

Original Article

Prevalence of *mecA*, *tsst1*, and *pvl*, as Well as *agr* Specific Groups in Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus* from Patients Admitted to Hospitals in Tehran, Iran

Javad Zerehsaz^{1*} , Shahin Najar Pirayeh² 

¹ Department of Bacteriology, School of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objectives: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, especially those with Pantone-Valentine leukocidin (*pvl*) or Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (*tsst-1*) genes, are increasingly accountable for nosocomial infections. This study was conducted to evaluate the frequency of *mecA*, *tsst1*, and *pvl* genes, as well as *agr* specific genes in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from patients admitted to hospitals in Tehran.

Methods: To conduct the study, 215 isolates of *Staphylococcus aureus* were collected from clinical specimens. All strains were identified by standard methods. Afterward, the disk diffusion method was used to evaluate antibiotic resistance. The polymerase chain reaction method was performed to detect *mecA*, *tsst1*, and *pvl* genes and *agr* specific groups.

Results: The highest resistance was observed to tetracycline (49.3%). It was also found out that all strains were susceptible to vancomycin. The prevalence of *mecA*, *tsst1*, and *pvl* genes in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* was obtained as 46.04%, 32.3%, and 1.4%, respectively. Moreover, 57.20%, 14.41%, 16.74%, and 11.62% of clinical isolates had *agr1*, *agr2*, *agr3*, and *agr4* group, respectively.

Conclusion: Considering the production of various toxins in *Staphylococcus aureus* strains and the increase in antibiotic resistance of this bacterium, it is essential to diagnose this disease early and adopt appropriate treatment to prevent its progression caused by this bacterium.

Keywords: Methicillin; Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; Pantone-Valentine leukocidin; *Staphylococcus aureus*; Toxic shock syndrome toxin-1.

DOI: 10.29252/qums.14.9.59

*Corresponding Author:

Javad Zerehsaz;
Department of Bacteriology,
School of Medicine, Tarbiat
Modares University, Tehran,
Iran.

Email:
javad.molm@yahoo.com

Received: 28 Jun, 2020
Accepted: 22 Dec, 2020

بررسی فراوانی ژن‌های *pvl* *tsst1* *mecA* و گروه‌های اختصاصی *agr* در ایزوله‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران بستری در برخی از بیمارستان‌های شهر تهران

جواد زره‌ساز^{۱*} , شهین نجار پیرایه^۱ 

چکیده

زمینه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) به ویژه آن‌هایی که دارای ژن‌های پنتون-ولنتاین لکوسیدین (PVL: Panton-Valentine leukocidin) (*pvl*) یا ژن سندرم شوک توکسیک ۱ (*tsst-1*) هستند، به طور فزاینده‌ای مسئول عفونت در بیمارستان هستند. در این راستا، مطالعه حاضر با هدف بررسی فراوانی ژن‌های *pvl* *tsst1* *mecA* و گروه‌های اختصاصی *agr* در ایزوله‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های شهر تهران انجام شد.

روش بررسی: به منظور انجام این مطالعه، ۲۱۵ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس از نمونه‌های کلینیکی جمع‌آوری گردید. تمام سویه‌ها با روش‌های استاندارد تعیین هویت شدند. سپس برای بررسی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد. PCR (Polymerase chain reaction) برای تشخیص ژن‌های *pvl* *tsst1* *mecA* و گروه‌های اختصاصی *agr* انجام شد.

یافته‌ها: بیشترین میزان مقاومت در برابر تتراسایکلین (۴۹/۳ درصد) مشاهده شد. تمام سویه‌ها در برابر ونکومايسين حساس بودند. درصد فراوانی ژن‌های *pvl* و *tsst1* *mecA* در ایزوله‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب ۴۶/۰۴، ۲/۳۲ و ۱/۴ درصد بود. همچنین ۵۷/۲۰ درصد دارای گروه *agr1* ۱۴/۴۱ درصد دارای *agr2* ۱۶/۷۴ درصد دارای گروه *agr3* و ۱۱/۶۲ درصد دارای گروه *agr4* بودند.

نتیجه‌گیری: با توجه به تولید توکسین‌های مختلف در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و نیز با توجه به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری، تشخیص زود هنگام و درمان مناسب برای جلوگیری از پیشرفت بیماری ناشی از این باکتری امری ضروری می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: استافیلوکوکوس اورئوس؛ استافیلوکوکوس مقاوم به متی‌سیلین؛ پنتون-ولنتاین لکوسیدین؛ سندرم شوک توکسیک ۱؛ متی‌سیلین.

