مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
سال ۶۶، شماره۴
مهر-آبان۱۴۰۲، صفحه ۸۰۵-۷۹۶

www.mums.ac.ir
Medical Journal of Mashhad
University of Medical Sciences
Vol. 66, No.4, P: 796-805
Sep-Nov 2023

مقاله اصلی

تعیین تیپ‌های کاست کروموزومی‌ژن *mecA* در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس ارئوس* جداشده از ادرار سگ‌های به ظاهر سالم در شهر اصفهان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۲۴- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۲۷

سام ترکان[1*]
سید شهاب حسینی[2]

[1] *دانشیار بیماری‌های داخلی دام‌های کوچک، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران*

[2] *دانش آموخته دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران*

Email: saamtorkan@yahoo.com

خلاصه

مقدمه: *استافیلوکوکوس ارئوس* عفونت‌های مختلف بیمارستانی از جمله عفونت‌های دستگاه ادراری را ایجاد می‌کند. این مطالعه با هدف تعیین الگوی مقاوت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *استافیلوکوکوس ارئوس* جداسازی شده از نمونه‌های ادراری سگ‌های به ظاهر سالم در سطح شهر اصفهان انجام گرفت.

روش‌کار: تعداد ۲۰۰ نمونه ادرار از سگ‌های به ظاهر سالم (در حجم۲۰میلی لیتر) از مراکز درمانی و نگهداری حیوانات خانگی در سطح شهر اصفهان در ظرف استریل نمونه‌گیری ادرار اخذ شد و به روش کشت میکروبی و مولکولی آزمایش شد. از آزمایش انتشار دیسکی ساده جهت تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و از روش PCR جهت تعیین تیپ‌های کاست کروموزومی‌ژن *mecA* استفاده شد.

نتایج: از این تعداد نمونه، ۲۳ نمونه (۱۱/۵ درصد) آلوده به *استافیلوکوکوس ارئوس* بوده که در آزمایش PCR واجد ژن *16srRNA* بودند. تمام ایزوله‌های مورد مطالعه دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه بودند و در این میان بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها به دو آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین (۹۵/۶۵ درصد) و تتراسایکلین (۹۱/۳۰درصد) و کمترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک نیتروفورانتوئین (۳۴/۷۸ درصد) مشاهده شد. ۷۳/۹۱ درصد از ایزوله‌ها حامل ژن *mecA* بودند که تیپ *SCCmec*III با فراوانی ۴۷/۰۵ درصد شایع‌ترین تیپ کاست کروموزومی‌ژن *mecA* درایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین بود.

نتیجه‌گیری: شیوع مقاومت به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های خطوط اول و دوم درمانی در میان سویه‌های *استافیلوکوکوس ارئوس*، نشان دهنده پراکندگی و انتشار این سویه‌ها در بین جمعیت سگ‌ها است و لازم است که داروی درمانی بر اساس نتیجه آنتی بیوگرام انتخاب گردد.

کلمات کلیدی: *استافیلوکوکوس ارئوس*، تیپ‌های *SCCmec*، ادرار، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، سگ، اصفهان

پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

مقدمه

استافیلوکوک‌ها گروهی از باکتری‌ها بوده که به لحاظ کلینیکی در دامپزشکی حائز اهمیت می‌باشند. جنس استافیلوکوکوس طیف وسیعی از بیماری‌ها را ایجاد می‌نمایند و متداول‌ترین گونه‌هایی که در دام‌های کوچک بیماری‌زا هستند. استافیلوکوکوس کوآگولاز مثبت که به خصوص باکتری‌هایی نظیر S.aureus، S. schleiferi subsp. Coagulans، S. pseudintermedius را شامل می‌شوند. باکتری‌های همزیست مشترک و پاتوژن‌های فرصت‌طلب در انسان و حیوانات هستند که عفونت‌های مهمی را در انسان و حیوانات به وجود می‌آورند. از طرفی، عفونت با استافیلوکوک‌های کوآگولاز مثبت به ویژه استافیلوکوکوس سوداینترمدیوس در سگ‌ها گزارش شده است. این باکتری‌ها ممکن است با بیماری‌هایی نظیر التهاب گوش خارجی، پیودرم، عفونت‌های دستگاه اداری و موارد دیگر بیماری در سگ‌ها و گربه‌ها همراه باشند(۱،۲). از طرف دیگر، سویه‌های مقاوم به متی سیلین این باکتری‌ها در حال افزایش هستند و باعث نگرانی‌های بیشتری در مورد درمان بیماری‌های ناشی از این باکتری‌ها و هم درباره‌ی عواقبی که برای بهداشت عمومی جامعه دارند، شده است و ارائه‌ی گزارش‌هایی در مورد انتقال بین گونه‌ای این باکتری و برخی از گونه‌های دیگر به ویژه انتقال زئونونیک به انسان‌های مرتبط با حیوانات کوچک، این نگرانی‌ها را بیشتر کرده است(۳-۶). مقاومت به متی سیلین در این باکتری‌ها به واسطه حضور ژن mecA می‌باشد. این ژن، پروتیئنی به نام پروتئین متصل شونده به پنی سیلین (PBP2α) را کد می‌کند که میل ترکیبی آن در اتصال به متی سیلین، کم‌تر از سایرپروتیئن‌های متصل شونده به پنی سیلین در دیواره باکتری است. سویه‌هایی که دارای این ژن هستند، به بسیاری ازآنتی بیوتیک‌ها از جمله داروهای بتالاکتام نیز مقاومت نشان می‌دهند(۷).

