DOI: 10.22100/jkh.v11i1.1199

مجله دانش و تندرستی، دوره ۱۱، شماره ۱، بهار ۱۳۹۵

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود

مقاله پژوهشی

بررسی ارتباط مقاومت آنتی‌بیوتیکی با agr تایپ در استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از زخم سوختگی بیماران بستری در سطح شهر تهران

محمدصادق وزیری[۱]، مهدی میرزایی[*۲]، حمید کلالیان‌مقدم[۳]، مژگان فضلی[۴]، سید سجاد خرم روز[۵]، داود دربان ساروخلیل[۶]، سمیه یسلیانی‌فرد[۷]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان- دانشکده علوم پایه- گروه زیست‌شناسی- کارشناس ارشد.

۲- دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- دانشکده پزشکی- گروه علوم پایه- استادیار.

۳- دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- دانشکده پزشکی- گروه فیزیولوژی- استادیار.

۴- دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- دانشکده پزشکی- کارشناس آزمایشگاه.

۵- دانشگاه علوم پزشکی یاسوج- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی- استادیار.

۶- دانشگاه علوم پزشکی ایران- دانشکده پزشکی- گروه میکروبیولوژی. استادیار.

۷- دانشگاه علوم پزشکی البرز- دانشکده پزشکی- گروه میکروبیولوژی. استادیار.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۱۴، **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۴/۸/۱۲

چکیده

مقدمه: *استافیلوکوک عامل عمده عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان و جامعه محسوب می‌شود. این باکتری واجد یک سیستم تنظیم‌کننده گلوبال (accessory gene regulator) است که در تنظیم تعداد بیشماری از عوامل کلونیزاسیون و بیماری‌زایی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی نقش دارد. استافیلوکوک همچنین چهار پلی پپتید اصلی دارد که متغیر بودن توالی‌های آن باعث می‌شود تا حداقل چهار گروه agr در استافیلوکوک اورئوس ایجاد شود. هدف این مطالعه تعیین ارتباط الگوی آنتی‌بیوگرام با الگوی agr تایپ ایزوله‌ها می‌باشد.*

مواد و روش‌ها: *در این مطالعه، شناسایی استافیلوکوک اورئوس مقاوم متی‌سیلین از زخم‌های سوختگی با روش فنوتیپی و ژنوتیپی انجام گردید. همچنین الگوی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های تایجی سیلین (TGC)، سیپروفلوکساسین (CIP)، اریترومایسین (E)، کلوگزاسیلین (CX)، کلیندامایسین (CD)، ایمی پنم (IMI)، کوتریموکسازول (SXT)، کانامایسین (K)، تیکوپلانین (TEC)، جنتامایسین (GM)، موپیروسین (MUP) و سفتریاکسون (CTR) نیز تعیین شد. agr تایپ‌ها با روش agr -locus PCR and ScaI RFLP انجام شد و با استفاده از نرم‌افزار SPSS ارتباط مقاومت آنتی‌بیوتیکی با agr تایپ مشخص شد.*

نتایج: *در این مطالعه تعداد ۷۶ جدایه MRSA بررسی گردید. الگوی agr تایپ‌ها به‌ترتیب ۷۵/۶٪ تایپ I، ۸/۲٪ تایپ II، ۵/۴٪ تایپ III و ۱۰/۸٪ تایپ IV بود. مقاوم‌ترین agr تایپ نسبت‌به آنتی‌بیوتیک‌ها مربوط‌به تایپ I می‌باشد. از نظر آماری ارتباط معنی‌داری بین هر agr تایپ با آنتی‌بیوتیک‌ها مشاهده نشد و فقط بین آنتی‌بیوتیک‌های CX، E، CTR، SXT، GM، CIP و کلیه تایپ‌های agr رابطه معنادار وجود داشت (P≤۰/۰۵).*

نتیجه‌گیری: *ارتباط معناداری بین هر agr تایپ و مقاومت آنتی‌بیوتیکی مشاهده نشد ولی مشاهده ارتباط معنی‌دار بین مقاومت تعدادی از آنتی‌بیوتیک‌ها با کلیه تایپ‌های agr احتمالاً مربوط‌به تعداد و منبع جداسازی باکتری یا مصرف بیش از اندازه این آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد باتوجه به اینکه لوکوس agr جزو ژن‌های بالا دستی می‌باشد لذا ممکن است با به‌کارگیری سیستم کروم سنسینگ بیشترین مقاومت دارویی را ایجاد کند.*

واژه‌های کلیدی: مقاومت آنتی‌بیوتیکی، استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین، **agr** تایپ.