^۱ گروه باکتری‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

جواد زره‌ساز؛ گروه باکتری‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:

javad.molm@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۰۲

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Zerehsaz J, Najar Pirayeh S. Prevalence of *mecA*, *tsst1*, and *pvl*, as Well as *agr* Specific Groups in Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus* from Patients Admitted to Hospitals in Tehran, Iran. Qom Univ Med Sci J 2020;14(9):59-68.
[Full Text in Persian]

مقدمه

امروزه *استافیلوکوکوس اورئوس* یک پاتوژن عمده انسانی محسوب می‌شود؛ به طوری که هر فرد در طول حیات خود به برخی از عفونت‌های *استافیلوکوکی* نظیر عفونت‌های خفیف پوستی تا عفونت‌های شدید و مسمومیت غذایی که زندگی فرد را تهدید می‌کند، مبتلا می‌شود (۱). *استافیلوکوکوس اورئوس* به واسطه تولید توکسین و یا تهاجم مستقیم و تخریب بافت‌ها، ایجاد بیماری می‌کند. به دلیل افزایش میزان مقاومت در بین سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، آمار عفونت‌های بیمارستانی ناشی از این باکتری در سال‌های اخیر در مقایسه با گذشته، افزایش چشمگیری داشته است (۲). مقاومت به متی‌سیلین یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین الگوهای مقاومت در بین سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد که ناشی از حضور ژن *mecA* است که به صورت کروموزومی کد می‌شود (۳).

این باکتری دارای فاکتورهای ویروالانس متعددی بوده که تولید آن‌ها به وسیله سیستم تنظیم هماهنگ (Quorum-sensing) *استافیلوکوکوس اورئوس* به نام *agr* کنترل می‌شود. سویه‌های مختلف *استافیلوکوکوس اورئوس* را می‌توان براساس چند شکلی *agrC* و *agrD* به چهار گروه اصلی *agr* (I-IV) تقسیم نمود (۴). از میان فاکتورهای ویروالانس متعدد این باکتری، توکسین TSST1 و توکسین پنتون والتین لکوسیدین (PVL) از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. توکسین TSST1 یکی از سوپر آنتی‌ژن‌های توکسین پیروژنیک (PTSAs: Pyrogenic Toxin Superantigens) است. توکسین TSST1 یک پروتئین با وزن مولکولی حدود ۲۴۰۰۰ دالتون بوده و دارای سه تیپ A، B و C می‌باشد (۵). این توکسین عامل اصلی سندروم شوک توکسیک است که نخستین بار توسط Todd و همکاران معرفی گردید (۶). همچنین ۷۵ درصد از تمام موارد سندروم شوک توکسیک را ایجاد می‌کند. این توکسین در ایزوله‌های جدا شده از افراد سالم نیز مشاهده شده است. ژن *tsst* کروموزومی بوده و از نظر بالینی با گروه توکسین‌های انتروتوکسین ارتباط دارد؛ اما از نظر ایمونولوژیک و ساختاری، دارای شباهت کمی با آن‌ها می‌باشد (۷).

پنتون والتین لکوسیدین (PVL) که توسط ژن *pvl* کد می‌شود،

یکی از مهم‌ترین فاکتورهای ویروالانس این باکتری است. این Beta Pore Forming Cytotoxin با نکرز بافت در ارتباط بوده و باعث فروپاشی غشای لکوسیت‌ها می‌شود. سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* دارای PVL نسبت به سویه‌های فاقد PVL دارای خاصیت ویروالانس بیشتری هستند و قدرت انتقال بیشتری دارند (۸). پنتون والتین لکوسیدین که یک توکسین سایتولیزین است، دارای دو جزء پروتئینی S (33kDa) و F (34kDa) تحت کنترل ژن‌های *luk s - pv* و *luk f - pv* می‌باشد. هر دو جزء لکوسیدین، آنتی‌ژنیک بوده و قابل تبدیل به توکسوئید می‌باشد. این توکسین با مقاومتی که در مقابل فاگوسیتوز ایجاد می‌کند، باعث افزایش قدرت تهاجمی *استافیلوکوک* می‌شود (۸،۹). پنتون والتین لکوسیدین با منافذی که در نوتروفیل‌ها ایجاد می‌کند باعث ورود کاتیون‌ها به درون نوتروفیل‌ها و تخریب آن‌ها می‌شود. این توکسین منحصراً روی لکوسیت‌ها تأثیر دارد. لکوسیدین با تخریب لکوسیت‌ها و در نهایت کاهش دادن تعداد آن‌ها در بدن می‌تواند به عنوان یک عامل ویروالانس عمل کند (۱۰). با توجه به مطالب بیان شده، مطالعه حاضر با هدف بررسی فراوانی ژن‌های *mecA*، *tsst1*، *pvl* و گروه‌های اختصاصی *agr* در ایزوله‌های بالینی *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از بیماران بستری در برخی از بیمارستان‌های شهر تهران انجام شد.

روش بررسی

جمع‌آوری نمونه

۲۱۵ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* ایجادکننده عفونت از بیماران بستری در چهار بیمارستان درمانی استان تهران (مرکز طبی کودکان بیمارستان میلاد، بیمارستان مهر و بیمارستان لقمان) جمع‌آوری گردید. این ایزوله‌ها از نمونه‌های مختلف بالینی نظیر تراشه (۴۱/۱ درصد)، ادرار (۱۶/۷ درصد)، زخم (۱۶/۳ درصد)، آگزودا (۷/۹ درصد)، بافت (۶/۱ درصد)، خون (۶ درصد) و چشم (۵/۶ درصد) جداسازی شده بودند. نمونه‌ها در کوتاه‌ترین زمان ممکن و در عرض کمتر از چهار ساعت به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند. برای شناسایی فنوتیپی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* از روش‌های

