مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۱۵/هفته چهارم بهمن ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۷/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۱۳

شیوع ژن لکوسیدین پنتون ولنتین در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران بیمارستان الزهرای (س) اصفهان

دکتر سید اصغر هوایی[۱]، مریم احمدپور[۲]، دکتر فرخنده پورسینا[۳]، میثم روزبهانی[۲]، بهناز اسدبیگی[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: لکوسیدین پنتون ولنتین (PVL یا Panton-Valentine leukocidin) یک توکسین گاما است که توسط استافیلوکوکوس اورئوس تولید می‌شود. این توکسین ضد غشای خارجی سلول‌های پلی‌مورفونوکلئور، مونوسیت‌ها و ماکروفاژها عمل می‌کند و باعث افزایش قدرت نفوذپذیری غشای سلولی و در نتیجه، تخریب لکوسیت‌ها و نکروز بافت می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی میزان شیوع ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس PVL مثبت و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها بود.

روش‌ها: در طی هشت ماه، ۱۳۰ ایزوله‌ی استافیلوکوکوس اورئوس از نمونه‌های بالینی بیمارستان الزهرای (س) اصفهان جمع‌آوری شد. ایزوله‌های دارای ژن PVL با استفاده از روش PCR (Polymerase chain reaction) شناسایی شد. مقاومت ایزوله‌ها نسبت به متی‌سیلین و سایر آنتی‌بیوتیک‌ها به روش انتشار از دیسک بررسی شد و از روش Agar screen برای تأیید ایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین استفاده شد.

یافته‌ها: از مجموع ۱۳۰ ایزوله‌ی استافیلوکوکوس اورئوس، ۶۱ ایزوله (۴۶/۹ درصد) مقاوم به متی‌سیلین (MRSA یا Methicillin-resistant Staphylococcus aureus) و ۶۹ ایزوله (۵۳/۰ درصد) حساس به متی‌سیلین (MSSA یا Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus) بود. ۳۰ ایزوله (۲۳/۰ درصد) از نظر وجود ژن PVI مثبت بود. از میان ایزوله‌های PVL مثبت، ۱۹ مورد (۶۳/۳ درصد) MSSA و ۱۱ مورد (۳۶/۷ درصد) MRSA بود.

نتیجه‌گیری: با وجود تأکید بر وجود ژن PVL در ایزوله‌های MRSA، ایزوله‌های MSSA نیز می‌توانند نقش مهمی در انتشار این ژن ایفا کنند و با توجه به این‌که تولید توکسین PVL در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس یک تهدید جدی برای سلامتی افراد محسوب می‌شود، تشخیص دقیق و سریع این ژن در باکتری فوق امری ضروری به حساب می‌آید. به نظر می‌رسد، دستیابی به یک روش سریع و تکرارپذیر در مراکز پزشکی برای کنترل عفونت با سویه‌های استافیلوکوکوس مولد PVL لازم و ضروری می‌باشد.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، لکوسیدین پنتون ولنتین، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

ارجاع: هوایی سید اصغر، احمدپور مریم، پورسینا فرخنده، روزبهانی میثم، اسدبیگی بهناز. **شیوع ژن لکوسیدین پنتون ولنتین در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران بیمارستان الزهرای (س) اصفهان.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۵): ۲۲۲۵-۲۲۱۷

مقدمه

پاتوژنیسیته‌ی عفونت‌های استافیلوکوکوس اورئوس مربوط به ترکیبات متنوع سطح باکتری شامل مولکول‌های ماتریکس چسبنده (مانند فاکتور توده‌ای کننده) و پروتئین‌های خارج سلولی (مانند کوآگولاز، همولیزین، انتروتوکسین، توکسین سندرم شوک سمی،

۱- استاد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- استادیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: مریم احمدپور
Email: ahmadpour2266@yahoo.com

