

سنجش میزان بیان ژن‌های *mecA* و *blaZ* در سویه‌های *Staphylococcus Aureus* مقاوم به متی‌سیلین و تعیین ارتباط الگوی بیان ژنی آن‌ها

حامد طهماسبی^۱، بهروز زینی^۲، ساناز ده‌باشی^۳، حمید معتمدی^۴، مهسا وفایی‌فر^۵، فریبا کرامت^۶، محمدرضا عربستانی^۶

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مقاومت به بتالاکتام‌ها، از مهم‌ترین ویژگی‌های *Staphylococcus aureus* (S. aureus) به شمار می‌رود. این احتمال وجود دارد که میزان مقاومت در سویه‌های مقاوم و بیان ژن‌های عامل مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی، در S. aureus متفاوت باشد. از این رو، هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، تعیین میزان بیان ژن‌های *mecA* و *blaZ* در سویه‌های S. aureus مقاوم به متی‌سیلین و تعیین ارتباط الگوی بیان ژنی بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی-تحلیلی، ۱۲۰ ایزوله‌ی بالینی S. aureus مقاوم به متی‌سیلین با آزمایش‌های فوتوتیپی از نمونه‌های بالینی مختلف، جداسازی شد. جهت بررسی کیفی ژن‌های *mecA* و *blaZ* در ایزوله‌های مقاوم، از روش Polymerase chain reaction (PCR) استفاده گردید. همچنین، جهت سنجش کمی ژن‌ها، از روش Real-time PCR مبتنی بر سایبرگرین ۱ استفاده شد. به منظور آنالیز داده‌های به دست آمده، از نرم‌افزارهای RG-REST و SPSS استفاده شد.

یافته‌ها: در این مطالعه، از مجموع ۱۲۰ ایزوله‌ی S. aureus مقاوم به متی‌سیلین، ۱۰۵ ایزوله (۸۷/۵ درصد) دارای ژن *blaZ* بودند. در این بین، متنوع‌ترین تغییرات بیان ژنی مربوط به نمونه‌های خون و ادرار بود؛ به طوری که افزایش بیان در نمونه‌های خون و زخم و ادرار به میزان چشم‌گیری بیشتر از سایر نمونه‌های بالینی بود. همچنین، بین میزان بیان ژن *mecA* و *blaZ* در ایزوله‌های بالینی S. aureus و نمونه‌های بالینی مختلف، ارتباط معنی‌داری مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این پژوهش، مؤید عدم استفاده از دزهای مشابه آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت‌های ناشی از S. aureus در بخش‌های مختلف است.

واژگان کلیدی: بیان ژن، بتالاکتام، مقاومت دارویی، مقاومت به متی‌سیلین، *Staphylococcus aureus*

ارجاع: طهماسبی حامد، زینی بهروز، ده‌باشی ساناز، معتمدی حمید، وفایی‌فر مهسا، کرامت فریبا، عربستانی محمدرضا. **سنجش میزان بیان ژن‌های *mecA* و *blaZ* در سویه‌های *Staphylococcus Aureus* مقاوم به متی‌سیلین و تعیین ارتباط الگوی بیان ژنی آن‌ها.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان

۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۳): ۱۰۶۷-۱۰۶۲

اثر مهارى دارند. مکانیسم اصلی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام در انواع *Staphylococcus* در دو دسته‌ی کلی تقسیم‌بندی می‌شود (۱).

اولین مورد غیر فعال کردن پنی‌سیلین به واسطه‌ی هیدرولیز، حلقه‌ی بتالاکتام می‌باشد. مورد دوم، تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز و دیواره‌ی پروتئین Penicillin-binding proteins (PBPs) می‌باشد که سبب

مقدمه

عفونت‌های ناشی از *Staphylococcus aureus* (S. aureus) که از دامنه‌ی گسترده‌ای برخوردار هستند، با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی درمان می‌شوند. آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی، گروهی از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشند که نسبت به آنزیم‌های دخیل در ترانس‌پپتیداسیون پپتیدوگلیکان (Transpeptidation peptidoglycan)

۱- گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

۲- گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

۳- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

۴- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

۵- استاد، مرکز تحقیقات بروسلوز، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