استخراج DNA و انجام PCR

استخراج DNA ژنومیک با استفاده از کیت استخراج DNA (Bioneer، Republic of Korea) صورت گرفت. وجود ژن‌های *mecA*، *tsst1* و *pvl* توسط پرایمرهای اختصاصی که از مقالات استخراج شده بوده و یا با استفاده از نرم‌افزارهای Oligo 7 و Primer 3 طراحی گردیده بودند (۱۴) (جدول ۱)، مورد بررسی قرار گرفت. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر (مخلوط واکنش ۲۰ میکرولیتر ماستر میکس (Biorad)، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر و ۲ میکرولیتر DNA باکتری) طی ۳۵ سیکل شامل: مرحله اولیه باز شدن دو رشته DNA به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، مرحله باز شدن دو رشته DNA ۱ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، مرحله اتصال پرایمرها مطابق با جدول ۱، مرحله طویل شدن رشته هدف به مدت ۱ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و مرحله طویل شدن نهایی به مدت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. محصول PCR پس از الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

لازم به ذکر است که در مورد ژن *agr* از آنجایی که PCR برای چهار ژن به صورت دو واکنش دابلکس انجام شد (۱۹)، تهیه مخلوط پرایمرها به صورت جدول ۲ بود:

از DNA استافیلوکوکوس اورئوس استاندارد شامل: RN6607، RN6390، RN846، RN4550 و RN6911 به عنوان کنترل مثبت

استاندارد میکروب‌شناسی شامل: رنگ‌آمیزی گرم، کشت در محیط مانیتول سالت آگار (MSA، Merck، Germany)، آزمون کوآگولاز، آزمون کاتالاز و آزمون Dnase استفاده شد (۱۱). سویه‌های تأیید شده به عنوان استافیلوکوکوس در محیط تریپتیکس سوی براث (TSB، Merck، Germany) حاوی ۲۰ درصد گلیسرول در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد برای انجام سایر آزمایشات و آزمون‌های مولکولی ذخیره شدند.

تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی

حساسیت هر نمونه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های اگزاسیلین (۵ میکروگرم)، ونکومايسين (۳۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، اریترومايسين (۱۵ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۵ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۲۵ میکروگرم) و کلیندامایسین (۲ میکروگرم) (Mast Co، UK) با استفاده از روش استاندارد دیسک دیفیوژن (۱۲) بررسی گردید. برای اطمینان از صحت انجام کار و همچنین بررسی کنترل کیفی دیسک‌ها و پودرهای آنتی‌بیوتیک از سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC25923 به عنوان سویه استاندارد در هر بار انجام آزمایش استفاده شد. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC: Minimum Inhibitory Concentration) برای آنتی‌بیوتیک اگزاسیلین با استفاده از روش Broth Microdilution تا غلظت آنتی‌بیوتیکی ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر انجام شد (۱۳).

جدول شماره ۱: لیست پرایمرهای استفاده شده جهت بررسی حضور ژن‌های مورد بررسی در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس

ژن	دمای annealing (سانتی‌گراد)	ترتیب پرایمرها	اندازه، bp	منابع
<i>mecA</i>	۴۹	F: GTG AAG ATA TAC CAA GTG ATT R: ATG CGC TAT AGA TTG AAA GGAT	۱۴۷	(۱۵)
<i>tsst1</i>	۵۱	F: ACCCCTGTTCCCTTATCATC R: TTTTCAGTATTGTAAACGCC	۳۲۶	(۱۶)
<i>pvl</i>	۵۵	F: ATCATTAGGTA AAAATGTCTGGACATGATCCA R: GCATCAAGTGATTGGATAGCAAAAAGC	۴۲۰	(۱۷)
	۵۵	F pan: ATGCACATGGTGCACATGC R agrI: GTCACATGTACTATAATCTGCGAT	۴۴۰	(۱۸)
<i>agr</i>	۵۵	R agrII: GTATTACTAACTGAATAGTGGCATAGC R agrIII: CTGTTCAAACAGTGAACATAACGCTC	۵۷۲	مطالعه حاضر
		R agrIV: CGTTAATCCCGTATTACCCG	۵۸۸	

F: forward; R: reverse

جدول شماره ۲: مقادیر mix primer به کار رفته برای انجام PCR ژن‌های *agr*

<i>agr 1,4 mix primer</i>	$10\lambda \text{ pan forward } agr+ +10 \lambda \text{ reverse } agr4+10 \lambda \text{ reverse } agr 1 +40 \lambda \text{ DW}$
<i>agr 2,3 mix primer</i>	$10\lambda \text{ reverse } agr3+ 10\lambda \text{ reverse } agr 2 +10 \lambda \text{ pan forward } agr \text{ primer } +40 \lambda \text{ DW}$

برای تعیین گروه‌های اختصاصی *agr* استفاده شد.