مقاومت به آنتی بیوتیک‌های معمول مورد استفاده در درمان عفونت‌های باکتریایی هم در مورد استافیلوکوکوس آرئوس و استافیلوکوکوس سوداینترمدیوس مشاهده شده است. در حال حاضر، بتالاکتاماز (پنی سیلیناز) به طور وسیعی در میان استافیلوکوکوس آرئوس و استافیلوکوکوس سوداینترمدیوس منتشر شده است. پس از این، سفالوسپورین‌های نسل اول، آموکسیسیلین کلاوولانات، کلینداماسین، تری‌متوپریم‌سولفامتوکسازول و انروفلوکساسین به طور معمول برای درمان عفونت‌های استافیلوکوکی در حیوانات کوچک استفاده شده است.

ظهور مقاومت به این داروها، به خصوص در میان استافیلوکوکوس‌های مقاوم به متی سیلین، احتمال شکست درمان را افزایش داده و به عنوان خطری برای بهداشت عمومی‌معرفی شده است(۸).

شایع‌ترین علت تکرر ادرار در سگ‌ها عفونت دستگاه ادراری می‌باشد. عفونت ادراری که بیشتر به عنوان التهاب مثانه شناخته شده است می‌تواند در اثر تجمع باکتری‌ها ایجاد شود. این شرایط بیشتر بر روی سگ‌های ماده که مجرای خروجی مثانه آن‌ها کوتاه تر و پهن تر می‌باشد و به باکتری‌ها اجازه می‌دهد که به سادگی وارد مثانه شوند به وجود می‌آید. بررسی اپیدمیولوژی و کلونیزاسیون استافیلوکوک‌های مقاوم به متی سیلین به منظور درک ظهور آشکار این سویه‌ها و توسعه‌ی استراتژی‌های کنترل مناسب این باکتری‌ها و تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی آن‌ها برای درمان موفقیت آمیز و جلوگیری از گسترش سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک، ضروری می‌باشد؛ لذا مطالعه‌ی حاضر، به منظور ارزیابی میزان شیوع، خصوصیات مقاومت آنتی بیوتیکی و تعیین کاست‌های کروموزومی‌ژن مقاومت به متی سیلین در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس نمونه‌های ادرار سگ‌های به ظاهر سالم در شهر اصفهان انجام شد.

روش کار

در یک مطالعه مقطعی -توصیفی که در فاصله زمانی فروردین۱۴۰۰ تا فروردین ۱۴۰۱ درمراکز پرورش و نگهداری سگ و درمانگاه‌های دامپزشکی سطح شهر اصفهان انجام شد، ۲۰۰ نمونه ادرار از سگ‌های به ظاهر سالم

(در حجم ۲۰ میلی لیتر) در ظرف استریل نمونه‌گیری ادرار اخذ گردید و جهت جداسازی استافیلوکوکوس ارئوس به مرکز تحقیقات میکروبیولوژی دانشگاه آزاد واحد شهرکرد انتقال داده شد.

جهت اخذ نمونه ادرار، در سگ‌های نر از کاتترهای پلاستیکی نرم و در سگ‌های ماده از کاتترهای خشک استفاده شد. نمونه ادرار به دست آمده از طریق سوند (کاتتر) زدن، در ظروف استریل جمع آوری گردید. بلافاصله پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، هر نمونه به دو قسمت جداگانه تقسیم شد، که یک قسمت جهت آنالیز کامل ادرار و بخش دیگر، برای ارزیابی باکتریایی و کشت ادرار مورد استفاده قرار گرفت.

جهت آنالیز ادرار، قسمت اول نمونه‌های ادرار، به آزمایشگاه کلینیکال پاتولوژی واقع در بیمارستان دامپزشکی دانشگاه آزاد واحد شهرکرد منتقل شد. در ادامه، وضعیت ظاهری و خصو صیات فیزیکی هر نمونه، از نظر رنگ و کدورت بررسی شده و همچنین وزن مخصوص ادرار به روش رفراکتکومتری با استفاده از دستگاه رفراکتومتر (Erma, Japan) ثبت گردید. در مرحله بعد، ارزیابی بیوشیمیایی کامل نمونه ادرار، به صورت کیفی یا نیمه کمی و به کمک نوارهای معرف ادرار (Acon Laboratories, USA) از نظر وجود خون، نیتریت، پروتئین ، اجسام کتونی، گلوکز، بیلی روبین و اسید آسکوربیک در ادرار و نیز تعیین pH ادرار بررسی شد.

از رسوب حاصل از سانتریفیوژ ۲۰ میلی لیتر نمونه ادرار در دور ۱۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه جهت کشت میکروبی استفاده گردید.