[*] **نویسنده مسئول:** شاهرود دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، دانشکده پزشکی، **تلفن:** ۰۲۳-۳۲۳۹۵۰۵۴، **نمابر:** ۰۲۳-۳۲۳۹۴۸۰۰، **Emaile:** mirzaii1386@gmail.com

ارجاع: وزیری محمد صادق، میرزایی مهدی، کلالیان‌مقدم حمید. بررسی ارتباط مقاومت آنتی‌بیوتیکی با agr تایپ در استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از زخم سوختگی بیماران بستری در سطح شهر تهران. مجله دانش و تندرستی ۱۳۹۵؛۱۱(۱):۱-۷.

مقدمه

عفونت از علل عمده مرگ و میر در بیماران سوختگی بستری در بیمارستان می‌باشد (۱، ۳ و ۴). ماهیت و وسعت زخم‌های سوختگی و نوع و مقدار میکروارگانیسم‌های استقرار یافته در زخم‌های سوختگی در میزان تهاجم میکروارگانیسم‌ها به بافت پوست نقش دارد. باکتری‌های گرم مثبت در نتیجه انتقال حرارت به پوست زنده می‌مانند (۳). جایگاه طبیعی استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin-resistant staphylococcus aureus) یا به عبارتی MRSA، در انسان‌ها پوست و نازوفارنکس است. این باکتری عامل بیماری‌زای مهمی در جامعه و محیط بیمارستانی می‌باشد که دارای مرگ و میر و ابتلاء به بیماری بالایی است (۲). این ارگانیسم می‌تواند از مناطق سطحی بدن، از طریق جریان خون به ارگان‌های داخلی انتشار یابد (۱۲). استافیلوکوک‌ها حساسیت متفاوتی در برابر بسیاری از داروهای ضد میکروبی دارند مقاومت در این باکتری‌ها به چند شکل بروز می‌کند: در گروه اول تولید بتا لاکتاماز شایع بوده و تحت کنترل پلاسمید می‌باشد این آنزیم، ارگانیسم را در برابر بسیاری از پنی‌سیلین‌ها مقاوم می‌سازد. پلاسمیدها توسط ترانس داکسیون و گاهی به‌وسیله کونژوگاسیون منتقل می‌شوند (۷ و ۱۳). در گروه دوم مقاومت در برابر نافسیلین (متی‌سیلین و اگزاسیلین) ارتباطی به تولید بتا لاکتاماز ندارد و ژن mec A که موجب بروز مقاومت در برابر نافسیلین می‌شود بر روی کروموزوم قرار گرفته است. مکانیسم بروز مقاومت در برابر نافسیلین در ارتباط با در دسترس نبودن و یا فقدان برخی از پروتئین‌های متصل شونده به پنی‌سیلین در ارگانیسم‌ها است. گروه سوم نوعی از مکانیسم مقاومت در ارتباط با افزایش سنتز دیواره سلول و تغییرات دیواره سلول می‌باشد و ناشی از ژن van انتروکوک نمی‌باشد. گروه چهارم ناشی از حضور ژن مقاومت در برابر ونکومایسین van A در انتروکوک و ژن مقاومت در برابر نافسیلین mec A هستند. گروه پنجم دارای مقاومت وابسته به پلاسمید در برابر تتراسیکلین، اریترومایسین، آمینوگلیکوزید می‌باشد. لازم به ذکر است که به‌وجود آمدن پدید تحمل دلالت بر آن دارد که استافیلوکوک‌ها به توسط یک دارو مهار می‌گردند اما کشته نمی‌شوند در برخی موارد بروز پدید تحمل می‌تواند مربوطبه فقدان فعال شدن آنزیم‌های اتولیزکننده در دیواره سلول می‌باشد (۷).

تاکنون تکنیک‌های تایپینگ ژنوتیپی فراوانی برای تایپینگ سویه‌های S. Aureus معرفی شده است که تایپینگ‌های مبتنی بر PCR به دو دسته تایپینگ‌های چند ژنی MLST، MLVA، SccmecTyping و تک ژنی مثل spa typing، Coa Typing، dru Typing، agr Tayping می‌باشد (۱۰). ژن فرعی تنظیم‌گر گلوبال (The accessory gene regulator) agr تنظیم‌کننده سیستم سنجش حد نصاب یا (quorum sensing) در باکتری استافیلوکوک اورئوس می‌باشد (۸).