یافته‌ها

تعیین حساسیت به روش دیسک دیفیوژن

بیشترین میزان مقاومت در برابر تتراسایکلین معادل ۴۹/۳ درصد مشاهده شد. هیچ کدام از سویه‌ها به ونکومايسين مقاوم نبودند. فراوانی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها در نمونه‌های مختلف در جدول ۳ نشان داده شده است. بیشترین مقاومت همزمان دارویی در میان سویه‌های بررسی شده به ترتیب شامل: مقاومت همزمان به یک آنتی‌بیوتیک (۲۶/۰۴ درصد)، پنج آنتی‌بیوتیک (۸/۳۷ درصد)، شش آنتی‌بیوتیک (۷/۹ درصد)، هفت آنتی‌بیوتیک (۶/۵۱ درصد)، دو آنتی‌بیوتیک (۶/۵۱ درصد)، چهار آنتی‌بیوتیک (۵/۱۱ درصد) و سه آنتی‌بیوتیک (۵/۶ درصد) بود. نتایج آزمون MIC برای اگزاسیلین نشان دادند که ۲۳/۲۵ درصد از سویه‌ها دارای MIC کمتر از ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۱۵/۸۱ درصد از سویه‌ها دارای MIC معادل ۰/۲۵-۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۱۴/۸۸ درصد از سویه‌ها MIC معادل ۱-۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۲۷/۹۰ درصد از سویه‌ها MIC معادل ۴-۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۸/۳۷ درصد از سویه‌ها MIC معادل ۱۶-۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۸/۳۷ درصد از سویه‌ها MIC معادل ۶۴-۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۱/۳۹ درصد دارای MIC معادل ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند. از سوی دیگر، طبق

استانداردهای CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) در مورد اگزاسیلین، مقادیر ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر $MIC \leq$ مقاوم و مقادیر ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر $MIC \geq$ در نظر گرفته می‌شوند. بر این اساس، نتایج آزمون MIC برای اگزاسیلین حاکی از آن است که ۵۳/۹۴ درصد از سویه‌ها حساس و ۴۶/۰۶ درصد از آن‌ها در برابر اگزاسیلین مقاوم بوده‌اند.

نتایج حاصل از PCR

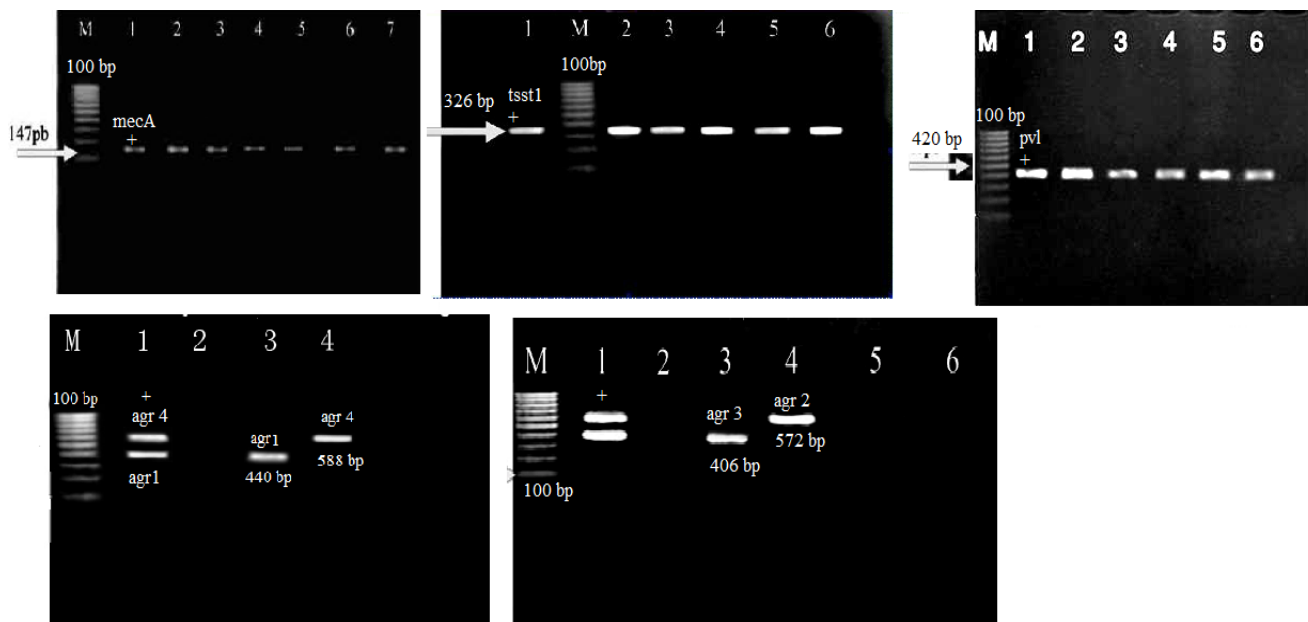
درصد فراوانی ژن‌های *mecA*, *tsst1* و *pvl* در ایزوله‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب ۴۶/۰۴ درصد (۹۹ سویه)، ۲/۳۲ درصد (پنج سویه) و ۱/۴ درصد (سه سویه) بود. همچنین ۵۷/۲۰ درصد (۱۲۳ سویه) دارای ژن *agr1*، ۱۴/۴۱ درصد (۳۱ سویه) دارای ژن *agr2*، ۱۶/۷۴ درصد (۳۶ سویه) دارای ژن *agr3* و ۱۱/۶۲ درصد (۲۵ سویه) دارای ژن *agr4* بودند (شکل ۱).

