



بررسی فراوانی ژن‌های کد کننده لکوسیدین در استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی‌سیلین جدا شده از بیماران سوختگی در بیمارستان طالقانی اهواز

هاجر حویزوی*^۱، دکتر آذر دخت خسروی^۲، زهرا فرشاد زاده^۳

^۱ کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه میکروبیولوژی، دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه جندی شاپور اهواز
^۲ دانشجوی دکتری، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه جندی شاپور اهواز

چکیده

سابقه و هدف: برخی از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس که توکسین‌های دو جزئی مانند *PVL* و *LUKE/D* را تولید می‌کنند، می‌توانند باعث افزایش بیماری‌های پوستی شدید، ذات‌الریه‌کشنده، استئومیلیت و در نهایت منجر به مرگ شوند. هدف از این پژوهش، بررسی فراوانی ژن‌های کدکننده لکوسیدین در استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی‌سیلین جدا شده از بیماران سوختگی در اهواز بود. مواد و روش‌ها: این پژوهش به صورت مقطعی-توصیفی بر روی ۲۰۳ نمونه تهیه شده از زخم بیماران سوختگی بستری شده در بیمارستان طالقانی اهواز انجام شد. تمامی نمونه‌ها برای شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس با روش‌های معمول کشت و تست‌های بیوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفتند. پس از استخراج DNA باکتری، به منظور شناسایی ژن‌های *LUKE/D* و *PVL*، *mecA* از تکنیک PCR استفاده گردید. یافته‌ها: از مجموع نمونه‌های مورد بررسی در ۹۵ مورد (۴۶/۸٪) استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی گردید. ۸۳ سویه (۸۷/۳۶٪) دارای ژن *mecA* بودند. فراوانی ژن‌های *LUKE/D* و *PVL* در سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین به ترتیب ۷/۲۳٪ و ۶۶/۲۶٪، و در سویه‌های حساس به متی‌سیلین ۳۳/۳٪ بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به فراوانی بالای ژن‌های *PVL* و *LUKE/D* در میان سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین استافیلوکوکوس اورئوس و نیز شدید و کشنده بودن بیماری‌های ناشی از آن، تشخیص زود هنگام و درمان مناسب برای جلوگیری از پیشرفت بیماری باید مدنظر قرار گیرد. واژگان کلیدی: لکوسیدین‌های دو جزئی، MRSA، MSSA، عفونت سوختگی

پذیرش برای چاپ: فروردین ۸۹

دریافت مقاله: دی ۸۸

مقدمه

بیماران سوختگی می‌شوند، استافیلوکوکوس اورئوس، به ویژه سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA)، چالش بزرگی را به وجود آورده‌اند (۱ و ۲). این سویه‌ها اولین بار در دهه‌ی ۱۹۶۰ کمی پس از معرفی متی‌سیلین به عنوان یک آنتی‌بیوتیک بتالاکتام مقاوم به پنی‌سیلیناز، پدیدار شدند (۳). بیماران دچار سوختگی حاد، بیشترین قربانیان درگیری با سویه‌های MRSA

استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان مهم‌ترین پاتوژن بیماری‌زای انسانی و از عوامل اصلی ایجاد کننده‌ی عفونت‌های بیمارستانی شناخته شده است. از بین پاتوژن‌هایی که باعث ایجاد عفونت در

* آدرس برای مکاتبه: جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه میکروبیولوژی
تلفن: ۰۹۱۶۶۱۴۲۹۲۵