به‌منظور بهبود توانایی برای ایجاد بیماری در انسان و دستیابی به قلمروهای متعدد در میزبان، استافیلوکوک‌ها دارای یک سیستم ارتباط سلول با سلول هستندکه این سیستم تنظیم‌کننده تعداد بیشماری از عوامل کلونیزاسیون و بیماری‌زایی می‌باشند (۲ و ۱۳). ژن agr در تنظیم افزایشی ۱۰۰ ژن و در تنظیم کاهشی ۳۴ ژن استافیلوکوک اورئوس نقش دارد (۳ و ۸). لوکوس agr شامل دو واحد رونویسی معکوس می‌باشد RNAII و RNAIII توسط پروموترهای P2 و P3 رونویسی می‌شود (۱۳). RNAII کدکننده اجزای سیگنال سنجش چگالی سلولی می‌باشد که عملکرد فعال‌سازی پروموترهای agr را برعهده دارد (۵ و ۱۳). چهار پلی‌پپتید AgrB، AgrD، AgrC، AgrA که به‌وسیله RNAII کدگذاری می‌شوند برای این آبشار فعال‌سازی موردنیاز می‌باشد. این چهار پروتئین تشکیل‌دهنده مکانیسم حسگر agr هستند (۳ و ۶). افزایش رونویسی از پرومتر P3 به‌طور چشم‌گیری سطح RNAIII را در داخل سلول بالا می‌برد. RNAIII کدکننده سم دلتا همولیزین است (۲ و ۵). اما مهمتر از آن این است که رونویسی و در برخی موارد ترجمه، چند عامل بیماری‌زای ترشحی از جمله سندروم شوک سمی –۱ و دیگر همولیزین‌ها را افزایش می‌دهد (۲ و ۱۰). متغیر بودن توالی‌های موجود در agrB,agrC,agrD باعث می‌شود تا حداقل چهار گروه agr با ویژگی متفاوت در استافیلوکوک اورئوس ایجاد شود که این متغیر بودن باعث تولید AIP(auto-inducing peptide)های متعدد شده است (۲، ۵ و ۱۳). هدف این مطالعه بررسی ارتباط مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان سوختگی با فراوانی تایپ‌های agr در استافیلوکوک اورئوس‌های جدا شده از زخم سوختگی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در مدت یک سال با نمونه‌گیری از زخم‌های سوختگی بیماران بستری شده در بیمارستان‌های آموزشی تابعه دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد. نمونه‌گیری با استفاده از سواپ استریل از بیماران به هنگام صبح و قبل از تعویض پانسمان انجام گرفت که با استفاده از دو سواپ استریل برای هر بیمار، از یک نقطه و از عمق زخم نمونه تهیه شد. نمونه‌های تهیه شده جهت انجام آزمایشات به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی شاهرود منتقل شدند. در این مطالعه آزمون‌های شناسایی مانند کاتالاز، کواگولاز، مانیتول، DNase و اوره انجام گردید و برای استخراج DNA جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس از روش میرزایی و همکاران با کمی تغییر استفاده شد (۱۹).

در ابتدا جهت تأیید جدایه‌ها از نظر مولکولی ژن nuc توسط یک جفت پرایمر طراحی شده جدول ۱ ردیابی شد. مراحل تکثیر شامل یک سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰۰ ثانیه، ۳۰ سیکل تکراری ۹۴

درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه ویک سیکل نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰۰ ثانیه و یک سیکل ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸۰ ثانیه بود. اندازه محصول 613bp می‌باشد (شکل ۳-۱).

به‌منظور تعیین وجود ژن مقاومت به متی‌سیلین در جدایه‌های استافیلوکوک اورئوس ژن mecA توسط پرایمر طراحی شده جدول ۱ ردیابی گردید. مراحل تکثیر شامل یک سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰۰ ثانیه، ۳۰ سیکل تکراری ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و یک سیکل نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰۰ ثانیه و یک سیکل ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸۰ ثانیه بود. اندازه قطعه تکثیر شده ۱۶۲ جفت باز است (شکل ۳-۲) (۹).

پس از تأیید حضور ژن *mecA* و *nuc* جدایه وارد مطالعه شدند.

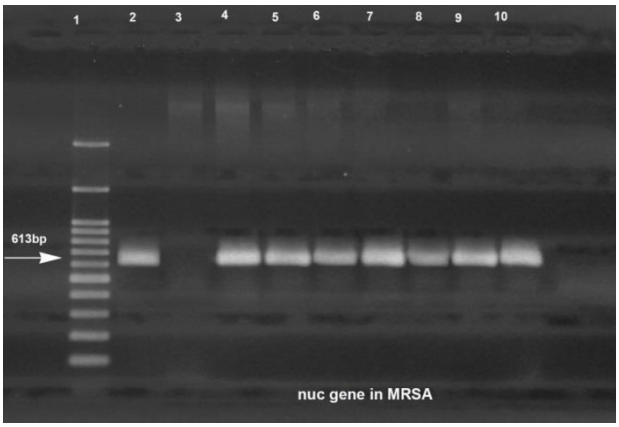
جهت بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها از آنتی‌بیوتیک‌های شرکت MAST انگلستان که شامل کلوگزاسیلین ۵ µg، کانامایسین ۲۰µg، سیپروفلوکساسین ۵µg، اریترومایسین ۱۵µg، تیکوپلانین ۳۰µg، جنتامایسین ۲۰µg، ایمیپنم ۱۰µg، تایجیسیلین ۱۵µg، کلیندامایسین ۲µg، کوتریموکسازول ۲۹µg، موپیروسین ۲۰µg، سفتریاکسون ۳۰ µg استفاده شده و براساس دستورالعمل CLSI پس از تهیه ۰/۵ مک فارلند از سوسپانسیون تازه باکتری، باکتری در سطح محیط مولر هینتون آگار تلقیح و بعد از چند دقیقه دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی در سطح محیط قرار داده شدند و سپس در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. هاله عدم رشد برای کلیه آنتی‌بیوتیک‌ها پس از ۲۰-۱۸ ساعت اندازه‌گیری شدند.