ارتباط ژن‌های مورد بررسی با عفونت

تمامی سویه‌های دارای ژن *tsst1* از زخم جدا شده بودند. سه سویه دارای ژن *pvl* بودند که دو سویه از تراشه و یک سویه از بافت جدا گردیدند. همچنین ۹۹ سویه دارای ژن *mecA* بودند که ۵۰ سویه از زخم، ۳۹ سویه از تراشه، چهار سویه از خون، سه سویه از بافت و سه سویه از ادرار جدا گردید. همان‌گونه که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، تقریباً در تمام نمونه‌های مورد بررسی،

جدول شماره ۳: فراوانی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها در نمونه‌های مختلف

آنتی‌بیوتیک	تراشه (درصد)	ادرار (درصد)	زخم (درصد)	خون (درصد)	چشم (درصد)	بافت (درصد)	اگزودا (درصد)
اگزاسیلین	۴۸/۳۱	۴۴/۴۴	۴۵/۷۱	۳۰/۷۶	۳۳/۳۳	۵۳/۴۸	۴۳/۷۵
تتراسایکلین	۴۹/۴۳	۶۱/۱۱	۴۴/۱۱	۵۹	۴۱/۷	۲۳/۰۷	۶۰
اریترومایسین	۳۲/۱۸	۴۱/۶۶	۲۹/۴۱	۶۶/۶۶	۵۴/۵۴	۳۰/۷۶	۴۰
جنتامایسین	۲۱/۳۸	۴۱/۷	۲۹/۴۱	۵۰	۲۷/۲۷	۱۵/۳۸	۳۳/۳۳
کلیندامایسین	۱۹/۱	۳۶/۱۱	۳۲/۳۵	۴۶/۱۵	۲۵	۲۳/۰۷	۲۶/۶۶
سیپروفلوکسازین	۳۲/۵۸	۶/۶۶	۴۲/۸۵	۴۶/۱	۴۱/۶۶	۲۳	۶/۶۶
کوتریموکسازول	۲۲/۴۷	۱۹/۴۴	۲۰/۵۸	۵۸/۳۳	۱۸/۲	۳۰/۸	۲۰
ونکومايسين	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰



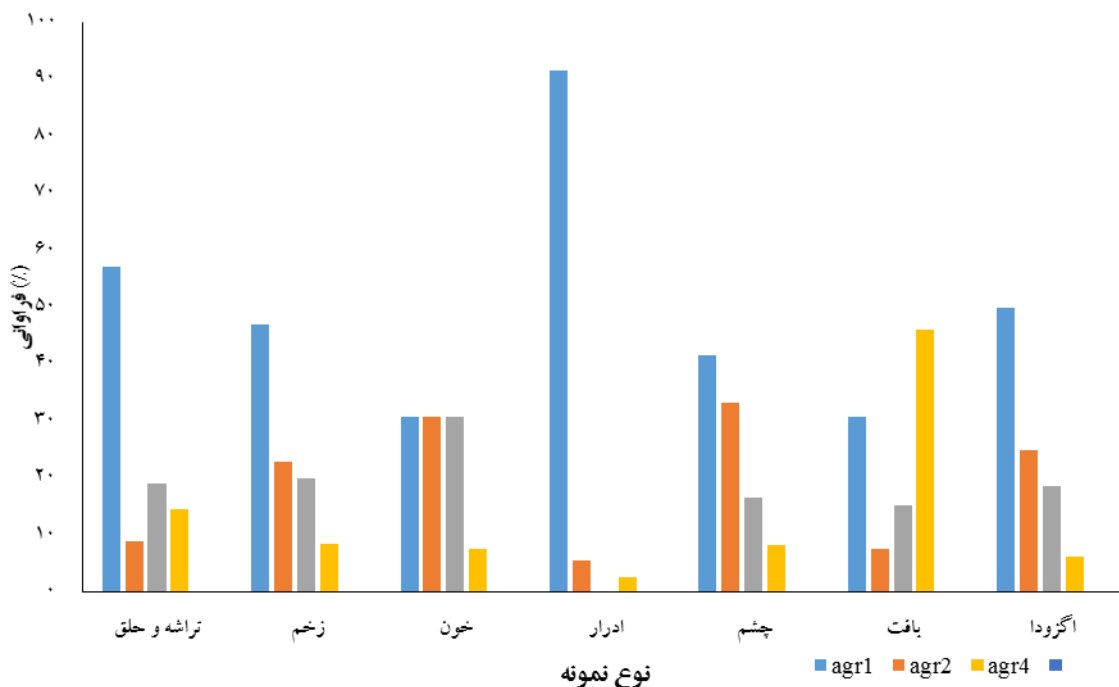
شکل شماره ۱: تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR؛ چاهک شماره ۱: کنترل مثبت برای ژن‌های مورد بررسی و سایر چاهک‌های مربوط به نمونه‌های بالینی مورد بررسی می‌باشد.

به آگراسیلین مقاوم بود. سویه مقاوم به صورت همزمان دارای ژن *mecA* و *tsst1* بود. همچنین هر سه سویه دارای ژن *pvl* در برابر آگراسیلین مقاوم بودند. مقاومت آنتی‌بیوتیکی در گروه‌های *agr* در جدول ۴ نشان داده شده است.

agr1 از بیشترین فراوانی برخوردار است.