۶- دانشیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

Email: mohammad.arabestani@gmail.com

نویسنده‌ی مسؤو: محمدرضا عربستانی

روش‌ها

در این مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی که با استفاده از روش نمونه‌گیری آسان و در دسترس انجام شد، طی یک دوره‌ی ۹ ماهه، ۳۷۲ نمونه‌ی بالینی از بیماران بستری در بخش‌های مختلف مراکز درمانی دانشگاه علوم پزشکی همدان در سال ۱۳۹۵ جمع‌آوری شد. بازه‌ی نمونه‌گیری، ماه‌های خرداد تا دی و معیار ورود و خروج، مدت بستری بودن بیماران در بیمارستان تعیین شد. با استفاده از روش‌های مبتنی بر کشت و آزمون‌های بیوشیمیایی صورت گرفته بر روی ایزوله‌های بالینی، در نهایت ۱۸۸ ایزوله‌ی بالینی *S. aureus* جداسازی شد (۱۳-۱۲).

سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین و متی‌سیلین، با استفاده از دیسک‌های متی‌سیلین ۱۰ واحدی و سفوکسیتین ۳۰ میکروگرمی (Mast, UK) با روش Kirby-Bauer disk diffusion تعیین گردید. برای کنترل کیفی و ارزیابی نتایج، از *Staphylococcus aureus* ATCC25923 به عنوان شاهد منفی و *Staphylococcus aureus* ATCC43300 به عنوان شاهد مثبت استفاده شد (۱۴).

استخراج RNA Total با استفاده از کیت REBoEx (شرکت پیشگام، ایران) صورت گرفت و جهت سنتز complementary DNA (cDNA) نیز از کیت سنتز (Eurx, USA) استفاده شد. مراحل نهایی کار، نظیر خلوص‌سنجی RNA Total و cDNA‌های سنتز شده با توجه به مطالعات Ares صورت گرفت و محصولات سنتز شده، جهت آزمایش نهایی در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند (۱۵).

در این پژوهش، با استفاده از تکنیک Real-time PCR، میزان بیان Messenger RNA (mRNA) ژن‌های مورد نظر با روش کمی نسبی و با استفاده از رنگ سایبرگرین ۱ ارزیابی گردید. میزان تکثیر در چرخه‌هایی که Cycle threshold (CT) نامیده می‌شود، توسط دستگاه ABI Step One Plus (Life Technologies, USA) صورت گرفت. در همه‌ی ژن‌های مورد بررسی، از ژن gmk به عنوان Gene house keeping استفاده شد (۱۶-۱۷).

جهت بررسی Efficiency و شرایط حاکم بر واکنش، نمودار استاندارد رسم گردید. محاسبه‌ی بیان ژن‌ها بر اساس فرمول $1 + \Delta\Delta Ct$ و مطالعات Pfaffl method انجام پذیرفت که در این بررسی، یک ژن مرجع (Reference) و یک یا چند ژن هدف (Target) وجود داشت (۱۸).

برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از Relative Quantitation و $\Delta\Delta Ct$ ، از نرم‌افزارهای RG-REST نسخه‌ی ۲۰۰۸ و SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده شد. از آزمون آماری χ^2 برای مقایسه‌ی یافته‌های کیفی و از آزمون Independent t برای مقایسه‌ی یافته‌های کمی استفاده گردید. $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

کاهش تمایل به دارو شود و منجر به مقاومت وسیعی نسبت به متی‌سیلین‌های نیمه‌سنتزی، سفالوسپورین‌ها و کرباپنم‌ها می‌شود (۳-۲). بتالاکتام‌ها به طور انتخابی، حلقه‌ی بتالاکتام را باز می‌کنند؛ به نحوی که ساختار تغییر یافته‌ی دارو، نمی‌تواند اتصال مؤثری با PBPs برقرار نماید. بنابراین، اثر تخریبی بر دیواره‌ی سلولی نخواهند داشت (۴). علاوه بر ژن *blaZ*، حضور ژن *mecA* نیز می‌تواند سبب بروز مقاومت به طیف وسیعی از بتالاکتام‌ها نظیر متی‌سیلین و زمینه‌ساز ظهور سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین شود (۵). متی‌سیلین، از جمله آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی است که با اتصال به PBPs باعث مهار ترانس‌پپیدازها، ممانعت از ساخت پپتیدوگلیکان باکتری و به دنبال آن، تخریب دیواره‌ی سلولی می‌شود و در نهایت مرگ باکتری را در پی دارد (۶). از سال ۱۹۶۰ به بعد، مقاومت به متی‌سیلین در بین ایزوله‌های بالینی *S. aureus* مشاهده شد و زمینه‌ی ظهور سویه‌های جدیدی تحت عنوان «*S. aureus* مقاوم به متی‌سیلین» را رقم زد (۷).