جهت تایپینگ مولکولی ژن agr از روش کافیسو و همکاران و با استفاده از تکنیک agr -locus PCR and ScaI RFLP استفاده شد (۲). جهت تکثیر لوکوس agr، از یک جفت پرایمر طراحی شده استفاده گردید (جدول ۱). مراحل تکثیر لوکوس agr شامل یک سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰۰ ثانیه، ۳۰ سیکل تکراری ۹۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه، ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶۵ ثانیه و یک سیکل نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰۰ ثانیه بود. پس از تکثیر لوکوس agr، ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR را به همراه ۱۸ میکرولیتر آب دیونیزه و ۲ میکرولیتر بافر 10xScal و ۲ میکرولیتر آنزیم Scal در داخل تیوب ریخته و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده و پس از ۶ ساعت محصول هضم شده برروی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکترفورز گردید. اندازه باندهای ایجاد شده ناشی از اثر آنزیم ScaI بر روی لوکوس agr عبارت است از تایپ I باندهای ۶۶۳ bp+ ۱۹۲۰ bp تایپ II دارای باند ۱۶۰۷ bp+ ۹۸۰ bp تایپ III دارای باند ۲۲۶۹ bp+ ۳۲۱ و تایپ IV دارای باند ۲۵۸۳ bp.

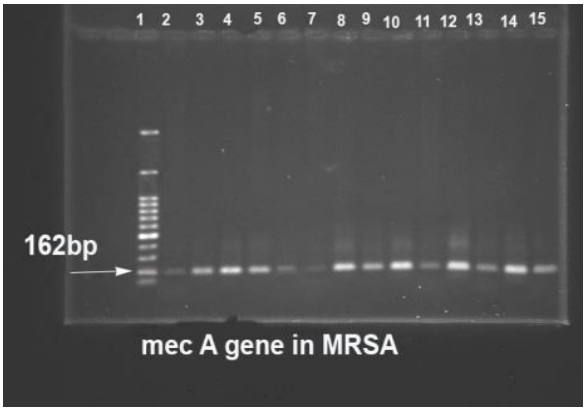
جهت بررسی ارتباط بین هر agr تایپ با مقاومت آنتی‌بیوتیکی و به همین صورت جهت بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و کلیه تایپ‌های agr از نرم‌افزار IBM SPSS Statistics با آزمون Nonparametric کندال و جهت تأیید از آزمون Somers d استفاده شد.

نتایج

در مطالعه حاضرکه به مدت یک سال انجام شد تعداد ۷۶ جدایه استافیلوکوک اورئوس از بیماران مبتلابه سوختگی در سطح بیمارستان‌های تهران جمع‌آوری گردید. آزمایشات فنوتیپی شامل آزمون کوآگولاز، مانیتول، DNase، اوره و ژنوتیپی شامل ردیابی ژن nuc با کمک PCR بود (شکل ۱). با انجام آزمون غربالگری ردیابی ژن‌های mecA (شکل ۲) ۷۶ جدایه استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین وارد مطالعه شدند. حساسیت جدایه‌های MRSA نسبت‌به



شکل ۱- تکثیر ژن nuc جهت احراز هویت سویه .MRSA باند ۱: مارکر ۲: کنترل مثبت ۳: کنترل منفی: ٤-۱۰ ژن تکثیر شده nuc



شکل ۲- تکثیر ژن mecA جهت احراز هویت سویه‌های MRSA باند ۱ مارکر، باند ۲-۱۵ ژن تکثیر شده mecA

آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در جدول ۲ قابل مشاهده است براساس نتایج آنتی‌بیوگرام بیشترین مقاومت مربوط به سیپروفلوکساسین، کانامایسین، اریترومایسین و کلوگزاسیلین بودند. تکثیر لوکوس agr با روش PCR انجام و باند ۲۵۸۳ جفت بازی مشاهده شد (شکل ۳).

در نهایت الگوی agr تایپ‌های MRSA با روش PCR- RFLP با استفاده از آنزیم اندونوکلئاز ScaI انجام شد و agr تایپ ۷۶ جدایه MRSA مشخص گردید (تصویر ۴). Agr تایپ‌ها به‌ترتیب ۷۵/۶ درصد تیپ I، ۸/۱ درصد تیپ II، ۵/۴ درصد تیپ III و ۱۰/۸ درصد تیپ IV بود. مقاوم‌ترین agr typeهای جدایه‌های MRSA نسبت‌به آنتی‌بیوتیک‌ها مربوط‌به تایپ I می‌باشد.