ارتباط ژن‌های مورد بررسی با مقاومت آنتی‌بیوتیکی

از پنج سویه دارای ژن *tsst1* چهار سویه به آگراسیلین و یک سویه



نمودار شماره ۱: ارتباط گروه‌های اختصاصی *agr* با عفونت

جدول شماره ۴: مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های گروه‌های *agr*

ژن	سیروفلوکسازین (درصد)	کلیندامایسین (درصد)	ونکوماایسین (درصد)	جتامایسین (درصد)	کو‌تریموکسازول (درصد)	تتراسایکلین (درصد)	اریترومایسین (درصد)	اکزاسیلین (درصد)
<i>agr1</i>	۲۴/۴	۲۶/۰۱	۰	۲۴/۴	۲۰/۳۲	۴۶/۳۴	۳۲/۸	۵۰
<i>agr2</i>	۴۶/۸۷	۵۰	۰	۴۶/۸۷	۳۴/۳۷	۶۲/۵	۵۹/۳۷	۴۹/۶
<i>agr3</i>	۴۴/۷۳	۲۱/۰۵	۰	۳۶/۸۴	۲۶/۳۱	۶۵/۷۸	۴۳/۲۴	۴۲/۱۰
<i>agr4</i>	۱۳/۶۳	۱۸/۲	۰	۱۳/۶۳	۲۲/۷۲	۲۷/۲۷	۲۲/۷۲	۳۶/۳۶

بحث

عفونت‌های ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* تحت تأثیر حضور مقاومت آنتی‌بیوتیکی و عوامل مؤثر در بیماری‌زایی قرار دارند. کسب مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این باکتری باعث ایجاد یک سری تغییرات در ترشح و بیان عوامل مؤثر در بیماری‌زایی از جمله سموم باکتریایی می‌شود. تاکنون روش‌های متعددی برای شناسایی توکسین‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد استفاده قرار گرفته است. روش PCR ابزار مناسبی برای تشخیص سریع بوده و حساسیت و ویژگی قابل توجهی نسبت به سایر روش‌ها برای ژن‌های توکسین *استافیلوکوکوس اورئوس* دارد (۲۰).

تنظیم هماهنگ بسیاری از این فاکتورهای ویروالانس، عامل مهمی در بیماری‌زایی *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد. این سیستم تنظیمی، "Quorum-sensing" نامیده می‌شود که البته در *استافیلوکوکوس اورئوس*، سیستم *agr* (Accessory Gene Regulator) نیز نامیده می‌شود. *استافیلوکوک*‌های مناطق مختلف دارای الگوهای متفاوت *agr* هستند. در این باکتری، مقاومت رو به گسترشی در برابر انواع آنتی‌بیوتیک‌های مرسوم مشاهده می‌شود و احتمال وجود ناحیه *agr* با مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی مطرح شده است. با توجه به ضرورت به دست آوردن اطلاعات بیشتر در مورد این باکتری و اینکه الگوی گروه‌های *agr* *استافیلوکوکوس اورئوس* در مناطق مختلف دنیا مشخص شده است، بر آن شدیم تا این الگوها را در ایران و در بیمارستان‌های شهر تهران مورد بررسی قرار دهیم. برای بررسی وضعیت مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی این باکتری در پژوهش حاضر، گروه‌های اختصاصی *agr* و همچنین مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی این باکتری مورد بررسی قرار گرفت. در مورد گروه‌های *agr*

طبقه‌بندی نمونه‌ها براساس گروه، ارتباط گروه‌های *agr* با مقاومت آنتی‌بیوتیکی، ارتباط *agr* با *mecA* و همچنین فاکتورهای دیگر از جمله نوع عفونت صورت گرفت. همان‌گونه که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، تقریباً در تمام نمونه‌های مورد بررسی، *agr1* از بیشترین فراوانی برخوردار بود. در مطالعه صورت گرفته، بیشترین درصد سویه‌ها مربوط به گروه *agr1* (۵۷/۲۰ درصد) و کمترین میزان آن مربوط به گروه *agr4* (۱۱/۶۲ درصد) بود. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۴ توسط Gilot در آمریکا انجام شد، فراوانی گروه‌های *agr* بدین ترتیب بود: *agr1*: ۶۱/۷ درصد، *agr2*: ۳۳/۵ درصد و *agr3*: ۴/۸ درصد. *agr4* نیز در هیچ‌یک از سویه‌های مورد بررسی مشاهده نشد. گروه *agr1* تقریباً در تمام عفونت‌های مورد بررسی از بالاترین شیوع برخوردار بود (۲۱).