اکسفولیاتیو و لکوسیدین پنتون ولنتین) می‌باشد (۱). لکوسیدین پنتون ولنتین (PVL یا Panton-Valentine leucocidin) یکی از مهم‌ترین فاکتورهای ویرولانس در استافیلوکوکوس اورئوس است (۳-۲). Panton و Valentine در سال ۱۹۳۲ توکسین لکوسیدین پنتون ولنتین را در سویه‌ی استافیلوکوکوس اورئوس V_8 که از یک بیمار مبتلا به فورونکلوزیس (Furunculosis) جدا شده بود، شناسایی کردند (۴). لکوسیدین پنتون ولنتین یک توکسین گاما در استافیلوکوکوس اورئوس و شامل دو جزء پروتئینی S (۳۸KDa) و F (۳۲KDa) است که تحت کنترل ژن‌های Luks/PV و Lukf/PV می‌باشد. این توکسین بر علیه غشای خارجی سلول‌های پلی‌مورفونوکلئور، مونوسیت‌ها و ماکروفاژهای انسانی عمل می‌کند و بسته به غلظت توکسین، باعث باز شدن کانال‌های کلسیم و نکروز و آپوپتوزیس لکوسیت‌های انسانی می‌شود (۷-۵).

لکوسیدین پنتون ولنتین به شدت با سویه‌های CA-MRSA (Community-acquired-Methicillin-resistant Staphylococcus aureus) در ارتباط است، اما ژن‌های LUKS/LUKF-PV می‌توانند توسط سویه‌های MSSA (Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus) نیز حمل شوند (۸). سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس PVL مثبت دارای ویرولانس بالایی هستند و بیشتر با فورانکل، آبسه‌های پوستی و عفونت‌های نکروتیک شدید همراه می‌باشند (۵-۱). یکی دیگر از دلایل اهمیت استافیلوکوکوس اورئوس، مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی شاخص آن است. امروزه استافیلوکوک‌ها به بیشتر داروهای بتالاکتام (β-Lactam) مقاوم هستند و حدود ۳۰ تا بیش از ۵۰ درصد آن‌ها به متی‌سیلین مقاوم شده‌اند. نتایج به دست آمده از مطالعات مختلف نشان دهنده‌ی افزایش انواع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin-resistant Staphylococcus aureus یا MRSA) می‌باشد (۱۰-۹). استافیلوکوکوس اورئوس PVL مثبت در سال‌های اخیر توجه زیادی را به خود جلب کرده است (۱۱). با توجه به اهمیت این سویه‌ها، مطالعه‌ی حاضر به بررسی شیوع ژن پنتون ولنتین لکوسیدین در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در آن‌ها پرداخت.

روش‌ها

در این مطالعه ۱۳۰ ایزوله‌ی استافیلوکوکوس اورئوس در طی هشت ماه از نمونه‌های بالینی مختلف [زخم، خون، آبسه، ادرار، تراشه، CSF (Cerebrospinal fluid) و نمونه‌های اخذ شده از کاتتر] بیمارستان الزهرای (س) اصفهان جمع‌آوری شد. شناسایی فنوتیپی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس توسط تست‌های رنگ‌آمیزی گرم، بررسی کاتالاز، کوآگولاز، DNase (Deoxyribonuclease) و کشت روی محیط Mannitol salt agar صورت گرفت و نمونه‌های مورد تأیید تا انجام آزمایش‌های بعدی در محیط BHI (Brain heart infusion broth) حاوی ۱۵ درصد گلیسرول و در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. روش انتشار از دیسک Kirby-Bauer جهت بررسی مقاومت دارویی اولیه مورد استفاده قرار گرفت.

حساسیت ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به دیسک‌های تتراسایکلین، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، اگزاسیلین، ریفامپین، کوتریموکسازول،

آمپی‌سیلین، کلیندامایسین و ونکومایسین (خریداری شده از شرکت HiMedia هند) بر روی محیط Mueller-Hinton agar و بر اساس استانداردهای CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) بررسی (۱۲) و سوش‌های حساس و مقاوم مشخص گردید.