از نظر آماری ارتباط معنی‌داری بین هر یک از تایپ‌های agr با آنتی‌بیوتیک‌ها وجود ندارد اما بین آنتی‌بیوتیک‌های کلوگزاسیلین، اریترومایسین، ایمیپنم، سفتریکسون، کوتریموکسازول، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین و کلیه تایپ‌های agr ارتباط معنی‌داری وجود داشت ($P\leq ۰/۰۵$) از نظر آماری ارتباط معنی‌داری بین آنتی‌بیوتیک‌های تایجی سیلین، موپیروسین، تیکوپلانین، کلیندامایسین، کانامایسین و کلیه تایپ‌های agr وجود نداشت ($P\geq ۰/۰۵$).

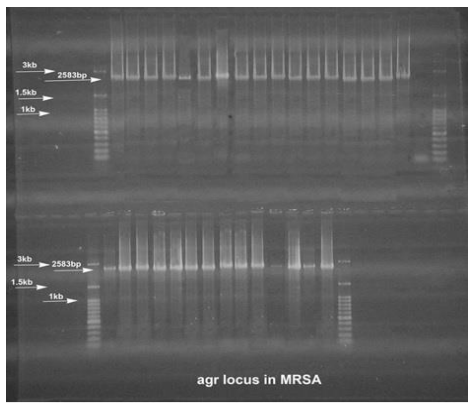
جدول ۱- پرایمرهای طراحی شده در این مطالعه

ژن	توالی پرایمر (۵' - ۳')	Tm (°C)	اندازه محصول	شرکت سازنده
agr	F-CAG TGA GGA GAG TGG TGT AAA ATT R- AAATGGGCAATGAGTCTGTGAG	۶۱/۸ ۶۰/۳	۲۵۸۳	ماکروژن
mecA	F- ACT GCT ATC CAC CCT CAA AC R- CTG GTG AAG TTG TAA TCT GG	۵۸/۴ ۵۶/۴	۱۶۲	ماکروژن
nuc	F- CTG GCA TAT GTA TGG CAA TTG TT R- TAT TGA CCT GAA TCA GCG TTG TCT	۵۹/۳ ۶۱/۸	۶۱۳	ماکروژن

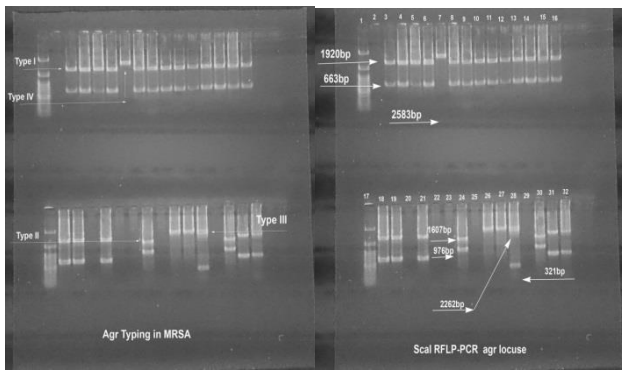
جدول ۲- درصد فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در agr تایپ‌های سویه‌های استافیلوکوکوس آرئوس مقاوم به متی‌سیلین

آنتی‌بیوتیک	agr Type I		agr Type II		agrTypeIII		agr Type IV		MRSA	
	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R
کاناماسین (K)	۰	٪۸۷	۰	٪۷۵	۰	٪۷۵	۰	٪۱۳	۰	٪۷۴
سیپروفلوکساسین(CIP)	۰	٪۹۷	۰	٪۷۵	۰	٪۷۵	۰	٪۱۳	۰	٪۸۲
اریترومایسین (E)	۰	٪۸۷	۰	٪۷۵	۰	٪۷۵	۰	٪۱۳	۰	٪۷۴
تیکوپلانین (TEC)	۰	٪۳	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	٪۲
کلوآگزوسیلین (CX)	۰	٪۸۷	۰	٪۷۵	۰	٪۷۵	۰	٪۱۳	۰	٪۷۴
جنتامایسین (GM)	٪۳	٪۷۹	٪۲۵	٪۵۰	٪۲۵	٪۵۰	۰	٪۱۳	٪۵	٪۶۵
ایمیپنم (IMI)	۰	٪۷۶	۰	٪۷۵	۰	٪۷۵	۰	٪۱۳	٪۴	٪۶۳
تای جی سیلین (TGC)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
کلیندامایسین (CD)	۰	٪۶	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	٪۴
کوتریموکسازول (SXT)	٪۳	٪۴۷	۰	٪۵۰	۰	٪۵۰	۰	٪۱۳	٪۲	٪۴۳
موپیروسین (MUP)	۰	٪۵	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	٪۴
سفتریکسون (CTR)	۰	٪۷۶	۰	٪۷۵	۰	٪۷۵	۰	۰	۰	٪۶۵