در مطالعه حاضر ۴۶ درصد از ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه‌های بالینی دارای ژن *mecA* بودند (MRSA) که این مهم با نتایج مطالعه صورت گرفته توسط Alfatemی و همکاران که شیوع آن را ۴۲/۳ درصد گزارش کرده بودند، مطابقت دارد (۲۲). شیوع MRSA در مطالعه حاضر به ترتیب در نمونه‌های زخم و تراشه، ۵۰ و ۳۹ درصد و در نمونه‌های خون، بافت و ادرار به ترتیب معادل ۴، ۳ و ۳ درصد بود. در مطالعه وحدانی و همکاران نیز بیشترین موارد MRSA از خلط (۴۱ درصد) و کمترین آن از سینوس (۲ درصد) به دست آمد (۲۳). تفاوت در شیوع مقاومت به متی‌سیلین در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های مختلف ممکن است به واسطه درمان طولانی مدت آنتی‌بیوتیکی بیماران با صدمات بالا باشد که دوره بستری طولانی‌تر و در نتیجه، فشار انتخابی افزایش یافته‌ای را داشته‌اند. نکته دیگری که از آزمایش دیسک دیفیوژن

MRSA، بیش از ۹۴ درصد از سویه‌های *pvl* مثبت از عفونت‌های پوستی، تراشه، خون و ادرار جدا شده بودند (۲۵). در مطالعه حاضر در بررسی‌های صورت گرفته برای ژن *pvl* سه سویه (۱/۴ درصد) مثبت بودند. در این مطالعه دو سویه از تراشه و یک سویه از بافت جدا گردید. به طور کلی، تفاوت در نتایج این مطالعات می‌تواند به دلیل اختلاف در منطقه جغرافیایی و نوع نمونه اخذ شده باشد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی، نظارت بر جدایه‌های واجد ژن‌های ویروالانس مقاوم به دارو در بیمارستان‌ها می‌تواند در کنترل موارد خطرناک در افراد دارای نقص سیستم ایمنی و بیماران حساس مؤثر باشد؛ چه بسا که تا به امروز تدابیر و چاره‌اندیشی در این حیطه، محدود به کشورهای بوده است که در این زمینه نسبت به گزارشات گذشته و حال، خودآگاهی دارند.

تشکر و قدردانی

در نگارش این مقاله از راهنمایی ارزنده و راه‌گشای استاد محترم سرکار خانم دکتر پیرایه و از زحمات اساتید و تمامی دوستانی که مرا در این امر یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

استنباط می‌شود، این است که آنتی‌بیوتیک گلیکوپپتیدی (ونکومايسين) مؤثرترین دارو در درمان عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس بوده است.

در مطالعه حاضر میزان شیوع ژن توکسین *tsst1* و *pvl* مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج حاصل از این مطالعه که در ارتباط با ۲۱۵ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام شد، پنج سویه (۲/۳۲ درصد) دارای ژن توکسین TSST1 بودند. شایان ذکر است که تمامی این پنج سویه از نمونه زخم جدا شده بودند. همچنین چهار سویه حساس به آگراسیلین و یک سویه مقاوم به آگراسیلین بودند. سویه مقاوم به آگراسیلین دارای ژن *mecA* نیز بود. در مطالعه اصلانی مهر و همکاران در سال ۱۳۹۱، ۶۵ جدایه بالینی *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد بررسی قرار گرفت که ۱۸ جدایه (۲۷/۶ درصد) از نظر ژن *tsst* مثبت بودند (۲۰). گردش ایزوله‌های دارای ژن *tsst* در اجتماع؛ به ویژه برای افراد در معرض خطر مانند کودکان، افراد مسن و موارد با نقص ایمنی در کشور ما که جمعیت زیادی را به خود اختصاص می‌دهند، دارای اهمیت می‌باشد.

در این راستا مبین و همکاران در سال ۱۳۹۰، ۱۰۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس را مورد بررسی قرار دادند که ۱۸ جدایه دارای ژن *pvl* بودند (۲۴). همچنین در سال ۲۰۱۰ در مطالعه صورت گرفته توسط هوایی و همکاران در ارتباط با ۱۴۹ سویه

References:

1. Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clin Microbiol Rev 2015;28(3):603-61. DOI: [10.1128/CMR.00134-14](https://doi.org/10.1128/CMR.00134-14)
2. Stapleton PD, Taylor PW. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: mechanisms and modulation. Sci Prog 2002;85(1):57-72. DOI: [10.3184/003685002783238870](https://doi.org/10.3184/003685002783238870)
3. Wielders CL, Fluit AC, Brisse S, Verhoef J, Schmitz FJ. *mecA* gene is widely disseminated in *Staphylococcus aureus* population. J Clin Microbiol 2002;40(11):3970-5. DOI: [10.1128/jcm.40.11.3970-3975.2002](https://doi.org/10.1128/jcm.40.11.3970-3975.2002)
4. Murray EJ, Williams P. Detection of *agr*-type autoinducing peptides produced by *Staphylococcus aureus*. Methods Mol Biol 2018;1673:89-96. DOI: [10.1007/978-1-4939-7309-5_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7309-5_7)
5. Arabestani MR, Rastiany S, Mousavi SF, Ghafel S, Alikhani MY. Identification of toxic shock syndrome and exfoliative toxin genes of *Staphylococcus aureus* in carrier persons, resistant and susceptible methicillin. Tehran Univ Med J 2015;73(8):554-60. Link
6. Todd J, Fishaut M, Kapral F, Welch T. Toxic-shock syndrome associated with phage-group-I *Staphylococci*. Lancet 1978;312(8100):1116-8. DOI: [10.1016/s0140-6736\(78\)92274-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(78)92274-2)