پست الکترونیک: hajar505@yahoo.com

هسته ای انسان (پلی مورفونوکلیترها)، مونوسیت ها و لنفوسیت ها می باشند. پنتون والتین لکوسیدین یک اگزوتوکسین تشکیل دهنده منفذ محسوب می شود و استافیلوکوکوس اورئوس هایی که ژن *PVL* را حمل می کنند، توانسته اند یک مشکل جدی را ایجاد کنند. این ژن در سویه های استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی سیلین مشاهده می گردد. در موارد بسیار زیادی، از ارتباط بین پنتون والتین لکوسیدین ترشح شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس و بروز بیماری هایی مثل عفونت های پوستی و بافت نرم، فورنکل (کورک) و آبسه های برگشت پذیر گزارش شده است (۱۲). عضو دیگری از خانواده ی توکسین های دو جزئی استافیلوکوکی، *LUKE/D* است که از دو زیر واحد، *LUKE* (پروتئین مربوط به کلاس S) و *LUKD* (پروتئین مربوط به کلاس F) تشکیل شده است. زیر واحدهای تشکیل دهنده این توکسین به غشای سلولی لکوسیت ها متصل می شوند و به این صورت موجب از بین رفتن سلول ها می گردند (۱۳). هدف از این پژوهش، بررسی فراوانی ژن های کد کننده لکوسیدین در سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی سیلین جدا شده از بیماران سوختگی در بیمارستان طالقانی اهواز بود.

مواد و روش ها

در این پژوهش در سال های ۱۳۸۸ تا ۱۳۸۹ در مجموع ۲۰۳ نمونه از زخم بیماران سوختگی، بستری شده در بیمارستان طالقانی اهواز جمع آوری گردید. تمامی نمونه ها برای شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس با روش های معمول کشت و تست های بیوشیمیایی مانند کاتالاز، کوآ گولاز و *DNase* مورد ارزیابی قرار گرفتند (۱۴). *DNA* نمونه های مثبت با روش جوشاندن ساده از کلنی باکتری استخراج گردید (۱۵). برای شناسایی ژن *mecA*، *PVL* و *LUKE/D* از تکنیک PCR استفاده شد.

از پرایمرهای 5'-AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC-3' (*mecA*) و 5'-AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC-3' (*mecA*) برای شناسایی ژن *mecA* استفاده گردید. توالی ۵۳۲bp نشان دهنده وجود ژن *mecA* بود (۱۶). از سویه ی استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC3359 به عنوان کنترل مثبت

می باشند. زیرا این بیماران دارای پوست های برهنه و آسیب دیده می باشند. بنابراین با از میان رفتن دیواره ی پوستی، سد محافظ در مقابل این باکتری ها کاهش می یابد (۳). این حقیقت که باکتری های استافیلوکوکوس می توانند درون لکوسیت های پلی مورفونوکلیتر به حیات خود ادامه دهند، مشکل را فزونی می بخشد. به علاوه، عملکرد باکتری کشتی در پلی مورفونوکلیترها در بیماران سوختگی کاهش می یابد و به باکتری ها اجازه زندگی طولانی تری را می دهد (۴). بر اساس داده های مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری ها (Centers of Disease Control and Prevention=CDC)، تعداد عفونت های MRSA در ۱۰ سال گذشته دو برابر شده است. از طرفی در ایالات متحده آمار مرگ و میر کسانی که در اثر عفونت های MRSA جان خود را از دست می دهند، بیش از تعداد افرادی است که در اثر درگیری با ایدز می میرند (۵). مقاومت به متی سیلین نشان دهنده ی مقاومت به تمامی پنی سیلین های مقاوم به پنی سیلیناز و سفالوسپورین ها می باشد و برای ایجاد مقاومت به حضور ژن *mecA* نیاز است (۶). این ژن، پروتئینی به نام *PBP2A* که یک پروتئین اکتسابی است و تمایل کمی برای اتصال به داروهای بتالاکتام دارد را کد می کند. مقاومت به متی سیلین به وسیله یک قطعه کروموزومی تحت عنوان *SCCmec* ایجاد می شود (۷). تقریباً اغلب جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس سموم و آنزیم های بیشماری را تولید می کنند که نقش کمک کنندگی در بیماری زایی توسط این باکتری را دارند (۸). اعضای خانواده لکوتوکسین های استافیلوکوکی شامل: Panton Valentine Leukocidin (PVL)، Hemolysin3 (HlgA+HlgB+HlgC) (*LUKE+LUKD*)، و *LUKE/D* (*LUKM-PV+LUKF-PV*) می باشند (۹). لکوتوکسین ها، اگزوتوکسین هایی دو جزئی بوده که به خانواده barrel-2 (برون تراوا) غشای انتقالی تعلق دارند (۱۰). لکوتوکسین های دو بخشی استافیلوکوکوس، از دو پروتئین مجزا *LUKS-PV* (۳۳ کیلودالتون) و *LUKF-PV* (۳۴ کیلودالتون) تشکیل شده اند که با ایجاد منافذی در غشا باعث از بین رفتن سلول می شوند. این پروتئین ها از دو ژن نزدیک به هم *lukS-PV* و *lukF-PV* به وجود می آیند که به طور هم زمان رونویسی می شوند (۱۱). هدف اصلی سلول های لکوتوکسین استافیلوکوکوس سلول های چندشکلی