تعیین حساسیت نسبت به متی‌سیلین به روش Agar screen: برای جداسازی ایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین از روش Agar screen به عنوان یک روش مکمل در کنار روش انتشار از دیسک استفاده شد. طبق استاندارد CLSI، محیط Mueller-Hinton agar (حاوی ۴ درصد نمک و ۶ میکروگرم در میلی‌لیتر اگزاسیلین) تهیه شد (۱۲). ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون معادل با ۰/۵ McFarland که از کشت ۲۴ ساعته‌ی باکتری تهیه شده بود، به صورت نقطه‌ای روی محیط‌ها تلقیح گردید. سپس پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد از گذشت ۲۴ ساعت، هر گونه رشدی در محل تلقیح به عنوان مقاومت در نظر گرفته شد. در این روش سویه‌های ATCC25923 و ATCC33591 به عنوان شاهد منفی و مثبت استفاده گردید (۱۴-۱۳).

ارزیابی ژنوتیپی سویه‌ها: استخراج DNA به روش Phenol-Chloroform به شرح زیر انجام شد:

۵۰۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی در یک میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شد و یک لوپ از کشت ۲۴ ساعته‌ی باکتری به آن اضافه و به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. مایع رویی را خالی کرده و ۵۰۰ میکرولیتر Lysis Buffer به میکروتیوب اضافه شد. میکروتیوب به مدت ۲۰ دقیقه در بن‌ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر فنل (Phenol) به میکروتیوب اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. مایع رویی به میکروتیوب جدید منتقل شد. در مرحله‌ی بعد ۵۰۰ میکرولیتر کلروفرم (Chloroform) به آن افزوده و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. مایع رویی به میکروتیوب جدید منتقل و یک میلی‌لیتر الکل ۹۶ درصد و ۱۵۰ میکرولیتر محلول کلرید پتاسیم سه مولار به میکروتیوب اضافه و میکروتیوب به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفوژ شد.

DNA (Deoxyribonucleic acid) رسوب یافته در ته میکروتیوپ سه بار با الکل ۷۰ درصد شستشو داده شد. پس از اتمام این مرحله، DNA به صورت توده‌ی سفید رنگ در ته میکروتیوب قابل مشاهده بود. میکروتیوپ به مدت ۳۰ دقیقه در Hot plate گذاشته شد تا الکل باقی‌مانده به خوبی تبخیر شود. در نهایت ۵۰ میکرولیتر آب مقطر به میکروتیوب‌ها اضافه و میکروتیوب در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۵).

انجام روش PCR (Polymerase chain reaction) برای تشخیص ژن PVL: دو پرایمر Forward و Reverse به وسیله‌ی نرم‌افزار Gene runner طراحی و توسط نرم‌افزار آنلاین Oligo Analysis و سایت NCBI (National center for biotechnology information) ارزیابی شد.

پرایمر LukS-PV-F شامل توالی

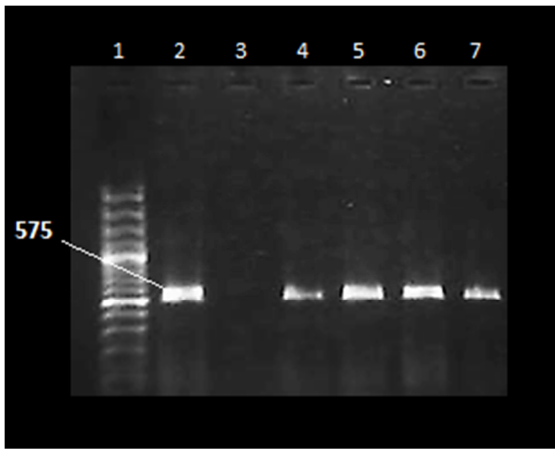
5´ AGAAGATACAAGTAGCGATAAGTG 3´ و پرایمر LukS-PV-R شامل توالی 5´ AAGGATTGAAACCACTGTGTAC 3´ و هر دو دارای ۵۷۵ جفت باز بودند. جهت بررسی حضور ژن PVL، روش PCR بر روی همه‌ی ایزوله‌ها انجام شد.

