

تعیین فراوانی ژن پنتون والتین لوکوسیدین (*PVL*) و پروتئین‌های متصل شونده به کلاژن *Cna* در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی و بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی: یک گزارش کوتاه

زهره کرد^۱، کیومرث امینی^۲، مهدی پرویز^۳

دریافت مقاله: ۹۴/۱/۲۹ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۴/۳/۹ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۴/۳/۱۷ پذیرش مقاله: ۹۴/۴/۱

چکیده

زمینه و هدف: سم پنتون والتین لوکوسیدین (*PVL*) یک آگزوتوکسین همولیتیک است که باعث افزایش قدرت نفوذپذیری غشاء سلولی و در نتیجه سبب لیز شدن لکوسیت‌ها و نکروز بافت می‌شود. پروتئین‌های متصل شونده به کلاژن *cna* اده‌زین استافیلوکوکوس اورئوس است که مسئول اتصال به کلاژن و عمده‌ترین فاکتور حدت در عفونت‌های آرتريت و استئومیلیت می‌باشد. هدف از انجام مطالعه، بررسی حضور ژن‌های *PVL*، *cna* در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی به روش Multiplex PCR می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی-مقطعی، تعداد ۶۷ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی گردید. آزمون تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی بر اساس دستورالعمل CLSI با آنتی‌بیوتیک‌های مختلف انجام گردید. آزمون PCR چندگانه نیز انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بیشترین حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومايسين و لینزولید ۹۷/۱٪ و بیشترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک کلیندامایسین ۲۳/۹٪ است. فراوانی ژن *cna* در نمونه‌های بالینی ۴۱/۷٪ گزارش گردید، در صورتی که ژن *PVL* در هیچ یک از نمونه‌ها شناسایی نگردید.

نتیجه‌گیری: به دلیل اهمیت استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان مهم‌ترین عامل ایجاد عفونت در بین افراد جامعه به خصوص عفونت‌های مقاوم بیمارستانی و با توجه به افزایش روزافزون مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، بررسی میزان مقاومت به این عوامل ضروری می‌باشد. روش PCR چندگانه‌ای یک روش ساده، حساس، کم هزینه، نسبتاً سریع و بسیار اختصاصی است که علاوه بر این، توانایی شناسایی چندین ژن را نیز به طور همزمان دارد.

واژه‌های کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، لوکوسیدین پنتون والتین

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران
۲- استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران
تلفن: ۰۸۶-۴۲۲۴۱۵۱۱، دورنگار: ۰۸۶-۴۲۲۴۱۵۱۱، پست الکترونیکی: kamini@iau-saveh.ac.ir
۳- مربی گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس بر روی غشاهای مخاطی و پوست پستانداران، مواد غذایی مختلف و محیط اطراف یافت می‌شود و عامل ایجاد ذات‌الریه بعد از عفونت‌های ویروسی، التهاب وریدها؛ مننژیت، عفونت دستگاه ادراری؛ التهاب موضعی استخوان‌ها، اندوکاردیت، ضایعات سطحی پوست و غیره می‌باشد [۱]. این باکتری دارای توکسین‌های متعدد بوده که با عملکردهای مختلف بر روی اندام هدف تأثیر می‌گذارند. سم پنتون والننتین لکوسیدین *PVL* (Panton-Valentine leukocidin) یک اگزوتوکسین همولیتیک است که اولین بار در سال ۱۹۳۰ در *استافیلوکوکوس اورئوس* شناسایی شد [۱]. این سم موجب افزایش قدرت نفوذپذیری غشای سلولی و در نتیجه سبب لیز شدن لکوسیت‌ها و نکروز بافت می‌شود. این سم دارای دو جزء است که هر دو جزء لکوسیدین آنتی‌ژنیک بوده و قابل تبدیل به توکسوئید می‌باشند. این سم با ایجاد مقاومت در مقابل فاگوسیتوز قدرت تهاجمی *استافیلوکوک* را افزایش می‌دهد [۵-۱]. این سم جذب گردش خون شده و با علائم بالینی موجب گرفتاری چندین عضو مختلف می‌شود، که شامل تب، کاهش فشار خون، اسهال، درد عضلانی، پنومونی‌های نکروزدهنده و بثورات شبه مخملکی است. لکوسیدین پنتون والننتین توسط اکثرش‌های *استافیلوکوک اورئوس* تولید می‌شود [۵]. بافت‌های غنی از کلاژن مانند استخوان‌ها و غضروف جایگاه مناسبی برای حضور *استافیلوکوکوس اورئوس* و ایجاد عفونت‌های *استافیلوکوکی* می‌باشند. پروتئین‌های متصل شونده به کلاژن *cna* (collagen adhesions gene) اصلی‌ترین و مهم‌ترین ادهزین *استافیلوکوکوس اورئوس*

