Archive of SID

Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2014; 17(87): 1-8

The relation between accessory gene regulator (agr) types of *S.aureus* and some phenotypic criteria

Hasannejad Bibalan M[1]*, Ghaemi E.A[2], Shakeri F[2], Javid N[2]

1- Department of Microbiology, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- Department of Microbiology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

Received:30 Apr 2014, Accepted: 11 Jun 2014

Abstract

Background: *Staphylococcus aureus* is a gram-positive bacterium that has remained a persistent pathogen, causing infections such as endocarditis and toxic shock syndrome in humans. The accessory gene regulator (*agr*) system of *Staphylococcus aureus* is responsible for controlling the expression of many genes that code virulence factors and hemolysis.This study was carried out to determine the S.aureus agr group based on their source of isolation and any relation between agr specificity groups, pigmentation and hemolysis .

Materials and Methods: DNA of 194 *S. aureus* isolates were extracted by lysozym-phenol chloroform method, included 85clinical samples, 58 samples which isolated from nose of health care workers and 51 cases obtained from food product in Gorgan, North of Iran. PCR-based assays were used to evaluate *agr* locus nucleotide polymorphism for the identification of agr specificity group. Pigmentation on nutrient agar medium and hemolysis on sheep Blood agar medium were assessed.

Results: The majority of isolates belonged to *agr* group I (43/3%), followed by *agr* group III (28/87%), *agr* group II (22/68%), and *agr* group IV (5/15%). The isolates belonged to agr group IV have greater ability to produce hemolysin (% 60) whereas isolates belonged to agr group III have greater ability to produce pigment (% 60.5).

Conclusion: agr group I was predominant among health care worker and food product specimens in Gorgan, North of Iran but in strains isolated from patient, agr group III was predominant. Investigation of the possible role of agr group III in *Staphylococcus aureus* infection in the next studies is recommended.

Keywords: Accessory gene regulator, Polymerase Chain Reaction, Staphylococcus aureus

*Corresponding Author:
Address: Department of Microbiology, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Email: meysam_hasannejad@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۱۷، شماره۶ (شماره پیاپی۸۷)، شهریور ۱۳۹۳، ۸-۱

بررسی ارتباط بین تیپ‌های مختلف Accessory gene regulator استافیلوکوکوس اورئوس با برخی از مشخصه‌های فنوتیپی

میثم حسن نژاد بی بالان[۱]*، عزت الله قائمی[۲]،فاطمه شاکری[۳]، ناعمه جاوید[۳]

۱- دانشجوی دکترای تخصصی باکتری شناسی،گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۲- استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران
۳-کارشناس ارشد میکروب شناسی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس یکی از عوامل اصلی عفونت‌های کسب شده از اجتماع و بیمارستان است. در بسیاری از بیماری‌های انسانی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس،سیستم agr مسئول کنترل و هماهنگی تولید فاکتورهای ویرولانس، اگزوتوکسین‌های ترشحی وهمولیزین‌ها می‌باشد. شناسایی فراوانی این تیپ‌ها در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده در شهر گرگان و سپس تعیین ارتباط احتمالی این تیپ‌ها با برخی از مشخصه‌های فنوتیپی از قبیل تولید همولیزین و پیگمان هدف این مطالعه می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی-تحلیلی تعداد ۱۹۴ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس از بیماران، حاملین سالم و نمونه‌های غذایی شهر گرگان جداسازی شده بود، برای مطالعه استفاده شد. DNA تمام نمونه‌ها با استفاده از روش لیزوزیم-فنل کلروفرم استخراج شد و با استفاده از پرایمرهای ختصاصی تیپ‌های ژن agr به روش PCR تکثیر و شناسایی گردید. به منظور بررسی تولید همولیزین و پیگمان به ترتیب از محیط‌های بلاداگار و نوترینت آگار استفاده گردید.

یافته‌ها: در این مطالعه توصیفی-تحلیلی تمامی ۱۹۴ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی با این روش قابل تایپ‌بندی بودند. تنوع تایپ‌ها نشان داد که بیشتر ایزوله‌ها متعلق به agr group I بودند(۴۳/۳ درصد) و بعد از آن agr group III (۲۸/۹ درصد)، agr group II(۲۲/۷ درصد) و agr group IV(۵/۱ درصد) قرار دارد. agr group IV با ۶۰ درصد و agr group III با ۶۰/۵ درصد به ترتیب بیشترین میزان تولید همولیزین و پیگمان را از خود نشان دادند.