واکنش PCR برای شناسایی ژن PVL با استفاده از دستگاه ترموسایکلر و با مخلوط واکنش حاوی ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X، ۰/۷۵ میکرولیتر کلرید منیزیم (۲۵ میلی‌مولار)، ۰/۵ میکرومول dNTPs (Deoxynucleoside triphosphates)، ۰/۲۵ واحد آنزیم Taq پلیمراز، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر، ۲ میکرولیتر DNA الگو (با غلظت ۲۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر) و ۱۷ میکرولیتر آب مقطر در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام شد. برنامه‌ی اجرایی چرخه‌های PCR شامل واسرشتگی اولیه (Denaturation) در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه‌ی تکثیر شامل واسرشتگی در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمرها به DNA الگو (Annealing) در دمای ۵۵/۸ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، طویل شدن رشته‌ی الگو (Extension) در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و طویل شدن نهایی (Final extension) به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد بود.

برای مشاهده‌ی طول محصول مورد نظر از روش الکتروفورز و ژل آگاروز ۱/۵ درصد استفاده شد. نتایج الکتروفورز محصول PCR در شکل ۱ آمده است.

یافته‌ها

نتایج آنتی‌بیوگرام ۱۳۰ ایزوله‌ی استافیلوکوکوس اورئوس از نظر مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی در جدول ۱ آمده است.



شکل ۱. الکتروفورز محصول PCR (Polymerase chain reaction) برای ژن PVL (Panton-Valentine leukocidin)
ستون ۱ = مارکر ۱۰۰ جفت باز؛ ستون ۲ = سویه‌ی شاهد مثبت (NCTC 13300)؛ ستون ۳ = سویه‌ی شاهد منفی؛ ستون ۴ = سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس PVL مثبت.

تعیین حساسیت نسبت به اگزاسیلین به روش Agar screen: با استفاده از این روش مشخص شد که ۶۱ ایزوله (۴۶/۹ درصد) از ۱۳۰ ایزوله‌ی مورد بررسی مطالعه‌ی حاضر دارای مقاومت به حداقل غلظت ۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر نسبت به آنتی‌بیوتیک اگزاسیلین بودند و MRSA محسوب شدند. از مجموع ۱۳۰ ایزوله‌ی استافیلوکوکوس اورئوس، ۳۰ ایزوله (۲۳/۰ درصد) از نظر وجود ژن PVL مثبت گزارش گردید. در میان ایزوله‌های PVL مثبت، ۱۹ ایزوله (۶۳/۳ درصد) MSSA و ۱۱ ایزوله (۳۶/۷ درصد) MRSA بودند. بیشترین ایزوله‌های PVL مثبت به جدایه‌های پوستی (آبسه و زخم) اختصاص داشت (جدول ۲).

جدول ۱. نتایج آنتی‌بیوگرام ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان الزهرای (س) اصفهان

نوع آنتی‌بیوتیک	مقاومت در ایزوله‌های MRSA (تعداد = ۶۱)	مقاومت در کل ایزوله‌ها (تعداد = ۱۳۰)
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
کلیندامایسین	۴۹ (۸۰/۳)	۵۱ (۳۹/۲)
ریفامپین	۴۵ (۷۳/۸)	۴۹ (۳۷/۷)
تتراسایکلین	۶۰ (۹۸/۴)	۶۸ (۵۲/۳)
جنتامایسین	۳۵ (۵۷/۴)	۴۰ (۳۰/۸)
اگزاسیلین	۶۱ (۱۰۰)	۶۱ (۴۶/۹)
کوتریموکسازول	۱۷ (۲۷/۹)	۱۶ (۱۲/۳)
سیپروفلوکساسین	۳۶ (۵۹/۰)	۳۸ (۲۹/۲)
آمپی‌سیلین	۴۴ (۷۲/۱)	۴۵ (۳۴/۶)
ونکومایسین	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)

MRSA: Methicillin-resistant Staphylococcus aureus

جدول ۲. توزیع فراوانی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس **PVL** مثبت جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان الزهرای (س) اصفهان به تفکیک نوع نمونه و مقاومت به متی‌سیلین