۵ میکرولیتر از نمونه DNA انجام گردید. سپس واکنش PCR با شرایط دمایی ۵ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۷ درجه سانتی گراد و در ادامه ۳۵ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۵۷ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، تولید شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه و در نهایت تولید شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۸ دقیقه انجام شد. محصول PCR به ژل آگاروز ۲ درصد واجد اتیدیوم برآمید (۰/۵mg/ml) منتقل و پس از الکتروفورز به وسیله دستگاه Gel Documentation مورد بررسی قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نسخه سیزدهم نرم افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL., USA) و آزمون آماری مربع کای انجام گرفت. مرز معنی داری روی ۰/۰۵ $p <$ قرار داده شد.

نتایج

از مجموع نمونه های مورد بررسی در ۹۵ مورد (۴۶/۸٪) استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی گردید که از این میان ۶۷ نفر (۷۰/۵۲٪) مذکر و ۲۸ نفر (۲۹/۴۸٪) مؤنث بودند. اکثر بیماران مبتلا به سویه های استافیلوکوکوس در گروه سنی ۲۰ تا ۲۹ سال قرار داشتند. بیماران براساس درجه سوختگی به ۳ گروه تقسیم شدند که ۶۳ نفر (۶۶/۳۱٪) از مبتلایان به استافیلوکوکوس اورئوس، دارای زخم سوختگی از نوع درجه ۳ بودند. بررسی فراوانی ژن های مورد مطالعه بر اساس واکنش PCR نشان داد که از بین ۹۵ نمونه واجد سویه های استافیلوکوکوس، ۸۳ مورد (۸۷/۳۶٪) دارای ژن *mecA* (سویه های مقاوم به متی سیلین) و ۱۲ مورد (۲۱/۶۴٪) فاقد این ژن (سویه های حساس به متی سیلین) بودند (جدول ۱). آنالیز داده ها نشان داد که بین وجود ژن های *mecA*، *PVL* و *LUKE/D*، با سن و درجه سوختگی بیماران ارتباط معنی داری وجود ندارد ($p > 0/05$).

در شکل های ۱، ۲ و ۳ تصاویر ژل الکتروفورز حاصل از PCR مربوط به ژن های *mecA*، *PVL* و *LUKE/D* نشان داده شده است. در شکل ۴ فراوانی ژن های *PVL+* و *LUKE/D+* در سویه های مقاوم و حساس به متی سیلین با هم مقایسه شده اند.