نتیجه گیری: در مطالعه ما از میان ایزوله‌های جدا شده از بیماری‌های عفونی، agr group III از شیوع بیشتری برخوردار بود. بنابراین بررسی نقش احتمالی تیپ agr group III در ایجاد عفونت استافیلوکوکوس اورئوس در مطالعات آینده پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: تنظیم کننده ژنی فرعی ،واکنش زنجیره ای پلیمراز ، استافیلوکوکوس اورئوس

***نویسنده مسئول:** تهران، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، گروه میکروبیولوژی
Email:meysam_hasannejad@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از عوامل اصلی عفونت‌های کسب شده از اجتماع و بیمارستان است. این باکتری یکی از اعضای فلور میکروبی انسان است که مسئول رنج وسیعی از عفونت‌ها از قبیل آبسه زیرجلدی،کورک،کفگیرک، سندروم پوست برهنه، سندروم شوک سمی، سپسیس و پنومونی است(۱).

در بسیاری از بیماری‌های انسانی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس، سیستم agr مسئول کنترل و هماهنگی تولید فاکتورهای ویرولانس، اگزوتوکسین‌های ترشحی وهمولیزین‌ها می‌باشد. این سیستم متشکل از دو جز است: لوکوس agr که رفتارش وابسته به تراکم سلول باکتری است(پدیده Quorum sensing) و ترشح پپتید خود القاگر(Auto inducer peptide) که به جمعیت باکتری این امکان را می‌دهد که به یک غلظت آستانه یا بحرانی برسد(۲).

لوکوس agr از دو واحد رونویسی مختلف تشکیل شده است: RNAII و RNAIII که توسط پروموتورهای P_2 و P_3 از هم متمایز می‌شوند. اپران P_2 مسئول کد کردن چهار پروتئین agrA ، agrB ، agrC و agrD است و پروموتور P_3 در مسیری مخالف، RNAIII یا همان مولکول افکتور سیستم agr را کد می کند(۳).

agrC با همکاری agrA سیستم دو جزئی انتقال سیگنال(signal transduction) را تشکیل می‌دهند که agrC به عنوان گیرنده در غشا قرار دارد و agrA که تنظیم کننده پاسخ است و برای رونویسی مولکول RNAIII و اپران agr لازم است(۲).

پپتید خود القاگر دارای یک حلقه تیولاکتونی است که در ابتدای فاز نمایی تولید شده و باعث فعال شدن دو پروموتور P_2 و P_3 می‌شود. استافیلوکوکوس اورئوس را می‌توان بر اساس تفاوت در توالی ژن agrC که کدکننده گیرنده پپتیدخود القاگر است و ژن agrD که کدکننده پپتید خود القاگر است به چهار گروه agrI ، agrII ، agrIII و agrIV تیپ‌بندی کرد(۴، ۵).

با توجه به اهمیت ژن agr در تنظیم بیان پروتئین‌های سطح سلول، اگزوتوکسین‌های ترشحی، همولیزین‌ها و فاکتورهای ویرولانس و تیپ‌های مختلف این ژن که در مناطق مختلف دنیا دارای فراوانی و شیوع متفاوتی هستند و توجه به این مسئله که بیماری‌زایی سویه‌های متعلق به هر تیپ در مناطق مختلف متفاوت است، ضروری است که سویه‌های جدا شده از هر منطقه به منظور یافتن تیپ غالب آن منطقه تعیین تیپ شوند. به عنوان مثال در برخی از مطالعات انجام شده مشخص گردید که ایزوله‌های متعلق به agr group III دارای توانایی بیشتری در تولید سندروم شوک سمی هستند و هم‌چنین مشخص گردید که ایزوله‌های متعلق به agr group I دارای تواتایی بیشتری در بروز اندوکاردیت و باکتریمی هستند.