نمونه‌ها به صورت خطی در محیط بلاد آگار(مرک، آلمان) کشت داده شدند. پس از رشد باکتری‌ها در محیط بلاد آگار از کلنی‌های مشکوک به استافیلوکوکوس ارئوس، اسمیر تهیه و تحت رنگ آمیزی گرم قرار گرفت. شایان ذکر است که در صورت مشاهده کوکسی‌های خوشه‌ای گرم مثبت، این کلنی‌ها برای آزمایشات بیوشیمیایی تأیید گونه استافیلوکوکوس شامل: تست کواگولاز لوله‌ای، کشت در محیط برد پارکر آگار (مرک، آلمان)، کشت در محیط مانیتول سالت آگار (مرک، آلمان) کشت و در نهایت به صورت خطی در محیط بلاد آگار تجدید کشت شدند(۹،۱۰).

کلنی‌های کواگولاز مثبت، مانیتول مثبت واجد همولیز که کلنی سیاه در محیط بردپارکر ایجاد کرده بودند به عنوان کلنی *استافیلوکوکوس ارئوس* انتخاب و جهت مطالعات بعدی در محیط BHI مایع (مرک، آلمان) کشت داده شدند. از باکتری‌های رشد یافته در محیط BHI در یک میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری در دور ۳۰۰۰ دور به مدت ۳ دقیقه رسوب‌گیری شد و طبق دستورالعمل کیت Genomic DNA Purification (Fermentas, Lithuani) ، DNA ژنومی از باکتری استخراج گردید.

بعد از استخراج DNA با استفاده از زوج پرایمرهای مربوط به ردیابی ژن *16srRNA* (ساخت شرکت سیناژن) ایزوله‌های جدا شده *استافیلوکوکوس ارئوس* با روش PCR تأیید شدند (جدول ۱) (۱۱) .

تمام ایزوله‌های جدا شده برای ردیابی ژن کد کننده مقاومت به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین (*mecA*) مورد بررسی قرار گرفتند. تکثیر این قطعه ژنی توسط زوج پرایمرهایی که در جدول ۱ نشان داده شده انجام شد(۱۲).

Target gene	Primer Sequence (5'-3')	Size of product (bp)	PCR conditions	Volume (25 µl)
mecA	GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA CCAATTCCACATTGTTTCGGTCTAA	750	1 cycle: 94 0C ---------- 5 min. 30 cycle: 95 0C ---------- 60 s 55 0C ---------- 60 s 72 0C ---------- 90 s 1 cycle: 72 0C ---------- 7 min	2.5 µL PCR buffer 10X 2.5 mM Mgcl2 150 µM dNTP (Fermentas) 0.5 µM of each primers F & R 1 U Taq DNA polymerase (Fermentas) 2 µL DNA template
SCCmecI	F:GCTTTAAAGAGTGTCGTTACAGG R:GTTCTCTCATAGTATGACGTCC	613	1 cycle: 94 0C ---------- 5 min 10 cycle: 64 0C ---------- 45 s 65 0C ---------- 45 s 72 0C ---------- 90 s 25 cycle: 94 0C ---------- 45 s 55 0C ---------- 45 s 72 0C ---------- 90 s 1 cycle: 72 0C ---------- 10 min	2.5 µL PCR buffer 10X 2.5 mM Mgcl2 200 µM dNTP (Fermentas) 0.5 µM of each primers F & R 2 U Taq DNA polymerase (Fermentas) 3 µL DNA template
SCCmecII	F:CGTTGAAGATGATGAAGCG R:CGAAATCAATGGTTAATGGACC	398		
SCCmecIII	F:CCATATTGTGTACGATGCG R:CCTTAGTTGTCGTAACAGATCG	280		
SCCmecIVa	F:GCCTTATTCGAAGAAACCG R:CTACTCTTCTGAAAAGCGTCG	*776*		
SCCmecIVb	F:TCTGAATTACTTCAGCTGC R:AAACAATATTGCTCTCCCTC	*493*		
SCCmecIVc	F:ACAATATTTGTATTATCGGAGAGC R:TTGGTATGAGGTATTGCTGG	*200*	1 cycle: 94 0C ---------- 5 min 10 cycle: 64 0C ---------- 45 s 65 0C ---------- 45 s 72 0C ---------- 90 s 25 cycle: 94 0C ---------- 45 s 55 0C ---------- 45 s 72 0C ---------- 90 s 1 cycle: 72 0C ---------- 10 min	2.5 µL PCR buffer 10X 2.5 mM Mgcl2 200 µM dNTP (Fermentas) 0.5 µM of each primers F & R 2 U Taq DNA polymerase (Fermentas) 3 µL DNA template
SCCmecIVd	F:CTCAAAATACGGACCCCAATACA R:TGCTCCAGTAATTGCTAAAG	*881*		
SCCmecV	F:GAACATTGTTACTTAAATGAGCG R:TGAAAGGTTGTACCCTTGACACC	*325*		
16srDNA	TCGCTTGCTATGATTGTGG TCGCTTGCTATGATTGTGG	410	1 cycle: 94 0C ---------- 6 min. 37 cycle: 94 0C ---------- 40 s 60 0C ---------- 60 s 72 0C ---------- 75 s 1 cycle: 72 0C ---------- 8 min	2.5 µL PCR buffer 10X 2.5 mM Mgcl2 200 µM dNTP (Fermentas) 0.5 µM of each primers F & R 1 U Taq DNA polymerase (Fermentas) 2.5 µL DNA template

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی ژن‌های مورد مطالعه

جهت تعیین تیپ‌های مختلف *SCCmec* در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس ارئوس* مورد مطالعه از زوج پرایمرهای نشان داده شده در جدول ۱ به روش Multiplex PCR استفاده شد(۱۲).