استفاده شد. واکنش PCR با حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر شامل: ۱۰ میکرولیتر (10X) PCR buffer، ۲ میلی مول $MgCl_2$ (50 mM)، ۰/۶۴ میکرومول dNTPs (10mM)، ۰/۵ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase، ۱۰ پیکومول از هر آغازگر و ۵ میکرولیتر از نمونه DNA انجام گردید. در این مرحله واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (iCycler_BioRad) با شرایط دمایی ۴ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، در ادامه ۳۵ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال در دمای ۶۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه و تولید شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه انجام شد. هم چنین از پرایمرهای (PLV F)5'-ATCATAGGTA AAAATGCTCTGCACATGATCCA-3' و (PLV R)5'-GCATCAASTGTATTGGATAGCCAAAAGC-3' برای شناسایی ژن *PVL* (۱۷) و از پرایمرهای 3'-CACTGC- و (LUKE/D F) 5'-ATTCCATAGCATAAG (LUKE/D R)5'-TGAAAAACCTCAAAGTTGATACCAG-3' برای شناسایی ژن *LUKE/D* استفاده گردید (۱۸). وجود توالی ۴۳۳bp نشان دهنده حضور ژن *PVL* و توالی ۲۶۹bp نشان دهنده ژن *LUKE/D* بود. برای شناسایی ژن *PVL* از سویه ی استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC49775 و برای شناسایی ژن *LUKE/D* از سویه ی استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس NCTC13300 استفاده شد. واکنش PCR با حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر شامل: ۵ میکرولیتر (10X) PCR buffer، ۳/۵ میلی مول $MgCl_2$ (50 mM)، ۰/۲ میکرومول dNTPs (10mM)، ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase، ۲۰ پیکومول از هر آغازگر و



شکل ۱: تصویر ژل الکتروفورز حاصل از PCR مربوط به ژن *mecA* با استفاده از پرایمر اختصاصی. ستون (۱) سایز مارکر (۱۰۰bp)، ستون های ۲ تا ۹ نمونه های مورد مطالعه، ستون (۱۰) کنترل منفی و ستون (۱۱) کنترل مثبت.

جدول ۱: فراوانی ژن‌های مورد مطالعه بر اساس واکنش PCR.

ژن	موارد مثبت (درصد)	موارد منفی (درصد)	جمع کل (درصد)
<i>mec A</i>	۸۳ (۸۷/۳۶)	۱۲ (۱۲/۶۴)	۹۵ (۱۰۰)
<i>PVL</i>	۱۰ (۱۰/۵۳)	۸۵ (۸۹/۴۷)	۹۵ (۱۰۰)
<i>LUKE/D</i>	۵۹ (۶۲/۵۹)	۳۶ (۳۷/۹)	۹۵ (۱۰۰)

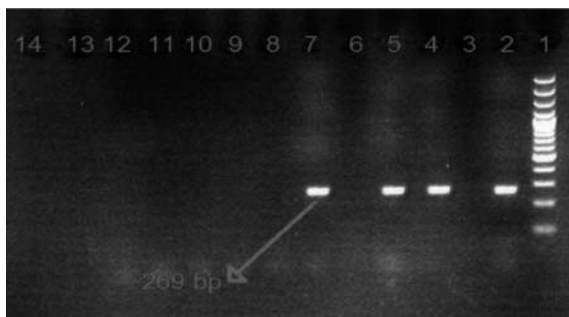
بحث

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از شایع‌ترین عوامل ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی به شمار می‌رود. این باکتری در برابر بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های رایج مورد استفاده مقاوم شده است. فراوانی سویه‌های مقاوم به دارو، مشکلات جدی درمانی و مشکلات مربوط به کنترل عفونت‌های MRSA در محیط‌های بیمارستانی را ایجاد نموده است. عفونت‌های MRSA به ویژه در بیماران سوختگی به دلیل عوارض و مرگ و میر ناشی از آن بسیار قابل توجه می‌باشد (۱۹). از طرف دیگر مطالعات انجام شده در گذشته نشان داده که بین سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس واجد ژن‌های *LUKE/D* و *PVL* وجود عفونت‌های پوستی و بافت نرم ارتباط معنی داری وجود دارد (۱۱).