در این مطالعه تلاش شده است تا ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از ناقلین سالم، بیماران و نمونه‌های غذایی شهر گرگان تعیین تیپ شوند و سپس بررسی‌هایی به منظور یافتن تیپ غالب در ناقلین سالم، بیماران و نمونه‌های غذایی انجام شود و در صورت امکان بتوان رابطه میان نوع تیپ تعیین شده با برخی از مشخصه‌های فنوتیپی از قبیل تولید همولیزین و پیگمان را بررسی نمود.

مواد و روش

در این مطالعه توصیفی-تحلیلی تعداد ۱۹۴ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس بین سال‌های ۱۳۸۸تا۱۳۹۱ از بیماران(تعداد ۸۵ ایزوله)، حاملین سالم شاغل در بیمارستان‌های آموزشی (تعداد ۵۸ ایزوله) و نمونه‌های غذایی (تعداد ۵۱ ایزوله) شهر گرگان جداسازی شده بود، برای مطالعه استفاده شد. در هر مورد ابتدا ایزوله در محیط آگار خون دار و مانیتول سالت آگار احیا شد و برای اطمینان از خلوص، با تست‌های بیووشیمیائی استاندارد مثل رنگ آمیزی گرم، تست کاتالاز، تست کواگولاز اسلایدی و لوله‌ای و تست Dnase مورد بررسی مجدد قرار داده شد. اطلاعات دموگرافیک بیماران و حاملین و نیز محل جدا

www.SID.ir

Archive of SID

سازی از نمونه مواد غذائی در چک لیست تکمیل و وارد نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ گردید.

استخراج DNA ژنومی: استخراج با استفاده از روش لیزوزیم-فنل کلروفرم و بهره‌گیری از نمک سدیم سارکوزین۲ درصد (۳۰۰ میکرولیتر)، پروتئیناز K (۳۰ میکرولیتر)، RnaseA (۵ میکرولیتر) انجام شد (شرکت فرمنتاز) و DNA توسط فنل کلروفرم ایزوامیل الکل، کلروفرم و اتانول سرد استخراج شد(۶).

Agr تایپینگ: تمامی ۱۹۴ ایزوله با استفاده از روش PCR و بر اساس پرایمر ذکر شده در جدول۱ تیپ‌بندی شدند(۷). از آنجایی که چهار تیپ مد نظر بود، برای هر تیپ یک جفت پرایمر در نظر گرفته شد ولی پرایمر رفت هر چهار گروه مشابه است.

جدول۱.پرایمرهای مورد استفاده برای تیپ بندی ژن agr

ژن	اندازه محصول	پرایمرها
agr I	441-bp	PanF 5-ATG CAC ATG GTG CAC ATG C-3
		R 5-GTC ACA AGT ACT ATA AGC TGC GAT-3
agr II	575-bp	R 5-TAT TAC TAA TTG AAA AGT GGC CAT AGC-3
agr III	323-bp	R 5-GTA ATG TAA TAG CTT GTA TAA TAA TAC CCA G-3
agr IV	659-bp	R 5-CGA TAA TGC CGT AAT ACC CG-3

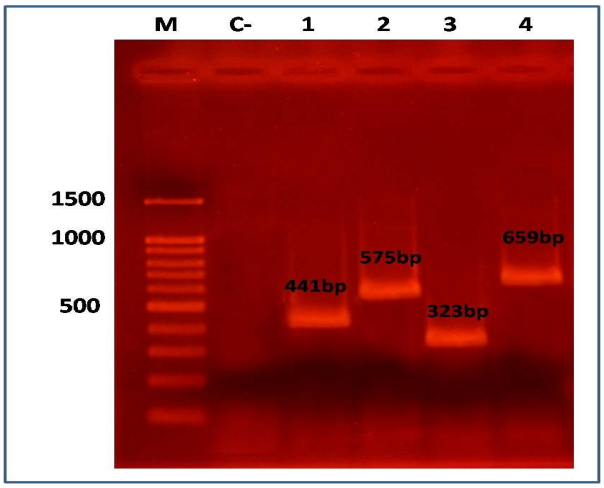
فرایند PCR از طریق تهیه مخلوطی به حجم نهایی ۲۵میکرولیتر که شامل موارد زیر است، انجام شد:

۱/۵ واحد آنزیم Taq DNApol،۲۰۰میکرومول dNTP، ۵ میکرومول کلرید منیزیم، ۲/۵میکرولیتر بافر ۱۰×، ۵ میکرولیتر از DNA استخراج شده و ۱ میکرومول از هر کدام از پرایمرها (شرکت فرمنتاز) به کار برده شد. برنامه ترموسایکلر برای PCR به ترتیب شامل مرحله واسرشت اولیه ۶ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد و به دنبال آن ۳۲ سیکل واسرشت برای ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، مرحله اتصال به مدت ۱ دقیقه در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد و تکثیر به مدت ۷۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و بالاخره تکثیر نهایی ۸ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. برای بررسی محصول PCR از روش الکتروفورز بوسیله ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد و بعد از رنگ آمیزی در محلول اتیدیوم بروماید با دستگاه ژل داک مشاهده شد(۷). آنالیز اطلاعات با نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و تست آماری کای دو انجام گردید.

بررسی تولید همولیزین و پیگمان: به منظور بررسی تولید همولیزین، تمامی نمونه‌ها بر روی محیط آگار خوندار کشت داده شد. هم‌چنین جهت بررسی تولید پیگمان، نمونه‌ها روی محیط نوترینت آگار کشت داده شد.

یافته‌ها

تنوع تایپ‌ها نشان داد که بیشتر ایزوله‌ها متعلق به agr group I بودند(۴۳/۳ درصد) و بعد از آن agr group III (۲۸/۹ درصد)، agr group II(۲۲/۷ درصد) و agr group IV (۵/۱ درصد) قرار دارد ولی تفاوت آماری معنی‌داری در این مورد مشاهده نشد(p>۰/۰۵) (شکل ۱).



شکل۱. محصول PCR چاهک یک تا چهار به ترتیب agr group I تا IV، M: مارکر، C: کنترل منفی

توزیع فراوانی تیپ‌های استافیلوکوکوس اورئوس بر مبنای ژن agr در ایزوله‌های مختلف بر حسب منبع جدا

www.SID.ir

Archive of SID

سازی با یکدیگر متفاوت بود. در این مطالعه، قسمت اعظم ایزوله‌های جداشده از نمونه‌های غذایی(۵۲/۹ درصد) و حاملین سالم(۴۸/۳ درصد) متعلق به agr group I بود در حالی که فراوانترین تیپ agr در ایزوله‌های جداشده از بیماران(۴۱/۲ درصد) متعلق به agr group III بودند که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود($p<0/05$). در تمامی گروه‌ها agr group IV کمترین فراوانی را به خود اختصاص داده است ولی در بین آنها فراوانی این تیپ در حاملین سالم از بقیه نیز کمتر بود(جدول۲).

جدول۲. توزیع فراوانی تیپ های ژن agr در ایزوله های مختلف بر حسب منبع جدا سازی

محل جداسازی	agr I تعداد(درصد)	agr II تعداد(درصد)	agr III تعداد(درصد)	agr IV تعداد(درصد)	کل تعداد(درصد)
بیماران	۲۹(۳۴/۱)	۱۵(۱۷/۶)	۳۵(۴۱/۲)*	۶(۷/۱)	۸۵(۴۳/۸)
حاملین سالم	۲۸(۴۸/۳)	۱۳(۲۲/۴)	۱۶(۲۷/۶)	۱(۱/۷)	۵۸ (۲۹/۹)
مواد غذایی	۲۷(۵۲/۹)	۱۶(۳۱/۴)	۵(۹/۸)	۳(۵/۹)	۵۱(۲۶/۳)
کل	۸۴(۴۳/۳)	۴۴(۲۲/۷)	۵۶(۲۸/۹)	۱۰(۵/۱)	۱۹۴

*معنی دار بود

درگروه بیماران بر خلاف گروه حاملین سالم و موادغذایی(I agr group غالب بود)،III agr group به صورت معنی داری غالب بود.