*مقاوم به آنتی‌بیوتیک R *مقاومت متوسط I *



شکل ۳- باندهای ۲۵۸۳ جفت بازی مربوطبه لوکوس agr سویه MRSA



شکل ٤- تایپینگ لوکوس agr با آنزیمScaI

باند ۱: مارکر، تایپ **I** شامل: شماره‌های ۳، ۴، ۵، ۶، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۳۰، ۳۱

تایپ **II:** شماره ۲۹، ۴۹ تایپ ۲۸ : **III**تایپ ۲۶، ۲۷، **IV**۷:

شماره‌های ۲۹،۲۵،۲۳،۲۲،۲۰،۲ منفی می‌باشد که علت آن ناموفق بودن تکثیر ژن **agr** در این شماره‌ها بود.

بحث

سوختگی یکی از وخیم‌ترین وضعیت‌های پزشکی به‌شمار می‌رود. علیرغم پیشرفت‌های پزشکی و مراقبت‌های ویژه، هنوز عامل اصلی مرگ و میر در این بیماران عفونت می‌باشد. زخم‌های ناشی از سوختگی محیط مناسبی را برای رشد میکروارگانیسم‌های مختلف به‌وجود می‌آورند استافیلوکوکوس اورئوس از معمول‌ترین عوامل عفونی می‌باشد. مهمترین روش کاهش مرگ و میر و عوارض، پیشگیری از عفونت و شناسایی عوامل ایجادکننده آن و در نهایت درمان عفونت با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های مناسب می‌باشد. در این مطالعه کمترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوطبه آنتی‌بیوتیک‌های تایجی سیلین، تیکوپلانین، موپیروسین و کلیندامایسین بود که به‌ترتیب با مطالعات سعدی خان و همکاران، وارن‌ای و همکاران و ویندال و همکاران همسو بود (۱۴-۱۶) و بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوطبه سیپروفلوکساسین، کلوگزاسیلین و کانامایسین بود که به‌ترتیب با مطالعات سانجانا و همکاران و جوان و همکاران همسو بود و اریترومایسین که با مطالعه نهلا و همکاران غیر همسو بود مشاهده شد (۱، ۱۷ و ۱۸).

در مطالعه حاضر بالاترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوطبه تیپ I بود که با مطالعات نهلا و همکاران و نجار و همکاران همسو می‌باشد (۱۱، ۱۷ و ۲۰). البته در مطالعه سعدی خان و همکاران بالاترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوطبه تیپ III بود (۱۴) و تیپ I در مرتبه دوم قرار داشت که علت آن احتمالاً مربوطبه تعداد تایپ‌های agr بررسی شده می‌باشد که در اکثر مطالعات تعداد تایپ‌ها کم است و فقط در یک مطاله تیپ IV شناسایی شد (۱۱). فراوان‌ترین agr تایپ در این مطالعه با ۷۶ درصد فراوانی مربوطبه تایپ I می‌باشد.

در مطالعه حاضر agr تایپ‌های I، II و III نسبت‌به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، کلوگزاسیلین، ایمیپنم، کوتریموکسازول، کانامایسین، سیپروفلوکساسین و اریترومایسین مقاومت بیش از ۶۵ درصد نشان دادند ولی در agr تایپIV این میزان مقاومت به ۱۳ درصد کاهش پیدا کرد. در این مطالعه، آنتی‌بیوتیک سفتریاکسون در کل جدایه‌ها ۶۵ درصد مقاومت داشت و در تیپ‌های I، II و III این میزان مقاومت حدود ۷۶ درصد بودکه با مطالعه نهالا و همکاران همسو بود (۱۷). ولی در تیپ IV این میزان مقاومت به صفر کاهش یافت و مطالعه‌ای که میزان مقاومت را در تایپ‌های agr بررسی کند یافت نشد. مشاهده ارتباط معنی‌دار بین مقاومت آنتی‌بیوتیک‌های کلوگزاسیلین، اریترومایسین، ایمیپنم، سفتریاکسون، کوتریموکسازول، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین با کلیه تایپ‌های agr در مطالعه حاضر می‌تواند مربوطبه تعداد باکتری مورد مطالعه و منبع جداسازی باکتری و یا مصرف بیش از اندازه این آنتی‌بیوتیک‌ها باشد باتوجه به اینکه لوکوس agr جزو ژن‌های بالا دستی می‌باشد این لوکوس می‌تواند در جهت مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های فوق با به‌کارگیری سیستم کروم سنسینگ (QS) بیشترین مقاومت دارویی را ایجاد کند (۶ و ۱۹). در مطالعه حاضر ارتباط معناداری بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی با هر agr تایپ مشاهده نشد که با مطالعه قاسمیان و همکاران همسو بود و از این رو توصیه می‌شود تحقیقات بیشتری مبتنی‌بر بیان ژن agr و بیان ژن‌های دخیل در مقاومت آنتی‌بیوتیکی صورت گیرد (۲۰). نتایج به‌دست آمده میان الگوی پلی‌مورفیسم لوکوس agr با الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشانگر آن است که سرعت انتقال ژن‌های مقاومت دارویی در تیپ I به‌مراتب بیشتر از سایر تایپ‌های agr می‌باشد. علت فراوان بودن تیپ I احتمالاً مربوطبه افزایش سطح مقاومت این تیپ به آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان بیماران می‌باشد. تیپ IV بیشترین حساسیت را نسبت‌به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده داشت و یکی از علل کمتر جدا شدن استافیلوکوک اورئوس‌های دارای agr تایپ IV در سایر مطالعات احتمالاً مربوطبه حساس بودن این تیپ جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک و رقابت در به‌دست آوردن محل استقرار با سایر تایپ‌ها می‌باشد. مقایسه مطالعه کنونی با سایر مطالعات که در کشورهای مصر و پاکستان انجام شده نشان می‌دهد که ایران نسبت‌به سایر کشورهای خاورمیانه مانند مصر و پاکستان مقاومت دارویی بیشتری را در مقابله با استافیلوکوک اروئوس مقاوم به متی سیلین دارا می‌باشند و در این دوکشور هنوز آنتی‌بیوتیک‌های که در ایران از دور مصرف خارج شده‌اند استفاده می‌شود لذا می‌بایست درمان آنتی‌بیوتیک در بیماران دچار زخم سوختگی با الگوهای استاندارد طبق جدیدترین دستورالعمل تجویز شود (۱۱، ۱۴ و ۱۷).