7. Sindhu N, Sharma A, Jain V. Coagulase gene based molecular detection of *Staphylococcus aureus* directly from mastitic milk samples of Murrah buffalo. Buffalo Bull 2010;29(1):52-9. [Link](#)
8. Karmakar A, Jana D, Dutta K, Dua P, Ghosh C. Prevalence of panton-valentine leukocidin gene among community acquired *Staphylococcus aureus*: a Real-Time PCR study. J Pathog 2018;2018:4518541. [DOI: 10.1155/2018/4518541](#)
9. Rossney AS, Shore AC, Morgan PM, Fitzgibbon MM, O'Connell B, Coleman DC. The emergence and importation of diverse genotypes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) harboring the Panton-Valentine leukocidin gene (*pvl*) reveal that *pvl* is a poor marker for community-acquired MRSA strains in Ireland. J Clin Microbiol 2007;45(8):2554-63. [DOI: 10.1128/JCM.00245-07](#)
10. Cihanoglu N, Adaleti R, Nakipoglu Y. Investigation of fibronectin binding protein (FBP) and panton valentine leukocidin (PVL) virulence factors in clinical methicillin sensitive and resistant *Staphylococcus aureus* strains. Clin Lab 2019;65(1):180625. [DOI: 10.7754/Clin.Lab.2018.180625](#)
11. Rajabi S, Shivaee A, Khosravi MA, Eshaghi M, Shahbazi S, Hosseini F. Evaluation of multidrug efflux pump expression in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. Gene Rep 2020;18:100537. [DOI: 10.1016/j.genrep.2019.100537](#)
12. Reller LB, Weinstein M, Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. Clin Infect Dis 2009;49(11):1749-55. [DOI: 10.1086/647952](#)
13. Patel JB. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017. [Link](#)
14. Rychlik W. OLIGO 7 primer analysis software. Methods Mol Biol 2007;402:35-60. [DOI: 10.1007/978-1-59745-528-2_2](#)
15. Karmakar A, Dua P, Ghosh C. Biochemical and molecular analysis of *Staphylococcus aureus* clinical isolates from hospitalized patients. Can J Infect Dis Med Microbiol 2016;2016:9041636. [DOI: 10.1155/2016/9041636](#)
16. Schmidt T, Kock MM, Ehlers MM. Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis and close human contacts in South African dairy herds: genetic diversity and inter-species host transmission. Front Microbiol 2017;8:511. [DOI: 10.3389/fmicb.2017.00511](#)
17. McClure JA, Conly JM, Lau V, Elsayed S, Louie T, Hutchins W, et al. Novel multiplex PCR assay for detection of the staphylococcal virulence marker Pantone-Valentine leukocidin genes and simultaneous discrimination of methicillin-susceptible from-resistant *staphylococci*. J Clin Microbiol 2006;44(3):1141-4. [DOI: 10.1128/JCM.44.3.1141-1144.2006](#)
18. Shopsis B, Mathema B, Alcibes P, Said-Salim B, Lina G, Matsuka A, et al. Prevalence of *agr* specificity groups among *Staphylococcus aureus* strains colonizing children and their guardians. J Clin Microbiol 2003;41(1):456-9. [DOI: 10.1128/jcm.41.1.456-459.2003](#)
19. Javdan S, Narimani T, Abadi MS, Gholipour A. Agr typing of *Staphylococcus aureus* species isolated from clinical samples in training hospitals of Isfahan and Shahrekord. BMC Res Notes 2019;12(1):363. [DOI: 10.1186/s13104-019-4396-8](#)
20. Aslanimehr M, Tavakoli M, Peymani A, Javadi A. Frequency of *tst*, *entB* and *entC* genes in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* isolated from Teaching Hospitals in Qazvin, Iran. Res Med 2013;37(1):62-6. [Link](#)
21. Gilot P, van Leeuwen W. Comparative analysis of *agr* locus diversification and overall genetic variability among bovine and human *Staphylococcus aureus* isolates. J Clin Microbiol 2004;42(3):1265-9. [DOI: 10.1128/jcm.42.3.1265-1269.2004](#)
22. Hosseini Alfatemi SM, Motamedifar M, Hadi N, Sedigh Ebrahim Saraie H. Analysis of virulence genes among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains. Jundishapur J Microbiol 2014;7(6):e10741. [DOI: 10.5812/jjm.10741](#)
23. Vahdani P, Saifi M, Aslani MM, Asarian AA, Sharafi K. Antibiotic resistant patterns in MRSA isolates from patients admitted in ICU and infectious ward. Tanaffos 2004;3(11):37-44. [Link](#)

24. Molla-abbaszadeh H, Mirzaei H. Identification of panton valentine leukocidin (pvl) Genes in *Staphylococcus aureus* isolated from in-patients of Emam Reza and Shohada Hospitals of Tabriz by Real-Time PCR. Iran J Med Microbiol 2013;6(4):72-80. [Link](#)
25. Havaei S, Moghadam SO, Pourmand MR, Faghri J. Prevalence of genes encoding bi-component leukocidins among clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Iran J Public Health 2010;39(1):8-14. [Link](#)