بین تیپ agr و نوع عفونت بالینی که باکتری از آن جدا شده بود، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد($p>0/05$). همان طور که انتظار می‌رفت در تمامی انواع عفونت‌ها شیوع agr group III بیش از بقیه تیپ‌ها بود به جز نمونه‌هائی که از کشت خون جدا شده بود که در این مورد تایپ I شایع‌تر از تیپ III بود(۶ مورد در برابر ۵ مورد). از طرفی ۵۰ درصد ایزوله‌های جدا شده از بیماران دارای تیپ IV، از عفونت ادراری جدا شده بود(جدول ۳).

جدول ۳. توزیع فراوانی تیپ های ژن agr استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده از بیماران.

نوع نمونه	agr I تعداد(درصد)	agr II تعداد(درصد)	agr III تعداد(درصد)	agr IV تعداد(درصد)	کل
ادرار	۸(۲۸/۶)	۶(۲۱/۴)	۱۱(۳۹/۳)	۳(۱۰/۷)	۲۸
زخم	۹(۴۰/۹)	۱(۴/۵)	۱۰(۴۵/۵)	۲(۹/۱)	۲۲
خون	۶(۳۷/۵)	۴(۲۵)	۵(۳۱/۲)	۱(۶/۲)	۱۶
غیره	۶(۳۱/۶)	۴(۲۱/۱)	۹(۴۷/۴)	۰	۱۹
کل	۲۶(۳۲/۵)	۱۳(۱۶/۲)	۳۵ (۴۳/۷)	۶(۷/۵)	۸۵

تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد($p>0.05$)

برخلاف غالبیت agr group III در نمونه های جداشده از ادرار،زخم و...،در نمونه های جداشده از خون agr group I غالب بود.

از میان ۱۹۴ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس، ۱۲۰نمونه(۶۲ درصد) دارای توانایی تولید همولیزین در محیط جامد آگار خوندار حاوی ۵ درصد خون گوسفند بودند که در این میان agr group IV با ۷۰ درصد بیشترین میزان تولید همولیز را در بین نمونه‌ها از خود نشان داد و پس از آن agr group I با ۶۵/۴ درصد قرار دارد در حالی که agr group II با ۵۴/۵ درصد کمترین میزان تولید همولیز را از خود نشان داد اما تفاوت آماری معنی‌داری بین نوع گروه agr و تولید یا عدم تولید همولیزین مشاهده نشد($p>0/05$).(جدول۴)

جدول۴.توزیع فراوانی تولید همولیز بین نمونه های استافیلوکوکوس اورئوس

گروه agr	عدم تولید همولیز تعداد(درصد)	تولید همولیز تعداد(درصد)	کل
agr group I	۲۹ (۳۴/۶)	۵۵(۶۵/۴)	۸۴
agr group II	۲۰(۴۵/۵)	۲۴(۵۴/۵)	۴۴
agr group III	۲۲(۳۹/۳)	۳۴(۶۰/۷)	۵۶
agr group IV	۳ (۳۰)	۷(۷۰)	۱۰
کل	۷۴ (۳۸)	۱۲۰(۶۲)	۱۹۴

تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد($p>0.05$)

نمونه های متعلق به agr group IV بیشترین همولیز و نمونه های متعلق به agr group II کمترین همولیز را نشان دادند.

www.SID.ir

Archive of SID

از میان ۱۹۴ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس، ۱۰۶نمونه(۵۴/۶ درصد) قادر به تولید پیگمان بودند که در این میان agr group III با ۶۴/۳ درصد بیشترین میزان تولید پیگمان را در بین نمونه‌ها از خود نشان داد و پس از آن agr group IV با ۶۰ درصد قرار دارد در حالی که agr group I با ۴۷/۶ درصد کمترین میزان تولید پیگمان را از خود نشان داد اما تفاوت آماری معنی‌داری بین نوع گروه agr و تولید یا عدم تولید پیگمان مشاهده نشد($p>0/05$)(جدول ۵).