نوع عفونت	تعداد ایزوله‌ها	ایزوله‌های PVL مثبت	ایزوله‌ها در هر گروه			
			MSSA		MRSA	
		تعداد (درصد)	جمع [تعداد (درصد)]	PVL مثبت [تعداد (درصد)]	جمع [تعداد (درصد)]	PVL مثبت [تعداد (درصد)]
زخم	۴۵	۱۱ (۲۴/۴)	۲۴ (۵۳/۳)	۷ (۲۹/۱)	۲۱ (۴۶/۷)	۴ (۱۹/۰)
خون	۲۲	۷ (۳۱/۸)	۱۴ (۶۳/۶)	۴ (۲۸/۶)	۸ (۳۶/۴)	۳ (۳۷/۵)
ادرار	۲۱	۶ (۲۸/۶)	۹ (۴۲/۸)	۴ (۴۴/۴)	۱۲ (۵۷/۱)	۲ (۱۶/۷)
آبسه	۱۴	۴ (۲۸/۶)	۱۰ (۷۱/۴)	۳ (۳۰/۰)	۴ (۲۸/۶)	۱ (۲۵/۰)
تراشه	۹	۱ (۱۱/۱)	۵ (۵۵/۵)	۰ (۰/۰)	۴ (۴۴/۴)	۱ (۲۵/۰)
CSF	۵	۱ (۲۰/۰)	۳ (۶۰/۰)	۱ (۳۳/۳)	۲ (۴۰/۰)	۰ (۰/۰)
کاتتر	۷	۰ (۰/۰)	۲ (۲۸/۶)	۰ (۰/۰)	۵ (۷۱/۴)	۰ (۰/۰)
کشت گلو	۳	۰ (۰/۰)	۱ (۳۳/۳)	۰ (۰/۰)	۲ (۶۶/۷)	۰ (۰/۰)
سایر نمونه‌ها	۴	۰ (۰/۰)	۱ (۲۵/۰)	۰ (۰/۰)	۳ (۷۵/۰)	۰ (۰/۰)

MRSA: Methicillin-resistant Staphylococcus aureus; MSSA: Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus; PVL: Panton-Valentine leucocidin; CSF: Cerebrospinal fluid

بحث

PVL فاکتور ویرولانسی است که توسط یک باکتریوفاژ حمل می‌شود و قابل انتقال به دیگر استافیلوکوک‌ها می‌باشد (۱۶-۵). سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس PVL مثبت ویرولانس بالایی دارند و مسؤول عفونت‌های شدیدی مانند عفونت مغز استخوان، مفصل و پنومونی نکروز دهنده هستند (۱۷-۵). بنابراین تشخیص سریع و کنترل به موقع سویه‌های مولد ژن PVL امری ضروری به حساب می‌آید.

ملا عباس‌زاده و همکاران شیوع ژن PVL را در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس بررسی کردند و

از مجموع ۱۰۰ سویه‌ی مورد بررسی، ۱۸ سویه (۱۸/۰ درصد) از نظر وجود ژن PVL مثبت گزارش شد که از این مجموع ۹۴/۴ درصد MRSA و ۵/۶ درصد MSSA بود. بیشترین سویه‌های PVL مثبت به سویه‌های جدا شده از خون و ادرار اختصاص داشت و در نمونه‌های جدا شده از ترشحات بینی، تراشه، آبسه و کاتتر سویه PVL مثبت گزارش نشد (۱۸). در نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر نیز بیشترین ایزوله‌های PVL مثبت مربوط به نمونه‌های زخم (۳۶/۷ درصد)، خون (۲۳/۳ درصد) و ادرار (۲۰/۰ درصد)، اما ایزوله‌های PVL مثبت بیشتر MSSA بود.