شرایط انجام واکنش PCR در هر کدام از سه مرحله فوق در جدول ۱ آورده شده است:

الکتروفورز محصولات PCR در هر کدام از مراحل فوق روی ژل آگارز ۱/۵ درصد واجد محلول رنگی DNA safe stain (سینا ژن–ایران) در حضور مارکر ۱۰۰ جفت بازی یا ۱ کیلوبازی DNA با ولتاژ ثابت ۹۰ ولت به مدت حدودا ۱ ساعت انجام گرفت. ژل مورد نظر با دستگاه ترانس لومیناتور UV (Uvitec, UK) مورد بررسی قرار گرفت.

به منظور تعیین الگوی آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *استافیلوکوکوس ارئوس* از روش انتشار دیسکی ساده (روش Kirby-bauer) استفاده شد. در این روش ایزوله‌های *استافیلوکوکوس ارئوس* جدا شده به مدت ۲۴ ساعت در محیط مایع BHI در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند سپس طبق دستور CLSI (۲۰۱۷) رقتی معادل ۰/۵مک فارلند از هرایزوله در محیط مایع BHI تهیه شد و به صورت متراکم در حضور دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی شامل پنی‌سیلین (۱۰واحد / دیسک)، سفازولین (۳۰ میکروگرم / دیسک)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم / دیسک)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم / دیسک)، آزیترومایسین (۱۵ میکروگرم/ دیسک)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم / دیسک)، موپیروسین

(۳۰ میکروگرم / دیسک)، ریفامپین (۵ میکروگرم / دیسک)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم / دیسک)، تری‌متوپریم (۵ میکروگرم / دیسک) و نیتروفورانتوئین (۳۰۰ میکروگرم/ دیسک) در محیط جامد مولر هینتون کشت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد در اطراف هر دیسک مقاومت هر باکتری نسبت به هر آنتیبیوتیک تعیین گردید(۱۳). سویه استاندارد *استافیلوکوکوس ارئوس* ATCC 10392 (American Type Culture Collection, ATCC, USA) به عنوان کنترل کیفی انجام آزمایش استفاده شد.

نتایج

در مطالعه حاضر ۲۰۰ نمونه از سگ‌های به ظاهر سالم در سطح استان اصفهان به منظور بررسی ویژگی‌های استافیلوکوکوس ارئوس مورد ارزیابی قرار گرفت که از این تعداد نمونه، ۲۳ نمونه آلوده به استافیلوکوکوس ارئوس بودند. به منظور تأیید مولکولی ایزوله‌های جدا شده در کشت میکروبی از آزمایش PCR جهت ردیابی ژن *16srRNA* استفاده شد که تمام ۲۳ ایزوله واجد این ژن بودند و به عنوان استافیلوکوکوس ارئوس تایید شدند. در ادامه الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ۲۳ ایزوله جدا شده به روش آنتی بیوگرام مطابق با معیار CLSI تعیین گردید. همان گونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، تمام ایزوله‌های مورد مطالعه دارای مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه بودند که در این میان بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌ها نسبت به سه آنتی بیوتیک پنی سیلین (۱۰۰درصد)، آمپی سیلین و تتراسیکلین (۸۵/۷۱ درصد) و کمترین میزان مقاومت به ایمی‌پنم (۱۴/۲۸درصد) بود.