جدول۵.توزیع فراوانی پیگمانتاسیون بین نمونه های استافیلوکوکوس اورئوس

گروه agr	عدم تولید پیگمان تعداد(درصد)	تولید پیگمان تعداد(درصد)	کل
agr group I	۴۴(۵۲/۴)	۴۰(۴۷/۶)	۸۴
agr group II	۲۰(۴۵/۵)	۲۴(۵۴/۵)	۴۴
agr group III	۲۰(۳۵/۷)	۳۶(۶۴/۳)	۵۶
agr group IV	۴(۴۰)	۶(۶۰)	۱۰
کل	۸۸(۴۵/۴)	۱۰۶(۵۴/۶)	۱۹۴

تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد($p>0.05$)
نمونه های متعلق به agr group III بیشترین میزان تولید پیگمان و نمونه های متعلق به agr group I کمترین میزان را نشان دادند.

بحث

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از عوامل اصلی عفونت‌های کسب شده از اجتماع و بیمارستان است. این باکتری یکی از اعضای فلور میکروبی انسان است که مسئول رنج وسیعی از عفونت‌ها از قبیل آبسه زیرجلدی، کورک، کفگیرک، سندروم پوست برهنه، سندروم شوک سمی، سپسیس و پنومونی است.

در این مطالعه، مجموعه ژنی agr مبنای طبقه‌بندی استافیلوکوکوس اورئوس قرار گرفته است. اولین بار دفور و همکاران(۸) در سال ۲۰۰۰ در آمریکا از این روش برای طبقه‌بندی استافیلوکوکوس اورئوس‌ها استفاده کرد و نشان دادند که می‌توان این باکتری را به چهار گروه I، II ، III وIV تقسیم کرد. شایع‌ترین تیپ agr در این مطالعه تیپ ۱ بود. غالبیت agr group I در مطالعات انجام شده قبلی نیز مشاهده شده بود، برای مثال در مطالعه شوپسین و همکاران(۷) agr group I با ۴۲ درصد بیشترین میزان را در بین ایزوله‌های جداشده از کودکان و والدین شان دارا بود و در مطالعه وان لی و همکاران(۹) از میان ۱۹۲ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس،۷۱ درصدمتعلق به agr group I بودند و در مطالعه نجارپیرایه و همکاران(۱۰) از ۲۱۲ ایزوله،۵۵/۱ درصد متعلق به agr group I بودند. در مطالعه اخیر که توسط ایندراواتانا و همکاران(۱۱) در تایلند انجام گرفت،agr group I با ۵۸/۷ درصد بیشترین فراوانی را در بین سایر گروه‌ها از خود نشان داد.

شایع‌ترین تیپ در ایزوله‌های جدا شده از مواد غذائی و حاملین سالم نیز همین تیپ ۱ بود ولی در ایزوله‌های جدا شده از بیماران تیپ ۳ به صورت معنی‌داری غالب بود. در مطالعه بوباکر و همکاران(۱۲) در تونس بر روی ایزوله‌های جدا شده از بیماران، مشخص شد که ۱۵/۷ درصد ایزوله‌ها متعلق به agr group I ، ۳/۵ درصد ایزوله‌ها متعلق به agr group II ، ۴۰/۳ درصد ایزوله‌ها متعلق به agr group III هستند. هم‌چنین در مطالعه اخیری که توسط چن و همکاران(۱۳) در تایوان بر روی ایزوله‌های جدا شده از بیماران، مشخص شد که agr group I با ۷۴ درصد دارای بیشترین فراوانی بود.

مطالعاتی که براین اساس انجام شده نشان می‌دهد که بعضی از تیپ‌های agr با نوع خاصی از بیماری مرتبط است مثلا جارود و همکاران(۱) در مطالعه خود در آمریکا نشان داد که ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مولد سندروم شوک توکسیک متعلق به agr group III هستند و سویه‌های مولد سندروم فلسی شدن پوست متعلق به agr group IV هستند. هم‌چنین بوباکر و همکاران(۱۲) در مطالعه خود نشان داد که ایزوله‌های متعلق بهagr group III عامل عفونت‌های غیرتهاجمی هستند و ایزوله‌های متعلق به agr group I عامل عفونت تهاجمی به خصوص باکتریمی هستند. در مطالعه اخیری که توسط راسموسن و همکاران(۱۴) در سوئد انجام شد، مشخص گردید که agr group II اغلب از بیماری‌های مهاجم و agr group III بیشتر از نمونه‌های حاملین جداشده است.