در مطالعه‌ی خسروی و همکاران شیوع ژن PVL در ایزوله‌های MRSA برابر با ۷/۲ درصد و در ایزوله های MSSA برابر با ۳۳/۳ درصد گزارش شد (۱۹) که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مطابقت داشت. در تحقیقی در انگلستان کمتر از ۲/۰ درصد ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس، PVL مثبت بودند که ۶۵/۰ درصد در پوست و بافت نرم یافت شد (۵). به تازگی بیشتر تحقیقات بر روی سویه‌های PVL مثبت MRSA متمرکز است؛ در صورتی که عفونت‌های PVL مثبت MSSA نیز نقش مهمی در انتشار سویه‌های PVL مثبت ایفا می‌کنند. حدود ۶۰/۰ درصد کل سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس PVL مثبت در انگلستان در پنج سال گذشته حساس به متی‌سیلین بودند (۱۷). نکته‌ی اساسی در مطالعه‌ی حاضر نیز نسبت بالای PVL مثبت در سویه‌های MSSA است.

مطالعه‌ی Cupane و همکاران نشان داد که ۷۵/۰ درصد ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس، واجد ژن PVL بودند (۵) و بیشتر آن‌ها (۶۰/۷ درصد) مانند مطالعه‌ی حاضر MSSA بودند. Brown و همکاران در پژوهش خود ۱۰۵۵ سویه‌ی استافیلوکوکوس اورئوس را از نظر وجود ژن‌های LukSF/PV بررسی کردند. ۳۷۷ سویه (۳۵/۷ درصد) این ژن را داشتند (۱۱) که بر خلاف مطالعه‌ی حاضر بیشتر سویه‌های PVL مثبت (۸۹/۰ درصد)، MRSA و تنها ۱۱/۰ درصد MSSA بودند. به طور کلی تفاوت در نتایج این مطالعات می‌تواند به دلیل اختلاف در منطقه‌ی جغرافیایی و نوع نمونه‌ی اخذ شده باشد.

بر اساس مطالعه‌ی حاضر، ۴۶/۹ درصد ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده به متی‌سیلین مقاوم بودند. مطالعه‌ی Orrett و Land نشان داد که از ۲۴۳۰ سویه‌ی استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از منابع بیمارستانی، ۲۰/۸ درصد MRSA می‌باشند (۲۰). دارابی و همکاران در مطالعه‌ی خود بر روی سویه‌های جدا شده از بیماران و کارکنان بیمارستانی ارتش، میزان مقاومت به متی‌سیلین را ۹۰/۰ درصد گزارش نمودند (۱۵). شریعتی و همکاران نیز میزان سویه‌های MRSA را در بین ۱۹۶ سویه‌ی استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی ۴۹/۰ درصد بیان کردند (۲۱). پژوهشی بر روی ۷۰ سویه‌ی استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد بیشترین مقاومت سویه‌های MRSA به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰۰ درصد)، تتراسایکلین (۷۴/۲ درصد)، اریترومایسین (۶۸/۵ درصد)، کوتریموکسازول (۶۸/۵ درصد) و ریفامپین (۱۱/۴ درصد) می‌باشد (۱۵) که مقاومت به ریفامپین در مقایسه با مطالعه‌ی حاضر بیشتر بود.

تحقیق Miller و همکاران بر روی ۱۸۰ سویه‌ی استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد که ۱۰۸ سویه (۶۰/۰ درصد) MRSA بودند و مقاومت سویه‌های MRSA به تتراسایکلین ۱۹/۰ درصد و به کلیندامایسین ۵/۰ درصد بود (۲۲). در مطالعه‌ی حاضر مقاومت به کلیندامایسین و تتراسایکلین بیشتر از تحقیق Miller و همکاران (۲۲) بود. ۳۶/۰ درصد سویه‌های مورد بررسی در مطالعه‌ی Ionescu و همکاران MRSA بودند و مقاومت ایزوله‌های MRSA به تتراسایکلین ۹۹/۰ درصد، ریفامپین ۶۹/۰ درصد، جنتامایسین ۶۳/۰ درصد، سیپروفلوکساسین ۵۸/۰ درصد و کوتریموکسازول ۵/۰ درصد گزارش شد (۲۳) که با نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر مطابقت داشت.