ژن *mecA* منجر به بروز *S. aureus* مقاوم به متی‌سیلین می‌شود که بر روی یک کاست ژنتیکی سیار به نام کاست کروموزومی *Staphylococcus mec* قرار دارد (۸-۹). بیان ژن‌های عامل مقاومت به بتالاکتام‌ها و متی‌سیلین، می‌تواند در نمونه‌های بالینی مختلف، متفاوت باشد؛ به طوری که با ایجاد تفاوت در اعضای درگیر عفونت، می‌توان زمینه‌ی تغییر در میزان بیان ژن‌های *mecA* و *blaZ* را فراهم نمود (۱۰).

استفاده از روش‌های کمی وابسته به Real-time PCR (Real-time polymerase chain reaction)، علاوه بر این که می‌تواند الگوی دقیق و سریعی را از نظر میزان فعالیت ژن در اختیار محقق بگذارد، دارای حساسیت و اختصاصیت بالایی می‌باشد (۱۰). ژن *mecA* بر روی کروموزوم و ژن *blaZ* بر روی پلاسمید حمل می‌شود. قرارگیری این ژن‌ها بر روی ترانسپوزون‌های Tn 552، Tn 4002 و Tn 4201، می‌تواند زمینه‌ی انتقال بین سویه‌ای و حتی بین گونه‌ای را فراهم کند. ترشح آنزیم‌های بتالاکتاماز علاوه بر این که باعث ایجاد مقاومت باکتری در برابر داروهای گروه بتالاکتام می‌شود، از طرفی سبب ترشح زیاد آن در برخی سویه‌های فاقد ژن عامل مقاومت به متی‌سیلین و موجب بروز مقاومت کاذب (منفی کاذب) به متی‌سیلین می‌گردد (۱۱).

مطالعه بر روی *blaZ* نشان داده است که این ژن، دارای بخش‌های ساختاری، سرکوبگر و یک مبدل سیگنال می‌باشد که توسط گروه‌های متفاوت *bla* کد می‌شوند (۲). با در نظر گرفتن موارد پیش‌گفته، هدف از انجام این مطالعه، سنجش میزان بیان ژن‌های *mecA* و *blaZ* در سویه‌های *S. aureus* مقاوم به متی‌سیلین و تعیین ارتباط الگوی بیان ژنی آن‌ها قرار داده شد.

به طوری که نمونه‌های جدا شده از زخم و خون، مقادیر بیشتری را از خود نشان دادند (شکل‌های ۱ و ۲).

بحث

تعیین بیان ژن‌های عامل مقاومت به متی‌سیلین و بتالاکتام‌ها در ایزوله‌های بالینی جدا شده از نمونه‌های بالینی مختلف، الگوی متفاوتی را نشان داد. اطلاعات به دست آمده در این پژوهش، برای ژن *mecA* نمونه‌های بالینی مختلف شامل خون، ادرار، زخم و ترشحات نشان داد که بیان این ژن در ایزوله‌های جدا شده از نمونه‌های خون و زخم، دارای بیشترین مقدار بیان خود بود.

در مطالعه‌ی مشابهی که Arede و همکاران در پرتغال (۱۹) و Chan و همکاران در چین (۱۶) انجام دادند، مشخص شد که میزان بیان ژن *mecA* می‌تواند تحت شرایط متفاوتی تغییر کند. الگوی پراکنش سویه‌های مقاوم به پنی‌سیلین و متی‌سیلین در مطالعه‌ی حاضر، با نتایج مطالعات Chan و همکاران (۱۶) (با شیوع ۹۶ درصدی از ژن *blaZ*) مشابه بود (۱۶). در مطالعه‌ی Robles و همکاران در کشور برزیل، ۹۲ درصد از ایزوله‌ها دارای ژن *blaZ* بودند و مقاومت نسبت به سفازولین ۳۵ درصد گزارش شده بود (۱۷) که بیشتر از مقدار گزارش شده در مطالعه‌ی حاضر می‌باشد.