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی شاهرود طی طرحی با شماره ۹۳۰۲ انجام گردیده است. نویسندگان این مقاله بر خود وظیفه می‌دانند که از زحمات سرکار خانم نوروزی مسئول محترم آزمایشگاه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شاهرود تشکر و قدردانی نمایند.

References

1. Avan A, Falahati H, Seayfi M, Talebi M, Ebrahimi GH, Poorshafi M. Study of mecA gene at high levels of oxacillin-resistant staphylococcus aureus isolates from hospitals in Tehran. Infectious and Tropical Diseases Iran 2010;17:22-49.[Persian].
2. Cafiso V, Bertuccio T Santagati M, Demelio V, Spina D. agr - genotyping and transcriptional analysis of biofilm-producing Staphylococcus aureus. FEMS Immunol Med Microbiol 2007;51:220-7.
3. Dlawer A, Ala'Aldeen A. Staphylococcus aureus molecular and clinical aspects. Chichester: Horwood pub;2004.p.282.

4. Deirdre C, Sameer E, Owen R, Brent W, Robert L. Burn wound infection. Clin Microbiol Rev 2006;19:403-34.

5. Robinson DA, Monk AB, Cooper JE, Feil EJ, Enright MC. Evolutionary genetics of the accessory gene regulator (agr) locus in staphylococcus aureus. J Bacteriol 2005;187:8312-21.

6. Jeremy MY, Patrick MS. Quorum sensing in Staphylococcus infections. J Clin Invest 2003;112:1620-5.

7. Geo F Brooks, Karen C Carroll, editors. Jawetz, melnick & adelberg's medical microbiology.24th ed. New York:McGraw-Hil;2008;.p.342-3.

8. Philippe D, Sophie J, Francois V, Timothy G, Richard PN, Michele B, et al. High genetic variability of the agr locus in staphylococcus species. J Bacteriol 2002;184:1180-6.

9. Sakoulas G, Eliopoulos GM, Moellering RC Jr, Novick RP, Venkataraman L, Wennersten C, et al. Staphylococcus aureus accessory gene regulator (agr) group ii: is there a relationship to the development of intermediate-level glycopeptide resistance?. J Infect Dis 2003; 187:929-38.

10. Francois P, Koessler T, Huyghe A, Harbarth S, Bento M, Lew D, et al. Rapid staphylococcus aureus agr type determination by a novel multiplex real-time quantitative PCR assay. J Clin Microbiol 2006;1892-5.

11. Najar Peerayeh Sh, Azimian A, Behzadian Nejad Q, Kashi M. Prevalence of agr specificity groups among staphylococcus aureus isolates from university hospitals in Tehran. Lab Medicine 2009;40:27-9.

12. Williams RE. Healthy carriage of Staphylococcus aureus: its prevalence and importance. Bacteriol 1963;27:56-71.

13. Xie Y, He Y, Gehring A, Hu Y, Li Q, Tu SI, et al. Genotypes and toxin gene profiles of staphylococcus aureus clinical isolates from China. PLoS One 2011;6.1-11.

14. Khan S, Rasheed F, Zahra R. Genetic polymorphism of agr Locus and antibiotic resistance of Staphylococcus aureus at two hospitals in Pakistan. Pak J Med Sci 2014;30:172-6.