استافیلوکوک‌ها به دلیل استفاده‌ی بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها، وجود توانایی بالا در تبادلات ژنتیکی و حضور انواع پلاسمیدهای مقاومتی به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان مقاومت نشان می‌دهند (۸). نتایج به دست آمده بر این نکته تأکید می‌کند که میزان حساسیت یا مقاومت سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس به آنتی‌بیوتیک‌های رایج مصرفی در نقاط مختلف جغرافیایی جهان متفاوت است و با توجه به کاهش روزافزون حساسیت این سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها، کنترل بهینه در مصرف آن‌ها نقش مهمی در جلوگیری از سوش‌های مقاوم خواهد داشت.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از استادان محترم گروه میکروبیولوژی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و به خصوص جناب آقای دکتر خان‌احمد تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing Staphylococcus aureus in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis 1999; 29(5): 1128-32.
2. Supersac G, Prevost G, Piemont Y. Sequencing of leucocidin R from Staphylococcus aureus P83 suggests that staphylococcal leucocidins and gamma-hemolysin are members of a single, two-component family of toxins. Infect Immun 1993; 61(2): 580-7.
3. Clark J. A brief review of Panton-Valentine leukocidin producing staphylococcal infections in the intensive therapy unit. Current Anaesthesia and Critical Care 19(5): 330-2.
4. Colin DA, Mazurier I, Sire S, Finck-Barbancon V. Interaction of the two components of leukocidin from Staphylococcus aureus with human polymorphonuclear leukocyte membranes: sequential binding and subsequent activation. Infect Immun 1994; 62(8): 3184-8.
5. Cupane L, Pugacova N, Berzina D, Cauce V, Gardovska D, Miklasevics E. Patients with Panton-Valentine leukocidin positive Staphylococcus aureus infections run an increased risk of longer hospitalisation. Int J Mol Epidemiol Genet 2012; 3(1): 48-55.
6. John JF, Jr., Lindsay JA. Clones and drones: do variants of Panton-Valentine leukocidin extend the reach of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus? J Infect Dis 2008; 197(2): 175-8.
7. 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.
8. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, et al. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus carrying Panton-Valentine leukocidin

genes: worldwide emergence. Emerg Infect Dis 2003; 9(8): 978-84.
9. Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: Staphylococcus aureus in the antibiotic era. Nat Rev Microbiol 2009; 7(9): 629-41.
10. Lindsay JA. Evolution of Staphylococcus aureus and MRSA during outbreaks. Infect Genet Evol 2014; 21: 548-53.
11. Brown ML, O'Hara FP, Close NM, Mera RM, Miller LA, Suaya JA, et al. Prevalence and sequence variation of panton-valentine leukocidin in methicillin-resistant and methicillin-susceptible staphylococcus aureus strains in the United States. J Clin Microbiol 2012; 50(1): 86-90.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 22nd informational supplement; CLSI document M100-S22. Wayne, PA: CLSI; 2012.
13. Rezazadeh M, Yousefi Mashouf R, Sarmadyan H, Ghaznavi-Rad E. Antibiotic profile of methicillin-resistant Staphylococcus aureus with multiple-drug resistances isolated from nosocomial infections in Vali-Asr Hospital of Arak. J Arak Univ Med Sci 2013; 16(2): 29-37. [In Persian].
14. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. CLSI document M02-A11. 11th ed. Wayne, PA: CLSI; 2012.
15. Darabi N, Habibollahi H, Shahbabian K. Molecular epidemiology of Staphylococcus aureus Isolated from patients and personnel in Army hospital. J Army Univ Med Sci I R Iran 2010; 8(3): 193-9. [In Persian].
16. O'Hara FP, Guex N, Word JM, Miller LA, Becker JA, Walsh SL, et al. A geographic variant of the Staphylococcus aureus Panton-Valentine leukocidin toxin and the origin of community-associated methicillin-resistant S. aureus USA300. J Infect Dis 2008; 197(2): 187-94.
17. Otokunefor K, Sloan T, Kearns AM, James R. Molecular characterization and panton-valentine leucocidin typing of community-acquired methicillin-sensitive Staphylococcus aureus clinical isolates. J Clin Microbiol 2012; 50(9): 3069-72.
18. Molla-abbaszadeh H, Mobayen H, Mirzaei H. Identification of pantonvalentine leukocidin (pvl) genes in staphylococcus aureus isolated from ipatients of Emam Reza and Shohada Hospitals of Tabriz by real-time PCR. Iran J Med Microbiol 2013; 6(4): 72-80. [In Persian].
19. Khosravi AD, Hoveizavi H, Farshadzadeh Z. The prevalence of genes encoding leukocidins in Staphylococcus aureus strains resistant and sensitive to methicillin isolated from burn patients in Taleghani Hospital, Ahvaz, Iran. Burns 2012; 38(2): 247-51.
20. Orrett FA, Land M. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus prevalence: current susceptibility patterns in Trinidad. BMC Infect Dis 2006; 6: 83.
21. Shariati L, Validi M, Tabatabaiefar MA, Karimi A, Nafisi MR. Comparison of real-time PCR with disk diffusion, agar screen and E-test methods for detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Curr Microbiol 2010; 61(6): 520-4.
22. Miller LG, Perdreau-Remington F, Bayer AS, Diep B, Tan N, Bharadwa K, et al. Clinical and epidemiologic characteristics cannot distinguish community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection from methicillin-susceptible S. aureus infection: a prospective investigation. Clin Infect Dis 2007; 44(4): 471-82.
23. Ionescu R, Mediavilla JR, Chen L, Grigorescu DO, Idomir M, Kreiswirth BN, et al. Molecular characterization and antibiotic susceptibility of Staphylococcus aureus from a multidisciplinary hospital in Romania. Microb Drug Resist 2010; 16(4): 263-72.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 09.10.2014
Vol. 32, No. 315, 4th Week, February 2015
Accepted: 03.01.2015