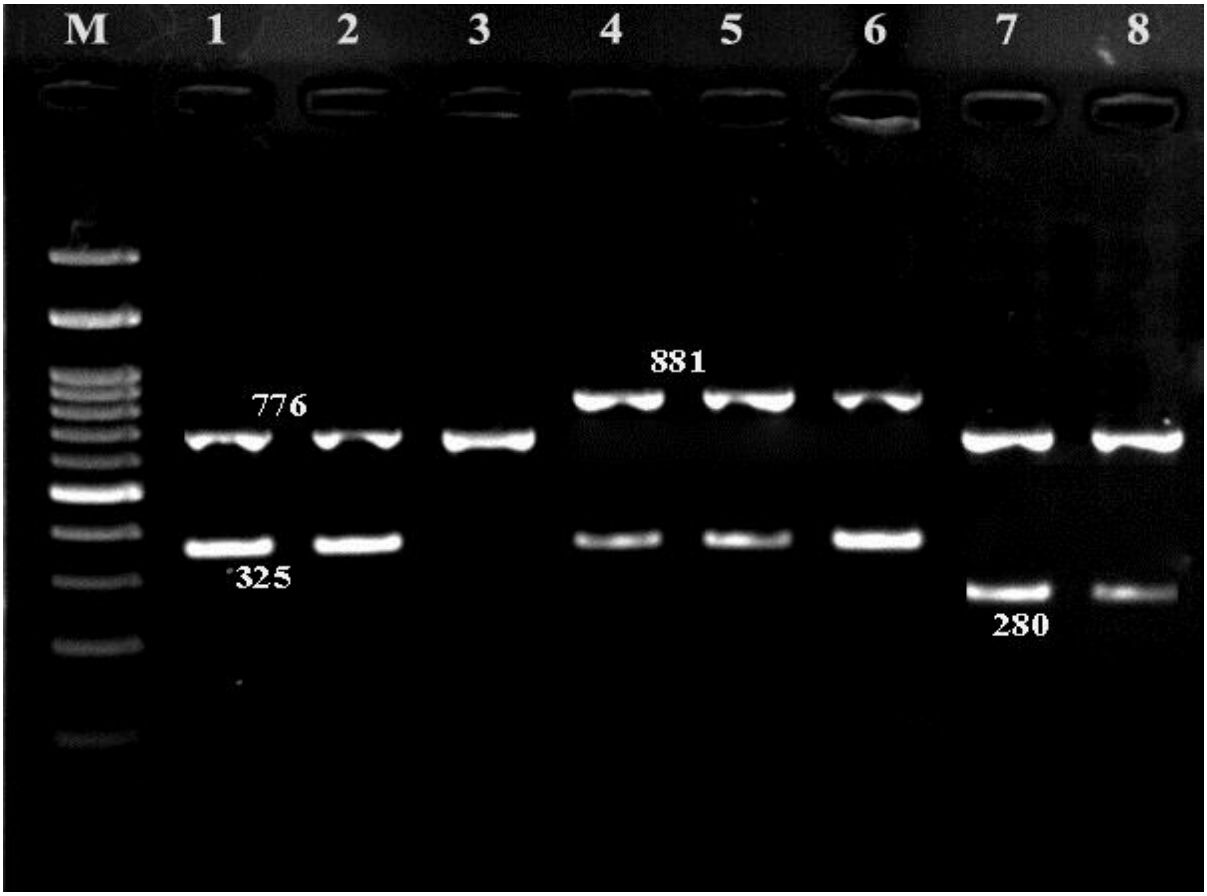
جدول ۲. تعداد ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه ادرار سگ‌های به ظاهر سالم در شهر اصفهان

	آنتی بیوتیک										
تعداد ایزوله	پنی سیلین	آمپی سیلین	متی سیلین	تری متوپریم	تتراسایکلین	ایمی‌پنم	ریفامپین	کوآموکسی کلاو	سفتی راکسون	کوتریموکسازول	اریترومایسین
۲۳	۲۳	۲۰	۱۶	۱۷	۲۰	۳	۱۴	۱۰	۱۳	۱۰	۱۹

به منظور تعیین تیپ‌های مختلف کاست کروموزومی‌ژن *mecA* ابتدا حضور ژن کد کننده مقاومت به متی سیلین (ژن *mecA*) در ۲۳ ایزوله مورد مطالعه به روش PCR ارزیابی شد. که ازجمع ۱۷ایزوله موردبررسی،۱۷ایزوله (۱۰/ ۷۳ درصد) واجد ژن مقاومت به متی سیلین (ژن *mecA*) بودند. در ادامه تیپ‌های هشت گانه *SCCmec در ۱۷ ایزوله mecA*به روش PCR چندگانه بررسی گردید. همان گونه که در جدول ۳ نشان داده شده است. تنها چهار تیپ در *mec* V و*mec* IVb ، *mec* IVa ،*mec* III در ایزوله‌های *mecA* ردیابی شدند(شکل ۱) که به ترتیب فراوانی هر کدام از تیپ‌های فوق معادل ۴۷/۰۵ ،۱۷/۶۴، ۱۱/۷۶و۲۳/۵۲ درصد برآوردگردید.

جدول ۳. فراوانی تیپ‌های مختلف کاست کروموزومی‌ژن mec در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه ادرار سگ‌های به ظاهر سالم در شهر اصفهان

نام ایزوله	$mecA^+$	mec III	mec IVa	mec IVb	mec V
تعداد ایزوله	۱۷	۸	۳	۲	۴



تصویر ۱. نتایج حاصل از الکتروفورز تیپ‌های مختلف

کاست کروموزومی‌ژن *mec* در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه ادرار سگ‌های به ظاهر سالم در شهر اصفهان (ستون M= مارکر ۱۰۰جفت بازیDNA، ستون NC= نمونه کنترل منفی، ستون‌های ۱-۸ = ایزوله‌های $mecA^+$ واجد قطعه ۲۸۰ جفت بازی مربوط به تیپ III، قطعه ۳۲۵مربوط به تیپ V، قطعه ۷۷۶ جفت بازی مربوط به تیپ VIa و قطعه ۸۸۱ جفت بازی مربوط به تیپ VIb).

بحث

مطالعه‌ی حاضر به بررسی حضور ژن مقاومت به متی سیلین(mecA) در استافیلوکوکوس کوآگولازهای مثبت(استافیلوکوکوس ارئوس) جدا شده ازادرارسگ‌های به ظاهر سالم ارجاعی‌های بیمارستان دامپزشکی اصفهان و تعیین الگوی حساسیت یامقاومت آنتی بیوتیکی این جدایه‌ها پرداخته است؛ چرا که ظهور مقاومت‌های آنتی بیوتیکی و به ویژه، مقاومت به متی سیلین دراستافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت باعث افزایش نگرانی‌ها در مورد سلامت بهداشت عمومی‌و همچنین حیوانات شده است.