در مطالعه حاضر ۸۷/۳۶٪ از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس دارای ژن *mecA* (سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین) بودند. موارد متعددی از فراوانی سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین در بیماران سوختگی گزارش شده است (۲، ۳ و ۲۰). در برخی از مطالعات مشخص شده است که میزان شیوع سویه‌های یاد شده در بخش

مراقبت‌های ویژه بیشتر از سایر بخش‌های درمانی بوده است (۲۱). درصد سویه‌های MRSA در این مطالعه در مقایسه با کشورهایمانند لیتوانی ۲۳/۴٪ (۲۲)، استرالیا ۲۴٪ (۲۳) و چین ۱۲٪ (۲۴) بیشتر می‌باشد، اما ارتباط نزدیکی با نتایج به دست آمده در ژاپن (۶۰ تا ۹۰٪) (۲۵) دارد. از طرف دیگر فراوانی سویه‌های MRSA طی مطالعات مختلفی که در ایران انجام شده است نسبت به مطالعه ما پایین‌تر می‌باشد و آمار ۳۶٪ (۲۶)، ۴۳٪ (۲۷) و ۵۳٪ (۲۸) برای آن‌ها عنوان شده است. در سایر پژوهش‌های مورد اشاره نمونه‌های مورد بررسی مربوط به بیماران سوختگی نبودند. اما نتیجه به دست آمده در این پژوهش با مطالعات انجام شده بر روی نمونه زخم بیماران سوختگی در ایران (با فراوانی های ۶۰ و ۹۰٪) مطابقت دارد (۲۹ و ۳۰).

در مجموع فراوانی بالای سویه‌های MRSA در بیمارستان مورد مطالعه موضوع نگران‌کننده‌ای است که باید با جدیت بیشتری مورد توجه قرار گیرد. به نظر می‌رسد بافت فرسوده و غیر استاندارد ساختمان و تأسیسات بخش‌های درمانی به ویژه تعداد قابل توجه بیماران بستری شده و مراجعه‌کننده، از عوامل اصلی عدم موفقیت کنترل عفونت در این بیمارستان محسوب می‌گردد. در مطالعه حاضر فراوانی ژن‌های *LUKE/D* و *PVL* در سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین به ترتیب ۷/۲۳٪ و ۶۶/۲۶٪ بود، اما فراوانی این دو ژن در سویه‌های حساس به متی‌سیلین ۳/۳۳٪ گزارش شد. در مورد ژن *LUKE/D* می‌توان گفت که این ژن اخیراً شناسایی شده و به همین دلیل مطالعات محدودی در مورد فراوانی آن انجام شده است. نتایج یک مطالعه دیگر در ایران نشان می‌دهد که ۷۳/۸٪ از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی‌سیلین



شکل ۳: تصویر ژل الکتروفورز حاصل از PCR مربوط به ژن *LUKE/D* با استفاده از پرایمر اختصاصی. ستون (۱) سایز مارکر (۱۰۰bp)، ستون (۲) کنترل مثبت و ستون (۳) کنترل منفی و ستون‌های ۴ تا ۱۴ نمونه‌های مورد مطالعه.



شکل ۲: تصویر ژل الکتروفورز حاصل از PCR مربوط به ژن *PVL* با استفاده از پرایمر اختصاصی. ستون (۱) سایز مارکر (۱۰۰bp)، ستون‌های ۲ تا ۹ نمونه‌های مورد مطالعه، ستون (۱۰) کنترل منفی و ستون (۱۱) کنترل مثبت.

انجام گرفته بر روی نمونه های حاصل از پوست، زخم و عفونت های ریوی فراوانی این ژن بیش از سایر نمونه های ارزیابی شده است (۱۷ و ۳۳).