The Prevalence of Panton-Valentine Leukocidin Gene in Staphylococcus Aureus Isolated from Alzahra Hospital, Isfahan, Iran

Sayed Asghar Havaei PhD[1], Maryam Ahmadpour[2], Farkhondeh Poursina PhD[3], Meysam Ruzbahani[2], Behnaz Assadbeigi[2]

Original Article

Abstract

Background: Panton-Valentine leukocidin (PVL) is a Staphylococcus aureus gamma toxin. This toxin targets the outer membrane of polymorphnuclear cells, monocytes and macrophages. This toxin increases the cell membrane permeability that result degradation and necrosis of leukocytes. The aim of this study was to determine the frequency of PVL-positive Staphylococcus aureus and also, to determine antibiotic resistance of the isolates.

Methods: The total of 130 isolates were isolated and detected as Staphylococcus aureus during the period of 8 months in Alzahra Hospital, Isfahan, Iran. Then, polymerase chain reaction (PCR) method was used to detect PVL gene. The antibiotic susceptibility of all isolates to methicillin was determined using disk diffusion and agar screening methods.

Findings: Of 130 isolates, 61 (46.92%) were methicillin-resistant and 69 (53.08%) methicillin-susceptible Staphylococcus aureus isolates (MRSA and MSSA, respectively). We found that 23.08% of isolates (30/130) were positive for PVL; of them, 11 (36.33%) were of MRSA and 19 (63.67%) were of MSSA isolates.

Conclusion: Despite the existence of PVL genes in MRSA isolates, MSSA isolates can also play an important role in the dissemination of this gene. Since, PVL toxin producing strains of Staphylococcus aureus are of serious threat for health, rapid and accurate detection of gene is necessary. So, it seems that achieving a rapid and repeatable method for medical centers, will help the timely diagnosis and control of PVL-producing strains.

Keywords: Staphylococcus aureus, Panton-Valentine leukocidin, Antibiotic resistance

Citation: Havaei SA, Ahmadpour M, Poursina F, Ruzbahani M, Assadbeigi B. **The Prevalence of Panton-Valentine Leukocidin Gene in Staphylococcus Aureus Isolated from Alzahra Hospital, Isfahan, Iran.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(315): 2217-25

1- Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- MSc Student, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Maryam Ahmadpour, Email: ahmadpour2266@yahoo.com