در مطالعه حاضر از روش انتشار از دیسک جهت بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی استفاده شد که بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به پنی سیلین ۱۰۰درصد، آمپی سیلین و تتراسیکلین (۸۵/۷۱ درصد) و کمترین میزان مقاومت به ایمی‌پنم (۱۴/۲۸درصد) بدست آمد بررسی‌های مولکولی نیز نشان دهنده حضور (۷۳/۱۰ درصد) ژن mecA در

ایزوله‌های مورد بررسی بود. براساس مطالعات انجام شده میزان مقاومت به متی سیلین در مناطق مختلف دنیا متفاوت است(۱۴).

در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۹۳در ایران روی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های کلینیکی توسط هوایی و همکاران انجام شد،۹/۴۶درصد از ایزوله‌ها استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین بودند(۱۵).

حسن زاده و همکاران با استفاده از روش دیسک دیفیوژن از بین۱۲۷ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس ایزوله شده در تهران، ۴۷ مورد MRSA جداسازی کردند. در این مطالعه بیشترین مقاومت به آنتی بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، کلیندامایسین و اریترومایسین گزارش شد(۱۶).

استافیلوکوکوس اورئوس در این مطالعه بیشترین مقاومت را نسبت به پنی سیلین داشت. مقاومت استافیلوکوک‌ها نسبت به پنی سیلین نیز به علت تولید آنزیم بتالاکتاماز در حال افزایش است و نشان می‌دهد پنی سیلین تاثیری در کنترل عفونت‌های ناشی از این ایزوله‌ها ندارد همچنین، میزان بالایی از این مقاومت در مطالعات قبلی گزارش شده است(۱۷،۱۸). این آنتی بیوتیک یکی از اولین آنتی بیوتیک‌های معرفی شده می‌باشد که تاثیری براستافیلوکوکوس اورئوس ندارد (۱۹). پنی سیلین در کشورهای در حال توسعه دارای مصرف بالایی می باشد

طی مطالعه ای که در سال ۲۰۱۲ توسط Duran و همکاران در ترکیه انجام شد از میان ۱۳۹ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس، ۱۶/۵ درصد مقاوم به متی سیلین بودند و ۲۵/۹ درصد از این ایزوله‌های مقاوم به متی سیلین واجد ژن mecA بودند. در مطالعه ای مشابه که توسط Cons و همکاران صورت گرفت،۱۸/۹ درصد از ایزوله‌ها مقاوم به متی سیلین بودند و ۶۱/۵ درصد از این ایزوله‌های مقاوم به متی سیلین واجد ژن mecA بودند که این یافته مشابه بامطالعه حاضر به دقت بالای روش مولکولی جهت تشخیص اشاره دارد(۲۰).

Gharibi و همکاران در سال ۲۰۱۶ به بررسی مولکولی و کلونیزاسیون برخی سوش‌های استافیلوکوکوس ارئوس در سگ‌های به ظاهر سالم ارجاعی به بیمارستان دامپزشکی اهواز نمودند. نتایج این مطالعه نشان داد که ۸۵/۳۱ درصد از سگ‌های ارزیابی شده، حامل سوش‌های استافیلوکوکوس ارئوس بودند. در این مطالعه ۵۵ درصد از سوش‌های استافیلوکوکوس ارئوس کواگولاز مثبت بودند(۲۱).

در مطالعه یوسفی و همکاران در سال ۲۰۱۶، از ۳۹ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از عفونت ادراری در تهران، ۱۰۰ درصد به لینزولید حساس بودند که به دنبال آن تری متوپریم- سولفامتوکسازول با حساسیت ۷۶/۹ درصد، کلیندامایسین ۶/۴۳ درصد، جنتامیسین ۴۱ درصد، اریترومایسین و سیپروفلوکساسین ۳۵/۹ درصد و تتراسایکلین ۳/۳۳ درصد قرارگرفتند(۲۲).

همچنین در مطالعه گودرزی و همکاران در تهران در سال ۲۰۱۸، از ۹۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از عفونت ادراری، حساسیت ۲۴/۴ درصد به سیپروفلوکساسین، ۲۶/۷ درصد به جنتامیسین، ۲۷/۸ درصد به اریترومایسین، ۳۱/۱ درصد به تتراسایکلین، ۴۰ درصد به کلیندامایسین، ۴۲/۲ درصد به آمیکاسین و ۹/۶۸ درصد به تری متوپریم- سولفامتوکسازول دیده شد(۲۳).

پزشکی نجف آبادی و همکاران در سال ۲۰۱۸ در اصفهان، تعداد ۵۴ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس را از عفونت ادراری جمع آوری کرده و حساسیت ۷۷/۸ درصد به جنتامیسین، ۴/۱ درصد به سیپروفلوکساسین، ۶۶/۷ درصد به تری متوپریم- سولفامتوکسازول، ۴۸/۱ درصد به تتراسایکلین و ۸/ ۱۴درصد به پنی سیلین را در سویه‌های خود گزارش کردند(۲۴).