یافته‌ها

از ۳۷۲ نمونه‌ی بالینی مختلف، ۱۲۰ ایزوله‌ی بالینی *S. aureus* مقاوم به متی‌سیلین و پنی‌سیلین جدا سازی شد. در این بین، ۲۲ ایزوله (۱۸/۳۳ درصد) از زخم، ۱۶ ایزوله (۱۳/۳۸ درصد) از خون، ۵۴ ایزوله (۴۵/۰۰ درصد) از ادرار، ۱۱ ایزوله (۹/۱۶ درصد) از تراشه، ۱۴ ایزوله (۱۱/۶۶ درصد) از کاتتر و ۳ ایزوله (۲/۶۰۶ درصد) از سواپ به دست آمد. با استفاده از روش Kirby-Bauer disk diffusion، از مجموع ۱۸۸ ایزوله‌ی بالینی *S. aureus*، ۱۲۰ ایزوله (۶۳/۸ درصد) مقاوم به متی‌سیلین و ۱۰۵ ایزوله (۸۷/۵ درصد) نیز مقاوم به پنی‌سیلین بودند. در بررسی بیان ژن‌های *mecA* و *blaZ*، این ژن‌ها در نمونه‌های A12، A6، A4 و A3 دارای کاهش بیان بودند. این نمونه‌ها که از تراشه و سواپ بینی و کاتتر جدا شده بودند، با توجه به CT‌های به دست آمده نسبت به ژن مرجع *gmk*، با کاهش چند برابری بیان نسبت به سایر نمونه‌ها همراه بودند. سایر نمونه‌های مورد بررسی در این مطالعه که از خون، ادرار و زخم بودند، همگی با افزایش میزان بیان ژن‌های مورد مطالعه همراه بودند. ایزوله‌های A8، A9، A10 و A11 که همگی از نمونه‌های خون جدا شده بودند، دارای بیشترین بیان ژنی *mecA* و *blaZ* بودند (جدول ۱). نمودارهای مربوط به تکثیر دو ژن *mecA* و *blaZ* نشان دهنده‌ی فعالیت قابل توجه برخی از نمونه‌های بالینی در ΔRn ‌های بالا بود؛

جدول ۱. اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار REST نسخه‌ی ۲۰۰۸ برای ژن‌های *mecA* و *blaZ* در ایزوله‌های بالینی *Staphylococcus aureus*