www.SID.ir

Archive of SID

به جز ایزوله‌های جدا شده از کشت خون در سایر ایزوله‌های جدا شده از بیماران agr group III غالب بوده است. آیا این یافته نشان دهنده آن است که قدرت بیماری‌زائی یا تهاجم استافیلوکوکوس اورئوس تیپ agr group III با سایر تیپ‌ها تفاوت دارد یا این پدیده اتفاقی است؟ برای یافتن پاسخ این سئوال انجام مطالعات وسیع‌تر در استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از عفونت‌های مختلف و تعیین تیپ agr پیشنهاد می‌گردد، هم‌چنین مقایسه فاکتورهای ویرولان در ایزوله‌های جدا شده از بیماری‌های مختلف نیز می‌تواند به درک بهتر این مطلب کمک نماید.

در بین ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از مواد غذایی موجود در این پژوهش،agr group I با ۵۲/۹ درصد دارای بیشترین فراوانی بود در حالی که در معدود مطالعات انجام شده بر روی نمونه‌های غذایی از قبیل مطالعه ممتاز و همکاران(۱۵) که بر روی ۸۶ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از شیر انجام گرفت، مشخص شد که agr group II بیشترین میزان را در بین گروه‌های agr داراست. این نتایج نشان دهنده آن است که تنوع تیپ agr در بین ایزوله‌های جداشده از مواد غذایی مختلف متفاوت است و نوع ماده غذائی، نحوه نگهداری، پروسه‌های انجام شده بر آن و عوامل دیگر می‌تواند بر نتیجه نهایی تاثیر گذار باشد.

توزیع فراوانی توانایی ایجاد همولیز در ایزوله‌های متعلق به گروه agr group IV از بقیه بیشتر بود به این معنی که از ۱۰ ایزوله متعلق به این گروه ۷ (۷۰ درصد)ایزوله همولیز مثبت بودند در حالی که این رقم در ایزوله‌های متعلق به agr group II ۵۴/۵ درصد بوده و کمتر از سایر گروه‌ها می‌باشد ولی ارتباط آماری معنی‌داری بین توانایی ایجاد همولیز در آگار خوندار و گروه agr وجود ندارد. مطالعه مشابهی برای مقایسه با نتایج حاصل از این پژوهش یافت نشد ولی تنها نتیجه قابل ذکر در این مورد این است که تمامی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران که متعلق به agr group IV بودند، توانایی تولید همولیز را از خود نشان دادندکه ممکن است نشان‌گر فعال بودن همولیزین‌های استافیلوکوکی و بیان مناسب‌تر آنها در این گروه agr باشد.

در این پژوهش، ۱۰۶نمونه(۵۴/۶ درصد) قادر به تولید پیگمان بودند که در این میان agr group III با ۶۴/۳ درصد بیشترین میزان تولید پیگمان را در بین نمونه‌ها از خود نشان داد در حالی که agr group I با ۴۷/۶ درصد کمترین میزان تولید پیگمان را از خود نشان داد اما مطالعه مشابهی برای مقایسه با نتایج حاصل از این پژوهش یافت نشد ولی تنها نتیجه قابل ذکر در این مورد این است که اکثر ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران که متعلق به agr group III بودند، توانایی تولید پیگمان را از خود نشان دادند.

هم‌چنین در این مطالعه همه ۱۹۴ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی با این روش قابل تایپ‌بندی بودندو در یکی از این چهار گروه قرار گرفتند. اگرچه agr group IV در بسیاری از مطالعات قبلی از جمله مطالعات شوپسین و همکاران(۷) و وان لی و همکاران(۹) تشخیص داده نشد، ما در این مطالعه توانستیم agr group IV را از بین نمونه‌های زخم،خون و ادرار تشخیص دهیم.

نتیجه گیری

یکی از اهداف تیپ‌بندی باکتری‌ها استفاده از آنها به عنوان مارکر ردیابی به خصوص در درک اپیدمیولوژی بیماری‌های عفونی است که روش agr تایپینگ و سایر روش‌ها از قبیل spa, coa تایپینگ و PFGE,MLST می‌توانند ابزار مناسبی برای ردیابی ملکولی استافیلوکوک‌ها به ویژه در outbreak های بیمارستانی باشند.