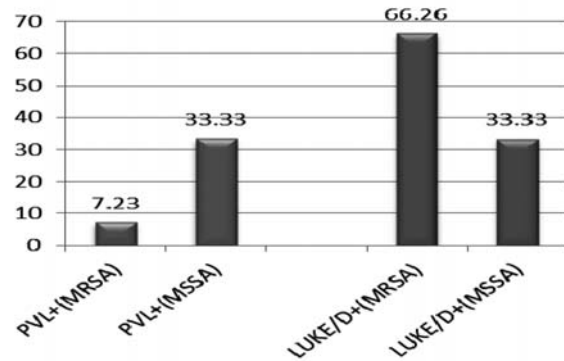
به دلیل خطرناک بودن سویه های استافیلوکوکوس اورئوس حاوی ژن پنتون والتین لکوسیدین، بیماری های ایجاد شده توسط این سویه ها می تواند به عنوان یک عامل تهدید کننده زندگی محسوب گردد. از این رو تشخیص و درمان زود هنگام آن توصیه می شود. به منظور تشخیص زود هنگام بیماری در بیماران مبتلا و افراد حامل و نیز جلوگیری از انتقال فرد به فرد آن، می توان از روش هایی مانند PCR معمولی استفاده کرد.

نتیجه گیری

با توجه به فراوانی بالای ژن های *PVL* و *LUKE/D* در میان سویه های *MRSA* و نیز شدید و کشنده بودن بیماری های ایجاد شده توسط این باکتری، تشخیص زود هنگام و درمان مناسب برای جلوگیری از پیشرفت بیماری باید مدنظر قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از پرسنل بیمارستان طالقانی اهواز به دلیل همکاری صمیمانه در جمع آوری نمونه ها کمال امتنان را دارند.



شکل ۴: مقایسه فراوانی ژن های *PVL+* و *LUKE/D+* در سویه های مقاوم و حساس به متی سیلین.

دارای ژن *LUKE/D* بوده اند. در پژوهش یاد شده بین فراوانی ژن *LUKE/D* در سویه های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از خون و عفونت های ریوی ارتباط معنی داری مشاهده نشد، اما این ارتباط در سویه های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از موارد پوستی و نمونه های ادرار معنی دار بود (۱۷).

در مطالعات مختلف فراوانی ژن پنتون والتین لکوسیدین در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس بین ۲ تا ۳۵٪ بوده است (۲۱ و ۳۱). در حالی که فراوانی این ژن در آرژانتین ۵۶٪ (۳۲) و ایران ۶۱/۸٪ (۱۷) به طور قابل توجهی بالاتر گزارش شده است. دلیل تفاوت گزارش های مربوط به فراوانی این ژن در مناطق جغرافیایی مختلف می تواند به دلیل کاربرد روش های گوناگون مورد بررسی باشد. فراوانی بالای ژن *PVL* در این پژوهش می تواند به دلیل نوع نمونه مورد بررسی باشد. زیرا در مطالعات مختلف

References

- Woodford N, Livermore DM. Infections caused by Gram-positive bacteria: a review of the global challenge. *J Infect.* 2009; 59(S1): S4-S16.
- Kaiser ML, Thompson DJ, Malinoski D, Lane C, Cinat ME. Epidemiology and risk factors for hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among burn patients. *J Burn Care Res.* 2011; 33(3): 429-34.
- Warren DK, Guth RM, Coopersmith CM, Merz LR, Zack JE, Fraser VJ. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in a surgical intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006; 27(10): 1032-40.
- Fuchs PC, Kopp J, Hofner H, Kleiner U, Pallua N. MRSA- retrospective analysis of an outbreak in the burn centre Aachen. *Burns.* 2002; 28(6): 575-8.
- Jeremi LP. Frequency of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in healthy nasal carriers in Pomoravlje district. *Acta Medica Medianae.* 2010; 49(1): 33-6.
- Diederer BMW, Kluytmans JAJW. The emergence of infections with community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect.* 2006; 52(3): 157-68.
- Grundmann H, Aires-de-Sousa M, Boyce J, Tiemersma E. Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet.* 2006; 368(9538): 874-85.