μ -AACT		<i>mecA</i> gene		<i>blaZ</i> gene		<i>gmk</i> gene		PCR efficiency	
		1/1۲۰۰		1/۰۲۹۰		1/۰۹۰۰			
fold induction <i>mecA</i>	fold induction <i>blaZ</i>	Ct <i>mecA</i>	Ct <i>blaZ</i>	Ct <i>gmk</i>	Ct values				
۱	۱	۲۹/۰۵	۳۱/۴۳	۲۵/۰۴	Control				
۱/۰۹۷۶۱۱۳۴۹	۳/۶۵۵۹۵۰۷۹	۳۵/۱۱	۲۹/۰۴	۳۴/۰۹	A1				
۱/۲۶۱۹۹۴۸۶۹	۲/۸۸۸۹۹۸۰۳	۳۱/۴۳	۳۱/۸۸	۳۰/۸۷	A2				
۰/۸۷۰۹۶۲۴	۲/۵۲۶۸۷۳۲۸	۲۸/۳۳	۳۳/۴۹	۲۲/۴۹	A3				
۰/۵۲۶۸۰۲۲۵۹	۴/۸۴۷۶۹۸۶۱۹	۳۷/۷۷	۳۷/۷۷	۲۹/۰۷	A4				
۱/۰۹۷۶۱۱۳۴۹	۸/۰۶۱۹۷۶۵۱۱	۳۵/۱۱	۳۵/۱۱	۳۴/۰۹	A5				
۰/۸۰۵۰۸۴۵۸۶	۶/۱۰۱۷۰۸۱۵۱	۳۵/۴۸	۳۵/۴۸	۳۰/۹۸	A6				
۱/۱۹۵۳۹۰۵۴۱	۶/۶۵۵۱۵۳۷۹	۳۱/۸۴	۳۱/۸۴	۳۰/۷۸	A7				
۲/۶۱۴۶۸۳۶۱۴	۴/۵۳۹۷۴۰۳۸۳	۱۸/۰۹	۱۸/۰۹	۲۱/۷۸	A8				
۱/۵۰۷۰۰۲۶۳۱	۶/۲۹۵۰۸۰۸۸۷	۲۸/۵۴	۲۸/۴۵	۲۹/۰۱	A9				
۱/۸۱۷۳۶۱۷۴۳	۶/۱۹۹۶۹۵۴۷۲	۲۶/۰۶	۲۶/۰۶	۲۸/۰۴	A10				
۲/۱۶۷۲۱۰۳۰۱	۳/۶۸۰۸۱۷۱۱۷	۱۷/۸۳	۱۷/۸۳	۱۹/۲۶	A11				
۰/۶۳۹۱۱۳۷۰۲	۳/۵۷۳۲۷۵۸۳۱	۳۱/۸۹	۳۱/۸۹	۲۳/۵۸	A12				
۱/۴۴۳۷۸۱۲۱۶	۳/۹۶۱۳۸۹۶۱	۲۳/۴۹	۲۳/۴۹	۲۱/۹۹	A13				
۱/۲۰۷۱۷۲۲۳۶	۵/۳۴۱۷۳۵۰۵۳	۲۹/۱۳	۲۹/۱۳	۲۷/۳۳	A14				
۲/۰۲۷۸۵۸۶۲۳	۱/۴۴۱۲۸۴۲۳۷	۷/۵۵	۷/۵۵	۴/۹۷	A15				

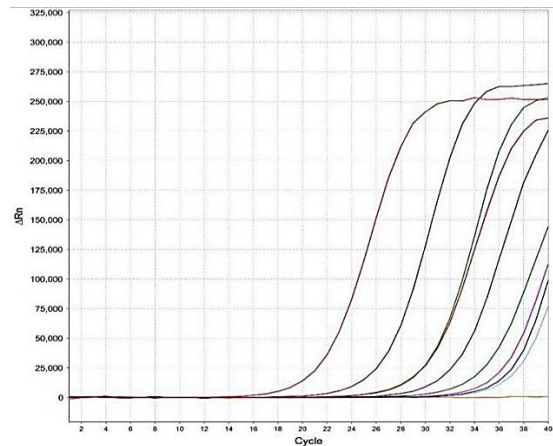
CT: Cycle threshold

کرده است (۲۰). از این رو، نتایج حاصل، با نتایج به دست آمده در مطالعه‌ی پیش گفته (۲۰)، هم‌خوانی کامل دارد. اطلاعات حاصل از این مطالعه در مورد میزان بیان ژن *blaZ* در ایزوله‌های بالینی *S. aureus* مقاوم به بتالاکتام‌ها، مشخص کرد که ممکن است در برخی موارد، کاهش میزان بیان ژن *mecA* و *blaZ* یک سو نباشد.

در مطالعه‌ای که Pence و همکاران در آمریکا انجام دادند، مشخص شد که حضور و فعالیت ژن *blaZ* به عوامل مختلفی ارتباط دارد. یکی از این موارد را می‌توان میزان دز داروهای مصرفی برای از بین بردن عفونت ناشی از *Staphylococcus* دانست. این در حالی است که حضور برخی زیر واحدهای *blaZ* نیز می‌تواند در میزان بیان ژن *mecA* مؤثر باشد (۲۱). آنالیزهای آماری حاصل از این بررسی، نشان دهنده‌ی حضور یک ارتباط معنی‌دار بین نوع نمونه‌ی بالینی و ایزوله‌های جدا شده بود؛ به طوری که در همه‌ی نمونه‌های خون، ادرار و زخم که با بیشترین دز دارویی درمان می‌شدند، افزایش چند برابری ژن‌های *mecA* و *blaZ* مشاهده شد. در مطالعه‌ای که Lim و همکاران در استرالیا و انگلیس انجام دادند، مشخص شد که یکی دیگر از عوامل دخیل در بروز ژن *mecA* عوامل محیطی و جغرافیایی می‌باشند؛ به طوری که این شرایط متفاوت، سبب ایجاد اختلاف در کاست ژنی *mec* شده است و با ایجاد جهش‌های مختلف در این قسمت، مقاومت‌هایی با تظاهرات خاص در سویه‌های *S. aureus* را می‌توان مشاهده کرد (۲۲).