تشکر و قدردانی

در پایان از تمامی کسانی که مار را در انجام این مطالعه یاری فرمودند، تشکر و قدردانی صورت می‌گیرد.

منابع

1. Jarraud S, Mougel C, Thioulouse J, Lina G, Meugnier H, Forey F, et al. Relationships

www.SID.ir

Archive of SID

between Staphylococcus aureus genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. Infection and Immunity. 2002;70(2):631-41.
2. Novick RP, Ross H, Projan S, Kornblum J, Kreiswirth B, Moghazeh S. Synthesis of staphylococcal virulence factors is controlled by a regulatory RNA molecule. The EMBO Journal. 1993;12(10):3967-8.
3. Novick R, Projan S, Kornblum J, Ross H, Ji G, Kreiswirth B, et al. Theagr P2 operon: An autocatalytic sensory transduction system inStaphylococcus aureus. Molecular and General Genetics MGG. 1995;248(4):446-58.
4. Sakoulas G. The accessory gene regulator (agr) in methicillin-resistant Staphylococcus aureus: Role in virulence and reduced susceptibility to glycopeptide antibiotics. Drug Discovery Today: Disease Mechanisms. 2006; 3(2): 287-94.
5. Ji G, Beavis RC, Novick RP. Cell density control of staphylococcal virulence mediated by an octapeptide pheromone. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1995; 92(26): 12055-9.
6. Shakeri F, Shojai A, Golalipour M, Rahimi Alang S, Vaez H, Ghaemi EA. Spa Diversity among MRSA and MSSA Strains of Staphylococcus aureus in North of Iran. International journal of microbiology. 2010; 2010.
7. Shopsin B, Mathema B, Alcabes P, Said-Salim B, Lina G, Matsuka A, et al. Prevalence of agr specificity groups among Staphylococcus aureus strains colonizing children and their guardians. Journal of clinical microbiology. 2003;41(1):456-9.
8. Dufour P, Jarraud S, Vandenesch F, Greenland T, Novick RP, Bes M, et al. High genetic variability of the agr locus in Staphylococcus species. Journal of bacteriology. 2002; 184(4):1180-6.
9. Van Leeuwen W, van Nieuwenhuizen W, Gijzen C, Verbrugh H, van Belkum A. Population studies of methicillin-resistant and-sensitive Staphylococcus aureus strains reveal a lack of variability in the agrD gene, encoding a staphylococcal autoinducer peptide. Journal of bacteriology. 2000;182(20):5721-9.
10. Peerayeh SN, Azimian A, Nejad QB, Kashi M. Prevalence of agr specificity groups among Staphylococcus aureus isolates from university hospitals in Tehran. Lab Medicine. 2009; 40(1): 27-9.
11. Indrawattana N, Sungkhachat O, Sookrung N, Chongsa-Nguan M, Tungtrongchitr A, Voravuthikunchai S, et al. Staphylococcus aureus clinical isolates: antibiotic susceptibility, molecular characteristics, and ability to form biofilm. BioMed research international. 2013; 2013:11-2.
12. Ben Ayed S, Boutiba-Ben Boubaker I, Samir E, Ben Redjeb S. Prevalence of agr specificity groups among methicilin resistant Staphylococcus aureus circulating at Charles Nicolle hospital of Tunis. Pathologie Biologie. 2006;54(8):435-8.
13. Chen F-J, Siu L-KK, Lin J-C, Wang C-H, Lu P-L. Molecular typing and characterization of nasal carriage and community-onset infection methicillin-susceptible Staphylococcus aureus isolates in two Taiwan medical centers. BMC infectious diseases. 2012;12(1):343-4.
14. Rasmussen G, Monecke S, Ehricht R, Söderquist B. Prevalence of clonal complexes and virulence genes among commensal and invasive staphylococcus aureus isolates in Sweden. PloS one. 2013;8(10):e77477-8.
15. Momtaz H, Tajbakhsh E, Abbasian B, Momeni M. Investigation of accessory gene regulator (agr) in Staphylococcus aureus isolated from clinical and subclinical bovine mastitis in Iran. African Journal of Microbiology Research. 2010;4(6):471-4.

www.SID.ir