8. von Eiff C, Friedrich AW, Peters G, Becker K. Prevalence of genes encoding for members of the staphylococcal leukotoxin family among clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Diag Microbiol Infect Dis*. 2004; 49(3): 157-62.
9. Morinaga N, Kaihou Y, Noda M. Purification, cloning and characterization of variant LukE-LukD with strong leukocidal activity of staphylococcal bi-component leukotoxin family. *Microbiol Immunol*. 2003; 47(1): 81-90.
10. Barrio MB, Rainard P, Pre´vost G. LukM/Luk F'-PV is the most active *Staphylococcus aureus* leukotoxin on bovine neutrophils. *Microbes Infect*. 2006; 8(8): 2068-74.
11. Clark J. A brief review of Panton-Valentine leucocidin producing staphylococcal infections in the intensive therapy unit. *Current Anaesthesia & Critical Care*. 2008; 19: 330-2.
12. Cunnington A, Brick T, Cooper M, Danin J, Hunt D, Jeanes A, Kearns AM, Nolan M, Lyall H. Severe invasive Panton-Valentine Leucocidin positive *Staphylococcus aureus* infections in children in London, UK. *J Infect*. 2009; 59(1): 28-36.
13. Meyer F, Girardot R, Piemont Y, Pre´vost G, Colin DA . Analysis of the specificity of Panton-Valentine Leucocidin and gamma-hemolysin F component binding. *Infect Immun*. 2009; 77(1): 266-73.
14. Forbes BA, Sahm DF, Welssfeld AS. Baily and Scotts Diagnostic Microbiology, 12 Ed, Mosby Inc., St. Louis.
15. Strommenger B, Kettlitz C, Werner G, Witte W. Multiplex PCR assay for simultaneous detection of nine clinically relevant antibiotic resistance genes in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*. 2003; 41(9): 4089-94.
16. Merlino J, Watson J, Rose B, Beard_pegler M, Gottlieb T, Bradury R , Harbour C. Detection and expression of methicillin/oxacillin resistance in multidrug-resistant and non-multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in Central Sydney, Australia. *J Antimicrob Chemother*. 2002; 49(5): 793-801.
17. Havaei SA, Ohadian Moghadam S, Pourmand MR, Faghri J. Prevalence of genes encoding bi-component leukocidin among clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Iran J Publ Health*. 2010; 39(1): 8-14.
18. Arciola CR, Baldassarri L, Von Eiff C, Campoccia D, Ravaioli S, Pirini V, Becker K, Montanaro L. Prevalence of genes encoding for staphylococcal leukocidal toxins among clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from implant orthopaedic infections. *Int J Artif Organs*. 2007; 30(9): 792-7.
19. Graves SF, Kobayashi SD, Braughton KR, Diep BA, Chambers HF, Otto M , Deleo FR. Relative contribution of Panton-Valentine leukocidin to PMN plasma membrane permeability and lysis caused by USA300 and USA400 culture supernatants. *Microbes Infect*. 2010; 12(6): 446-56.
20. Gang RK, Sanyal SC, Bang RL, Mokaddas E, Lari AR. Staphylococcal septicemia in burns. *Burns*. 2000; 26(4): 359-66.
21. Santucci Z, Gobara S, Santos CR, Fontana C, Levin AS. Infections in a burn intensive care unit: experience of seven years. *J Hosp Infect*. 2003; 53(1): 6-13.
22. Bagdonas R, Tamelis A. Analysis of burn patients and the isolated pathogens. *Lithuanian Surgery*. 2004; 2(3): 190-3.
23. Turnidge JD, Nimmo GR, Pearson J, Gottlieb T, Collignon PJ, Australian Group on Antimicrobial Resistance. Epidemiology and outcomes for *Staphylococcus aureus* bacteraemia in Australian hospitals, 2005-6: report from the Australian Group on Antimicrobial Resistance. *Commun Dis Intell*. 2007; 31(4): 398-403.
24. Li J, Zeng H. A study of MRSA in a burn unit with PCR fingerprinting. *Zhonghua shao shans za zhi*. 2001; 17(2): 88-90.
25. Stefani S, Varaldo P. Epidemiology of methicillin-resistant staphylococci in Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2003; 9(12): 1179-86.
26. Fatholahzadeh B, Emaneini M, Aligholi M, Gilbert G, TaheriKalani M, Jonaidi N, Eslampour MA, Feizabadi MM. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones from a teaching hospital in Tehran. *Jpn J Infect Dis*. 2009; 62(4): 309-11.
27. Japoni A, Alborzi A, Orafa F, Rasouli M, Farshad SH. Distribution patterns of methicillin resistance genes (*mecA*) in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens. *Iran Biomed J*. 2004; 8(4): 173-8.
28. Rahbar M, Yaghoobi M, Fattahi A. Comparison of different laboratory methods for detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Pak J Med Sci*. 2006; 22(4): 442-5.
29. Ekrami A, Samarbafzade AR, Alavi M, Kalantar E, Hamzeloi F. Prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus* species isolated from burn patients in a burn center, Ahvaz, Iran. *Jundishapur J Microbiol*.