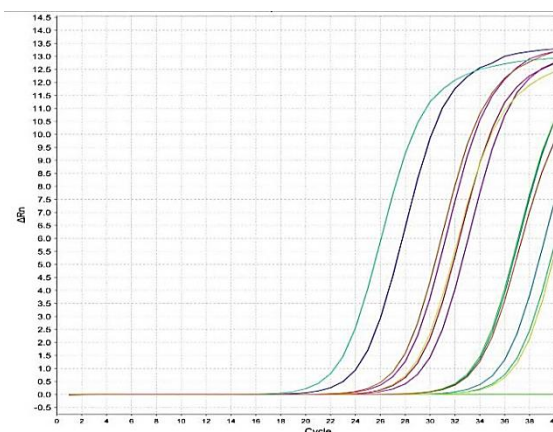
از اطلاعات حاصل از این پژوهش، مشخص شد که بیان ژن *blaZ* که توسط پلاسمید قابلیت انتقال دارد، نسبت به ژن *mecA* که توسط یک کاست کروموزومی حمل می‌شود، به مراتب بیشتر است. این امر، نشان دهنده‌ی فعالیت بسیار قابل توجه ژن‌های پلاسمیدی در مقابل ژن‌های کروموزومی است. چنین موردی را می‌توان با توجه به الگوی ژن‌های نمونه‌های A3، A6 و A12 توجیه نمود؛ به گونه‌ای که در این نمونه‌ها که میزان بیان ژن *mecA* منفی بود، در کنار آن میزان بیان ژن *blaZ* دارای یک جهش چند برابری بود. نتایج همسو با نتایج مطالعه‌ی حاضر را می‌توان در مطالعات Uliczka و همکاران در کشور آلمان (۲۳) و نیز Bowers و همکاران در کشور آمریکا (۲۴) مشاهده کرد.

این مطالعه، نشان داد که ایزوله‌های *S. aureus* عامل عفونت در اندام‌های خاص مانند خون و دستگاه ادراری، که نیاز به دزهای بالای آنتی‌بیوتیک جهت درمان دارند، دارای الگوی بیانی متفاوتی بودند. این امر را باید با الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک و دزهای درمانی که نقش مؤثری بر حضور و فعالیت برخی ژن‌های پایه‌ای دارند، مرتبط دانست. همچنین، با توجه به محدودیت‌های بررسی حاضر، لازم است مطالعات بیشتری در زمینه‌ی اثبات ارتباط بین حضور و میزان بیان ژن‌های مختلف در ایزوله‌های گرفته شده از نمونه‌های بالینی مختلف، انجام شود.



شکل ۱. منحنی حاصل از تکثیر موفقیت‌آمیز ژن *mecA* در نمونه‌های مختلف *Staphylococcus aureus* مقاوم به متی‌سیلین. مقدار حد آستانه برای تمامی مراحل ۰/۰۰۱ در نظر گرفته شده است.

در مطالعه‌ی حاضر نیز نمونه‌هایی که از عفونت‌های مختلف بیماران زن گرفته شده بود، الگوی رفتاری-ژنتیکی به مراتب متفاوتی داشتند. این امر، می‌تواند احتمال ارتباط حضور عوامل مرتبط با



شکل ۲. منحنی حاصل از تکثیر موفقیت‌آمیز ژن *blaZ* در ایزوله‌های مختلف *Staphylococcus aureus* مقاوم به پنی‌سیلین. مقدار حد آستانه برای تمامی مراحل ۰/۰۰۱ در نظر گرفته شده است.