در مقایسه با نتایج بالا، سویه‌های ما به طور کلی حساسیت بالاتری را به آنتی بیوتیک‌های مورد بررسی از خود نشان دادند که این تفاوت‌ها می‌تواند به دلیل سیاست‌های کنترل عفونت و یا تجویزی مناسب در منطقه و همچنین

تفاوت در منطقه جغرافیایی و مجموعه ایزوله‌های به دست آمـده باشد.

در ایران از آنتی بیوتیک‌های اریترومایسین، سیپروفلوکسایسن، کلیندامایسین و تتراسایکلین به طور وسیع جهت درمان استفاده می‌شود و همین امر می‌تواند دلیلی جهت افزایش مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک‌ها باشد. علاوه براین، امکان انتقال پلاسمیدهای مقاوم به تتراسایکلین در میان بسیاری از گونه‌ها و جنس‌های مختلف باکتریایی وجود دارد؛ از این رو بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله‌های استافیلوکوس ارئوس حائز اهمیت است(۲۵). در مطالعات گوناگون اختلاف زیاد میان الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم و حساس به پنی سیلین مشاهده شده است که نشان دهنده عدم کارایی برخی از آنتی بیوتیک‌های رایج برای درمان عفونت‌های ناشی از سویه‌های مقاوم می‌باشد؛ بنابراین، مقاومت بالای این سویه‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌های مختلف و از سوی دیگر بحث مقاومت چند دارویی سویه‌های استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی سیلین باعث کاهش مشخص انتخاب‌های درمانی و افزایش احتمال شکست در روند درمان می‌شود.

نتیجه گیری

حضور مقاومت بالای آنتی‌بیوتیکی به ویژه مقاومت به متی‌سیلین در ایزوله‌های مورد مطالعه در این تحقیق نشانگر گسترش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در *استافیلوکوکوس ارئوس* است که لزوم انجام آنتی‌بیوگرام جهت انتخاب آنتی‌بیوتیک مؤثر در درمان و پرهیز از مصرف خود سرانه آنتی‌بیوتیک در جامعه را بیش از پیش ضروری می‌نماید.

References

1- Bryan, M.; Finola, L.; Marie Ann, C. and Doris, M. (2013). *Clinical veterinary microbiology*. 2nd ed. London, Mosby Elsevier pp: 105-120.

2- Sasaki T, Kikuchi K, Tanaka Y, Takahashi N, Kamata S, Hiramatsu K. Methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius in a veterinary teaching hospital. Journal of clinical microbiology. 2007 Apr;45(4):1118-25.

3- Baptiste KE, Williams K, Willams NJ, Wattret A, Clegg PD, Dawson S, Corkill JE, O'Neill T, Hart CA. Methicillin-resistant staphylococci in companion animals. Emerging infectious diseases. 2005 Dec;11(12):1942.

4- Davis MF, Iverson SA, Baron P, Vasse A, Silbergeld EK, Lautenbach E, Morris DO. Household transmission of meticillin-resistant Staphylococcus aureus and other staphylococci. The Lancet infectious diseases. 2012 Sep 1;12(9):703-16.

5- Frank LA, Kania SA, Kirzeder EM, Eberlein LC, Bemis DA. Risk of colonization or gene transfer to owners of dogs with meticillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius. Veterinary dermatology. 2009 Oct;20(5-6):496-501.

6- Loeffler A, Boag AK, Sung J, Lindsay JA, Guardabassi L, Dalsgaard A, Smith H, Stevens KB, Lloyd DH. Prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2005 Oct 1;56(4):692-7.

7- Moodley A, Stegger M, Zakour NL, Fitzgerald JR, Guardabassi L. Tandem repeat sequence analysis of staphylococcal protein A (spa) gene in methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius. Veterinary microbiology. 2009 Mar 30;135(3-4):320-6.

8-Woodford N. Biological counterstrike: antibiotic resistance mechanisms of Gram-positive cocci. Clinical Microbiology and Infection. 2005 May;11:2-1.

9-Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, Fitzpatrick ES, Fanning S, Hartigan P. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. 2th edition, John Wiley & Sons, 2011. 912 page.

10- Ramazanzadeh R, Moradi G, Zandi S, Mohammadi S, Rouhi S, Pourzare M, Mohammadi B. A survey of contamination rate and antibiotic resistant of Gram-negative bacteria isolated from patients in various wards of Toohid and Besat Hospitals of Sanandaj city during 2013-2014 years. PSJ. 2016;14(3):11-19. [In Persian].

11- Sasaki T, Tsubakishita S, Tanaka Y, Sakusabe A, Ohtsuka M, Hirotaki S, Kawakami T, Fukata T, Hiramatsu K. Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive staphylococci. Journal of clinical microbiology. 2010 Mar;48(3):765-9.

12- Momtaz H, Hafezi L. Meticillin-
resistant Staphylococcus aureus isolated from Iranian hospitals: virulence factors and antibiotic resistance prope rties. Bosn J Basic Med Sci. 2014;14(4):219-26.

13- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2017. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, approved standard — 27th edition (M100-S26). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

14- Reynolds R, Potz N, Colman M, Williams A,Livermore D, MacGowan A. Antimicrobialsusceptibility of the pathogens of bacteraemia in theUK and Ireland 2001-2002: the BSAC BacteraemiaResistance Surveillance Programme. J AntimicrobChemother. 2004; 53(6):1018-32.