است که مسئول اتصال محکم به کلاژن بوده و عمده‌ترین فاکتور حدت در عفونت‌های آرتریت همراه با سپتی‌سمی و استئومیلیت می‌باشد [۳]. هدف از انجام تحقیق بررسی حضور ژن‌های حدت *PVL*، *cna* در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه‌های بالینی به روش Multiplex PCR و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به عنوان یکی از راه‌های مهم در درمان مناسب بیماری‌های ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* و شناسایی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک جهت تعیین راهکار مناسب درمانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقطعی -توصیفی، بر اساس مطالعات قبلی و سطح اطمینان ۹۵٪ با استفاده از فرمول $n = z^2 P(1-P)/d^2$ و خطای قابل قبول ۰/۰۵، تعداد ۱۰۰ نمونه از بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری، ترشحات چرکی و مایع مغزی نخاعی از مراکز درمانی مختلف شهر تهران که به صورت تصادفی انتخاب شده بودند در سال ۱۳۹۲ جمع‌آوری گردید. این تعداد نمونه بر اساس میزان شیوع باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در بین بیماران انتخاب شد. این نمونه‌ها جهت کشت بر روی محیط‌های بلاد آگار، مانیتول سالت آگار، و کروم آگار *استافیلوکوکوس اورئوس* انتقال داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در گرم خانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. جهت تعیین هویت گونه‌های باکتری از آزمون‌های بیوشیمیایی، کوآگولاز، تست DNase و تخمیر قند مانیتول استفاده شد که در نهایت ۶۷ جدایه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* شناسایی گردید [۱]. آزمون آنتی‌بیوگرام با روش دیسک دیفیوژن (Disk diffusion) و بر طبق دستورالعمل CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) انجام

۷/۵ میکرولیتر، پرایمرهای مورد استفاده هر کدام ۰/۵ میکرولیتر، نمونه DNA ۳ میکرولیتر در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر تهیه گردید [۷]. آزمون Multiplex-PCR در دستگاه ترموسایکلر (BIORAD) انجام شد. جهت بررسی محصول Multiplex-PCR نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۱٪ انتقال داده شده و بعد از رنگ‌آمیزی در دستگاه ژل داگ (BIORAD) مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۳ و با استفاده از آزمون‌های آماری توصیفی کای اسکور مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج

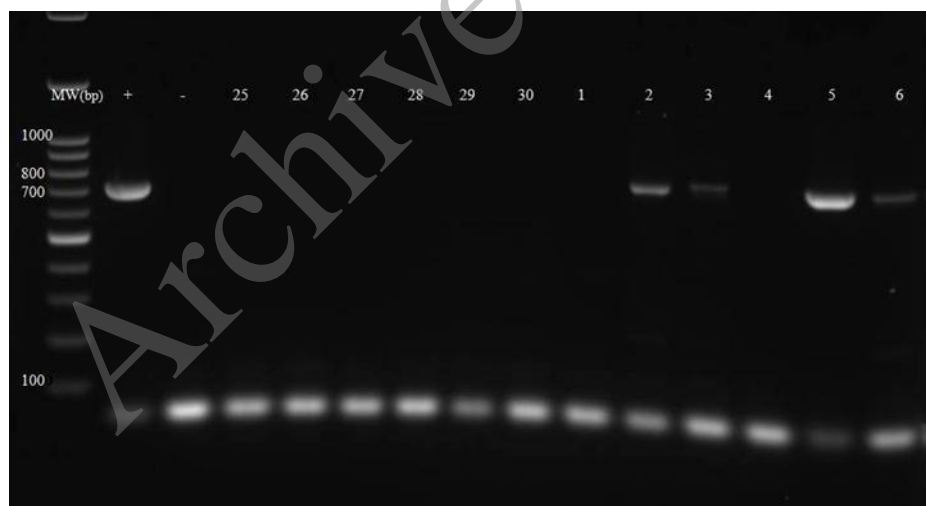
این تحقیق بر روی ۶۷ ایزوله /استافیلوکوکوس/اورئوس جداسازی شده انجام گرفت. میزان حساسیت سویه‌های مختلف به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در جدول ۱ ذکر شده است.