تفاوت‌های جنسیتی و دخالت این عوامل در میزان مقاومت را به میان بکشد که از این لحاظ، با یافته‌های مطالعه‌ی Arede و همکاران همسو می‌باشد (۱۹). در مطالعه‌ی دیگری که توسط Arede و همکاران انجام شد، الگوی متفاوت‌تری از بیان و نقش عوامل متفاوت‌تری را مطرح کردند؛ به این صورت که در نمونه‌های دارای بیان افزایشی از نظر حضور ژن‌های دخیل در کد شدن ژن *mecA* مانند ژن‌های *mecR* و *mecI* و *mecRI* نیز دارای الگوی بیانی متفاوتی بودند. در نمونه‌های A4، A6 و A12 که در این مطالعه بررسی شدند، کاهش بیان این ژن‌ها با هم بروز

علوم پزشکی همدان به انجام رسید. نویسندگان، مراتب تشکر و قدردانی خود را از این معاونت محترم ابراز می‌دارند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح هیأت علمی در سال ۱۳۹۵ به شماره‌ی ۹۵۱۰۱۴۵۹۶۲ است که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه

References

1. Becker K, Heilmann C, Peters G. Coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev* 2014; 27(4): 870-926.
2. Olsen JE, Christensen H, Aarestrup FM. Diversity and evolution of *blaZ* from *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57(3): 450-60.
3. Klingenberg C, Aarag E, Ronnestad A, Sollid JE, Abrahamsen TG, Kjeldsen G, et al. Coagulase-negative staphylococcal sepsis in neonates. Association between antibiotic resistance, biofilm formation and the host inflammatory response. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24(9): 817-22.
4. Raei F, Eftekhar F. Studying the presence of *blaZ* gene and β -lactamase production in clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis*. *Iran J Med Microbiol*. 2008; 2 (2) :35-41. [In Persian].
5. Martins A, Riboli DFM, Camargo CH, Pereira VC, de Almeida Sampaio R, de Souza da Cunha MLR. Antimicrobial resistance and persistence of *Staphylococcus epidermidis* clones in a Brazilian university hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013; 77(2): 164-8.
6. Khazaei S, Pourtahmaseby P, Kanani M, Madani SH, Malekianzadeh E. *Staphylococcus aureus* resistance to vancomycin: a six years survey, (2006-2012). *Med J Tabriz Univ Med Sci* 2014; 35(2): 40-5. [In Persian].
7. Taylor AR. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Prim Care* 2013; 40(3): 637-54.
8. Sahebhasagh R, Saderi H, Owlia P. The prevalence of resistance to methicillin in *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients by PCR method for detection of *mecA* and *nuc* genes. *Iran J Public Health* 2014; 43(1): 84-92.
9. Loncaric I, Kubber-Heiss A, Posautz A, Stalder GL, Hoffmann D, Rosengarten R, et al. *mecC*- and *mecA*-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from livestock sharing habitat with wildlife previously tested positive for *mecC*-positive MRSA. *Vet Dermatol* 2014; 25(2): 147-8.
10. Pereira LA, Harnett GB, Hodge MM, Cattell JA, Speers DJ. Real-time PCR assay for detection of *blaZ* genes in *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2014; 52(4): 1259-61.
11. Xu Z, Mkrtychyan HV, Cutler RR. Antibiotic resistance and *mecA* characterization of coagulase-negative staphylococci isolated from three hotels in London, UK. *Front Microbiol* 2015; 6: 947.
12. Tahmasebi H, Bokaeian M, Adabi J. Coagulase-negative, β -lactam, antibiotic resistance, methicillin resistance. *J Jahrom Univ Med Sci* 2016; 14(1): 55-63.
13. Fazzeli H, Arabestani MR, Esfahani BN, Khorvash F, Pourshafie MR, Moghim S, et al. Development of PCR-based method for detection of Enterobacteriaceae in septicemia. *J Res Med Sci* 2012; 17(7): 671-5.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI document M100-S25. Wayne, PA: CLSI; 2015.
15. Ares M. Bacterial RNA isolation. *Cold Spring Harb Protoc* 2012; 2012(9): 1024-7.
16. Chan WS, Chan TM, Lai TW, Chan JF, Lai RW, Lai CK, et al. Complementary use of MALDI-TOF MS and real-time PCR-melt curve analysis for rapid identification of methicillin-resistant staphylococci and VRE. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70(2): 441-7.
17. Robles BF, Nóbrega DB, Guimarães FF, Wanderley GG, Langoni H. Beta-lactamase detection in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* isolated from bovine mastitis. *Pesqui Vet Bras* 2014; 34: 325-8.
18. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 2001; 29(9): e45.
19. Arede P, Ministro J, Oliveira DC. Redefining the role of the beta-lactamase locus in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: beta-lactamase regulators disrupt the *MecI*-mediated strong repression on *mecA* and optimize the phenotypic expression of resistance in strains with constitutive *mecA* expression. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57(7): 3037-45.
20. Arede P, Oliveira DC. Proteolysis of *mecA* repressor is essential for expression of methicillin resistance by *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57(4): 2001-2.
21. Pence MA, Haste NM, Meharena HS, Olson J, Gallo RL, Nizet V, et al. Beta-Lactamase Repressor *BlaI* Modulates *Staphylococcus aureus* Cathelicidin Antimicrobial Peptide Resistance and Virulence. *PLoS One* 2015; 10(8): e0136605.
22. Lim TT, Coombs GW, Grubb WB. Genetic organization of *mecA* and *mecA*-regulatory genes in epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from Australia and England. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50(6): 819-24.
23. Uliczka F, Pisano F, Kochut A, Opitz W, Herbst K, Stolz T, et al. Monitoring of gene expression in bacteria during infections using an adaptable set of bioluminescent, fluorescent and colorimetric fusion vectors. *PLoS One* 2011; 6(6): e20425.
24. Bowers LM, Lapoint K, Anthony L, Pluciennik A, Filutowicz M. Bacterial expression system with tightly regulated gene expression and plasmid copy number. *Gene* 2004; 340(1): 11-8.

