داشت (۱, ۳). با توجه به حضور پروفاژ تایپهای SGF، SGFa و SGFb در میان سویه های مورد مطالعه، فراوانی ژنهای رمزکننده استافیلوکیناز و بتا-لایزین در میان سویه ها کاملا قابل پیش بینی و مورد انتظار بود و تصور می شود که این سویه ها قادر به تولین انتروتوکسین A نیز باشند. بنابراین به نظر می رسد که روش پروفاژ تایپینگ یک روش بسیار مؤثر، کارآمد و سریع جهت دسته بندی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین است که می تواند اطلاعات کاملی از قابلیت سویه ها جهت تولید عوامل حدت ناشی از حضور پروفاژها در اختیار سیستم بهداشتی قرار دهد و راهکارهای درمانی و بهداشتی مناسبی جهت حذف و ریشه کنی این سویه ها ارائه نماید. بنابراین توصیه می شود که در کنار استفاده از سایر روشهای تایپینگ از روش پروفاژ تایپینگ نیز جهت دستیابی به اطلاعات اولیه از پروفایل بالقوه بیماریزایی باکتریها استفاده شود.

به‌طور کلی نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تمامی این جدایه ها به طور بالقوه قادر به تولید طیف وسیعی از عوامل حدت وابسته به باکتریوفاژها می باشند که انتشار بیشتر این جدایه ها در بیمارستانها و جامعه می تواند یک هشدار برای سلامت و بهداشت عمومی باشد که نیازمند تدوین برنامه های کنترلی منسجم و کارآمد جهت جلوگیری از انتشار این جدایه ها می باشد. با توجه به اینکه این مطالعه بر روی تعداد بسیار محدودی نمونه از دو بیمارستان در شهر تهران صورت گرفته است، بنابراین انجام چنین مطالعاتی در سطح گسترده تر در شهرهای مختلف کشور کاملا ضروری به نظر می رسد.

تقدیر و تشکر

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

REFERENCE

1. 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.
2. Kadkhoda H, Ghalavand Z, Nikmanesh B, Houri H, Taghizadehmaleki D, Eslami G. Virulence factors in methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from children referred to Tehran children's medical center hospital, Research in Medicine. 2018;42(1):59-64.
3. Rahimi F, Karimi S. Characteristics of virulence factors in methicillin-resistant *staphylococcus aureus* strains isolated from a referral hospital in Tehran, Iran. Archives of Clinical Infectious Diseases. 2016;11(1):e33220.
4. Clinical and Laboratory Standard Institute C. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 29th informational supplement. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa. 2019.
5. Rahimi F, Mohaghegh F, Mostafavi NS. Clonal dissemination of biofilm producing methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients with urinary tract infection in Tehran, Karaj and Isfahan during 2018. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2020;25(89):16-25.
6. 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.
7. Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie MR. Prophage typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a tertiary care hospital in Tehran, Iran. Jundishapur Journal of Microbiology. 2013;6(1):80-85.
8. Goerke C, Wirtz C, Flückiger U, Wolz C. Extensive phage dynamics in *Staphylococcus aureus* contributes to adaptation to the human host during infection. Molecular Microbiology. 2006;61(6):1673-85.
9. Askari P, Namaei MH, Aryan E, Safdari H, Yousefi M. Prevalence of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and their antibiotic resistance patterns in patients hospitalized in Birjand-based Imam Reza Hospital. Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2017;24(3):218-226.
10. Nourbakhsh F, Namvar AE. Detection of genes involved in biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolates. GMS Hygiene and Infection Control. 2016;11:1-5.
11. Shafi Ghorbani T, Dr Abbas Ali Imani F, Dr Mohammad Reza N. Prevalence of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* by disk diffusion and molecular methods in ICU and emergency sections in one of educational hospital, Tehran. Journal of Medical Science Studies. 2013;24(2):110-120.
12. Tychala A, Protonotariou E, Meletis G, Tsoha A, Mantzana P, Vasilaki O, et al. In vitro activity of ceftaroline against methicillin-resistant and methicillin-susceptible

Staphylococcus aureus clinical isolates from a tertiary hospital in Greece. New Microbiologica. 2021;44(2):125-128.

13. Zhen X, Lundborg CS, Zhang M, Sun X, Li Y, Hu X, et al. Clinical and economic impact of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a multicentre study in China. Scientific Reports. 2020;10(1):1-8.
14. Chongtrakool P, Ito T, Ma XX, Kondo Y, Trakulsomboon S, Tiensasitorn C, et al. Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in 11 Asian countries: a proposal for a new nomenclature for SCC*mec* elements. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2006;50(3):1001-1012.
15. Yoon EJ, Lee H, Kim D, Shin JH, Shin JH, Jeong SH. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* blood isolates harboring a novel pseudo-staphylococcal cassette chromosome *mec* element. Frontiers in Microbiology. 2019;10, 540.
16. Tavares A, Nielsen JB, Boye K, Rohde S, Paulo AC, Westh H. et al. Insights into alpha-hemolysin (Hla) evolution and expression among *Staphylococcus aureus* clones with hospital and community origin. PLoS One. 2014;9(7):e98634.
17. 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):216-228.
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):389-398.
19. Torabi M, Rahimi F. Characteristics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from hospital wastewater in Tehran, Iran. Infection, Epidemiology and Microbiology. 2021;7(3):215-227.
20. Pantůček R, Doškař J, Růžičková V, Kašpárek P, Oráčová E, Kvardová V, et al. Identification of bacteriophage types and their carriage in *Staphylococcus aureus*. Archives of Virology. 2004;149(9):1689-703.
21. Workman M, Nigro OD, Steward GF. Identification of prophagein Hawaiian coastal water isolate of *Staphylococcus aureus*. Journal of Young Investigators. 2006;15(5):1-8.
22. Pourtaghi H. Association of virulence genes of *Staphylococcus aureus* and somatic cell count in clinical and subclinical mastitis cases in Alborz province during April to September 2014. Veterinary Researches & Biological Products. 2017;30(4):29-39.
23. Maleki DT, Ghalavand Z, Nikmanesh B, Hashemi A, Kadkhoda H, Eslam G. Identification of virulence genes in *Staphylococcus aureus* isolates segregated from children's wounds. Research in Medicine. 2019;43(1):52-57.