15.Havaei, S. A., Nasr Esfahani, B., Hoseini, N., Assadbeigi, B. Investigation of Antibiotic Resistance Pattern and Detection of Methicillin-Resistant Strains (MRSA) in Staphylococcus Aureus Isolates Associated with Bovine Mastitis. *Journal of Isfahan Medical School*, 2014; 32(298): 1319-1329.

16- Hassanzadeh S, Pourmand MR, Hadadi A, Nourijeylani K, Yousefi M, Mashhadi R. Frequency and antimicrobial resistance patterns of methicillin resistant staphylococcus aureus in Tehran. J Med Bacteriol 2013;2:41-46.

17- Elazhari M, Saile R, Dersi N, Timinouni M, Elmalki A, Zriouil SB, et al. Activité de 16 Antibiotiques vis-à-vis des *Staphylococcus aureus* communautaires à Casablanca (Maroc) et Prévalence des Souches Résistantes à la Méthicilline. *Eur J Sci Res* 2009; 30: 128-37.

18- Cohen ML. Epidemiology of drug resistance: implications for a post—*antimicrobial era*. *Science* 1992; 257(5073): 1050-5.

19- Sina H, Ahoyo TA, Moussaoui W, Keller D, Bankolé HS, Barogui Y, et al. Variability of antibiotic susceptibility and toxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from skin, soft tissue, and bone related infections. *BMC Microbiol* 2013; 13(1): 188.

20- Duran N, Ozer B, Duran GG, Onlen Y, Demir C.Antibiotic resistance genes & susceptibility patternsin staphylococci. Indian J Med Res. 2012; 135: 389-96. ۲۱21.Gharibi, D., Mosallanejad, B., Hashemi, S. M. Methicillin resistance in staphylococci isolated from dogs and their antibiotic susceptibility pattern. *Iranian Veterinary Journal*, 2015; 11(3): 87-96. doi: 10.22055/ivj.2015.11592

22- Yousefi M, Pourmand MR, Fallah F,Hashemi A, Mashhadi R, Nazari-Alam A. Characterization of Staphylococcus aureusbiofilm formation in urinary tract infection.Iran J Public Health 2016; 45(4): 485-493.

23- Goudarzi M, Abiri P, Nasirian S, GhaderiAfshari SG. SCCmec and spa typing of Staphylococcus aureus strains isolated frompatients with urinary tract infection:emergence of spa types t426 and t021 in Iran.Jundishapur J Microbiol 2018; 11(5): e3568.

24- Pezeshki Najafabadi M, Dagoohian A, Rajaie S, Zarkesh-Esfahani SH, Edalati M. Commonmicrobial causes of significant bacteriuria and their antibiotic resistance pattern in the Isfahan Province of Iran. J Chemother 2018; 30(6-8): 348-353

25- RahimiF, Bouzari M, Maleki Z, Rahimi F. Antibiotic susceptibility pattern among Staphylococcus spp.with emphasis on detection of mecA gene inmethicillin resistant Staphylococcus aureus isolates.Iran J Clin Infect Dis. 2009; 4(3):143-50.

Original Article

SCCmec typing of *Staphylococcus aureus* strains isolated from the urine samples of apparently healthy dogs in Isfahan

Received: 14/05/2023 - Accepted: 19/10/2023

Saam Torkan[1*]
Seyed Shahab Hoseini[2]

[1]Associated professor of Small Animal Internal Medicine, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

[2]Graduated of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Email: saamtorkan@yahoo.com

Abstract

Introduction

Since *Staphylococcus aureus* is the main pathogen of Staphylococcus and causes various hospital-acquired infections including urinary tract infections, it is of value to examine resistance patterns of this organism, methicillin-resistance in particular. This study was aimed to examine the antibiotic resistance patterns of *Staphylococcus aureus* strains separated from urine samples of apparently healthy dogs in Isfahan.

Material and Method

200 urine samples (20 ml) were taken from apparently healthy dogs in different clinics and kennels of Isfahan, collected in sterile urine containers and examined through microbial and molecular cultures. After the isolates were molecularly approved, the simple disk diffusion test and PCR were used to determine antibiotic resistance patterns, and cassette chromosomes of mecA genes, respectively.

Results

Among the samples, 23 (11.5%) were infected with *Staphylococcus aureus* and exhibited *16srRNA* genes in PCR. Their antibiotic resistance patterns were detected by CLSI based antibiogram. All the examined isolates showed multiple antibiotic resistance, among which penicillin (95.65%) and tetracyclin (91.30%) were the highest; whereas, the lowest resistance related to nitrofurantoin (34.78%). 73.91% of the isolates included *mecA* genes, with Sccmec III being the most frequent cassette chromosome, in methicillin-resistant isolates (47.05%).

Conclusion

The prevalence of *Staphylococcus aureus* strains, resistant to a broad spectrum of first-choice and second-choice antibiotics, indicates the spread of these strains in dog population. Therefore, the treatment of choice should be selected based on antibiogram results.

Key words

Staphylococcus aureus, Sccmec types, urine, antibiotic resistance, dog, Isfahan.

Acknowledgement: There is no conflict of interest