The Study of blaZ and mecA Gene Expression in Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Strains and the Relationship between the Gene Expression Patterns

Hamed Tahmasebi¹, Behruz Zeyni², Sanaz Dehbashi³, Hamid Motamedi⁴, Mahsa Vafaefar⁴, Fariba Keramat⁵, Mohammad Reza Arabestani⁶

Original Article

Abstract

Background: Resistance to beta-lactams is the most important feature in Staphylococcus aureus (S. aureus). There is a possibility that the amount of resistance and beta-lactam antibiotic resistance gene expression are different in Staphylococcus resistant strains. The aim of this study was to determine the expression of mecA and blaZ genes in methicillin-resistant S. aureus and the relationship between gene expression patterns.

Methods: In this experimental-analysis study, 120 clinical isolates of methicillin-resistant S. aureus were isolated from different clinical samples using phenotypic tests. To study the quality of the mecA and blaZ genes in resistant isolates, polymerase chain reaction (PCR) was used. In addition, the quantity of genes, SYBR-Green-1-based real-time PCR was applied. REST 2008 and SPSS software were used to analyze the data.

Findings: Out of 120 isolates of methicillin-resistant S. aureus, 105 isolates (87.5%) had blaZ gene. The most diverse gene expression changes in sample type were seen in blood and urine samples. So, the expression on the wound and urine clinical samples was dramatically more than the other sites. In addition, significant relationship was observed between the blaZ and mecA gene expression and the kind of clinical samples.

Conclusion: The results of this study suggested that different doses of antibiotics should be used to treat staphylococcal infections in different organs.

Keywords: Gene expression, Beta-lactams, Antibiotic resistance, Methicillin-resistant, Staphylococcus aureus

Citation: Tahmasebi H, Zeyni B, Dehbashi S, Motamedi H, Vafaefar M, Keramat F, et al. **The Study of blaZ and mecA Gene Expression in Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Strains and the Relationship between the Gene Expression Patterns.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(443): 1062-7.

1- Department of Microbiology, School of Medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

2- Department of Microbiology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

3- PhD Student, Department of Microbiology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

4- MSc Student, Department of Microbiology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

5- Professor, Brucellosis Research Centers, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

6- Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Corresponding Author: Mohammad Reza Arabestani, Email: mohammad.arabestani@gmail.com