- 2010; 3(2): 84-91.
30. Vahdani P, Saifi M, Aslani MM, Asarian AA, Sharafi K. Antibiotic resistance patterns in MRSA isolated from patients admitted in ICU infectious ward. *Tanaffos*. 2004; 3(11): 37-44.
 31. Melles DC, Gorkink R, Boelens H, Snijders SV, Peeters JK, Moorhouse MJ, van der Spek PJ, van Leeuwen WB, Simons G, Verbrugh HA, van Belkum A. Natural population dynamic and expansion of pathogenic clones of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest*. 2004; 114(12): 1732-40.
 32. Aires-ed-sousa M, Conceicao T, Lencastre H. Unusually high prevalence of nosocomial Panton-Valentine leukocidin positive *Staphylococcus aureus* isolates in Cape Verde Islands. *J Clin Microbiol*. 2006; 44(10): 3790-3.
 33. Holmes A, Ganner M, McGuane S, Pitt TL, Cookson BD, Kearns AM. *Staphylococcus aureus* isolates carrying Panton-Valentine Leucocidin genes in England and Wales: frequency, characterization, and association with clinical disease. *J Clin Microbiol*. 2005; 43(5): 2384-90.



The prevalence of genes encoding Leukocidins in both methicillin resistant and methicillin sensitive strains of *Staphylococcus aureus* strains isolated from burn patients in Taleghani hospital, Ahvaz

Hajar Hoveizavi¹, Azar Dokht Khosravi², Zahra Farshadzadeh³

¹MSc., Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran

²Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Infectious and Tropical Diseases Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

³Lecturer, Infectious and Tropical Diseases Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Abstract

Background and Objective: Various strains of *Staphylococcus aureus* produce different bi-component toxins such as *LUKE/D* and *PVL*. This strains of *S.aureus* strains are associated with severe skin diseases, fatal pneumonia and osteomyelitis with high morbidity and mortality. The aim of this study was to determine the prevalence of genes encoding Leukocidins in *Staphylococcus aureus* strains resistant and sensitive to methicillin isolated from burn patients in, Ahvaz.

Materials and Methods: This cross sectional study was performed on scar specimens of 203 burn patients hospitalized in Taleghani hospital. All samples were evaluated by traditional culture method and standard biochemical tests for detecting of *S. aureus* strains. After extracting *DNA*, *mecA*, *PVL* and *LUKE/D* genes were detected by using the polymerase chain reaction technique (PCR).

Results: *S. aureus* strains were isolated from 95 cases out of total studied samples (46.8%), between them 83 strains (87.36%) were *mecA* positive. The prevalence of *PVL* and *LUKE/D* genes in MRSA strains were 7.23% and 66.26% respectively, while this prevalence were 33.3% for both genes in MSSA strains.

Conclusion: Regarding to the high frequency of *PVL* and *LUKE/D* genes in MRSA strains, also to severe and lethal diseases caused by these bacteria, early diagnosis and proper treatment must be considered for the prevention of disease progress.

Keywords: Bi-component leukocidin, MRSA, MSSA, Burn infection.