15. Rose WE, Kaatz GW, Sakoulas G, Rybak MJ. Teicoplanin pharmacodynamics in reference to the accessory gene regulator (agr) in Staphylococcus aureus using an in vitro pharmacodynamic model. J Antimicrob Chemother 2008;61:1099-102.

16. Vindel A, Trincado P, Cuevas O, Ballesteros C, Bouza E, Cercenado E. Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Spain: 2004-12. J Antimicrob Chemother 2014;69: 2913-9.

17. Nahla AM, Azza SZ, Nermine HI, Magdy AS, Amany ZM. Prevalence of agr specificity groups among in vitro biofilm forming methicillin resistant staphylococcus aureus strains isolated from nasal carriers. International Journal of Microbiological Research 2014;5:76-84.

18. Sanjana RK, Shah R, Chaudhary N, Singh Y. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in CMS-teaching hospital: a preliminary report. Journal of College of Medical Sciences-Nepal 2010;6:1-6.

19. Mirzaii M, Emaneini M, Jabalameli F, Halimi S, Taherikalani M Molecular investigation of staphylococcus aureus isolated from the patients, personnel, air and environment of an ICU in a hospital in Tehran. Journal of Infection and Public Health 2015;8:202-6.

20. Ghasemian A, Najar Peerayeh S, Bakhshi B, Mirzaee M. Detection of accessory gene regulator groups genes and cassettechromosome mec types among Staphylococcus aureus isolated from intensive care unit patients. Asian Pac J Trop Dis 2015;5:153-7.

Journal of Knowledge & Health 2016; Vol 11, No 1
Shahroud University of Medical Sciences

DOI: 10.22100/jkh.v11i1.1199

Original Article

The Relationship Between Antibiotic Resistance and Agr Type in Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Isolated From Burn Wound of Hospitalized Patient in Tehran

Mohammad Sadegh Vaziri (M.Sc.)[1], Mehdi Mirzaii (Ph.D.)[2*], Hamid Kalalian Moghadam (Ph.D.)[3] Mozhgan Fazli (M.Sc.)[4], Seyed Sajjad Khoramrooz (Ph.D.)[5], Davood Darban Sarokhalil (Ph.D.)[6], Somaye Yaslianifard (Ph.D.)[7]

1- Dept. of Biology, School of Basic Sciences, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.
2- Dept. of Basic Sciences, School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.
3- Dept. of Physiology, School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.
4- Dept. of Basic Sciences, School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.
5- Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran.
6- Dept. of Microbiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
7- Dept. of Microbiology, School of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran.

Received: 5 September 2015**, Accepted:** 3 November 2015

Abstract:

Introduction*: Staphylococcus aureus is the major cause of hospital and community-acquired infections. This bacterium possesses an accessory gene regulator (agr) that plays role in colonization, expression of virulence factors and antibiotic resistance. It's four major polypeptide with variable sequences lead to at least four agr type in S. aureus.The aim of this study was to determine the relationship between the antibiogram patterns with agr type of clinical S. aureus.*

Methods: *Detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) from burn wounds was performed by phenotypic and genotypic profiles. The antibiotics resistance pattern was determined by disk agar diffusion (Tigecycline (TGC), Ciprofloxacin(CIP), Erythromycin(E), Cloxacillin(CX), Clindamycin(CD), Imipenem(IMI), Co-trimoxazole(SXT), Kanamycin(K), Teicoplanin(TEC), Gentamicin(GM), Mupirocin(MUP), Ceftriaxone (CTR)). The agr typing by PCR-RFLP method using the Restriction endonuclease ScaI was performed and spss19 was used for data analysis.*

Results: *The total of 76 MRSA isolates was studied. The agr type distribution was 75.6% Type I, 8.2% Type II, 5.4% Type III, 10.8% type IV. The most antibiotics resistant agr type belongs to the type I. There was no significance relationship between every agr type and antibiotics but only a statistically significant association exist between CX, E, CTR, SXT, GM, CIP antibiotics and all agr types ($P<0.05$).*

Conclusion: *There was no significance relationship between every agr type and antibiotics but significant relationship observed between resistance to some antibiotics with all agr types could be related to the number and source of isolated bacteria or extra use of these antibiotics. By considering that agr locus belongs to upstream genes so it may use the Quorum Sensing (QS) system to induce the most drug resistance.*

Keyword: Agr typing, MRSA, Antibiogram.

Conflict of Interest: No

***Corresponding author:** M. Mirzaii**, Email:** mirzaii1386@gmail.com*

Citation: Vaziri M.S, Mirzaii M, Kalalian Moghadam H. The relationship between antibiotic resistance and agr type in methicillin-resistant staphylococcus aureus (mrsa) isolated from burn wound of hospitalized patient in Tehran. Journal of Knowledge & Health 2016;11(1):1-7.