بیشترین حساسیت به آنتی‌بیوتیک ونکومايسين و لینزولید ۹۷/۱٪ و بیشترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک کلیندامایسین ۲۳/۹٪ گزارش شده است. در صورتی که میزان حساسیت به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین به میزان ۷۹/۱٪ مشاهده شد. نتایج مولکولی نشان داد که فراوانی ژن *Cna* در ۲۸ نمونه برابر با ۴۱/۷٪ بوده و ژن *PVL* در هیچ یک از نمونه‌ها شناسایی نگردید و مجموع ۶۷ نمونه فاقد این ژن بودند. همچنین، نتایج آزمون ملکولی در شکل ۱ بر اساس شناسایی ژن‌های مورد نظر با طول باند هر ژن ذکر شده است.

گردید [۸]. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک تجاری جهت انجام این مطالعه شامل آزیترومایسین، کلیندامایسین، لینزولید، اوفلوکساسین، تیکوپلانتین، ونکومايسين، متی‌سیلین، (دال‌فویریس‌تین/کوی‌نو‌پری‌ستین) از شرکت HIMEDIA (Himedia Laboratories Pvt.Limited-INDIA) تهیه گردید. جهت بررسی کنترل کیفی آزمایشات از سویه استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. برای استخراج DNA از کیت باکتری‌های گرم مثبت سیناژن (Cinna Pure DNA KIT-PR881614) استفاده گردید. برنامه آزمون Multiplex-PCR: مرحله واسرشت اولیه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه، مرحله واسرشت ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، مرحله اتصال ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله بسط ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه (تعداد ۳۱ سیکل)، مرحله بسط نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه می‌باشد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در این آزمون شامل: *PVL-F: ATGTCTGGACATGATCCAA* و *PVL-R: AACTATCTCTGCCATATGGT* با طول باند ۹۷۰ bp جهت شناسایی ژن پنتون‌والنتین لوکوسیدین، پرایمرهای *Cna-1: ACACCAGACGGTGCAACAATTACna-1* و *Cna-2: AGCATTACCGTTTGCATCTGTTA* با طول باند ۸۱۵ bp جهت شناسایی ژن پروتئین‌های متصل شونده به کلاژن، بوده است [۷]. مخلوط‌های استفاده شده جهت انجام واکنش به این شرح می‌باشد: Master Mix سیناژن (PR8251C) به میزان ۱۲/۵ میکرولیتر، آب مقطر

جدول ۱- میزان حساسیت سویه‌های جداسازی شده به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با روش دیسک دیفیوژن

آنتی‌بیوتیک‌ها	مقاوم (درصد) تعداد	نیمه حساس (درصد) تعداد	حساس (درصد) تعداد
کلیندامایسین	۱۶ (۲۳/۹)	-	۵۱ (۷۶/۱)
ونکومایسین	۲ (۲/۹)	-	۶۵ (۹۷/۱)
تیکوپلانین	۳ (۴/۵)	-	۶۴ (۹۵/۵)
لینزولید	۲ (۲/۹)	-	۶۵ (۹۷/۱)
افلوکساسین	-	۱۴ (۲۰/۹)	۵۳ (۷۹/۱)
آزیترومایسین	۱۴ (۲۰/۹)	-	۵۳ (۷۹/۱)
متی‌سیلین	۱۴ (۲۰/۹)	-	۵۳ (۷۹/۱)
دالفوپریستین / کوینوپریستین	۳ (۴/۵)	-	۶۴ (۹۵/۵)



شکل ۱- الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز

نتایج *M-PCR* از سمت چپ به ترتیب: ستون مارکر ۱۰۰ bp، کنترل مثبت، کنترل منفی، نمونه‌های ۲-۳-۵-۶- حاوی ژن *cna* می‌باشند.

بحث

آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌باشد. Najar peerayeh و همکاران تحقیقی با عنوان شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین از طریق انتشار دیسک و PCR و بررسی

استافیلوکوکوس اورئوس که به عنوان دومین پاتوژن بیمارستانی محسوب می‌شود، به طیف وسیعی از

الگوی مقاومتی آن انجام داده و به این نتیجه رسیدند که *استافیلوکوکوس اورئوس* از جمله عوامل مهم ایجاد عفونت‌های شدید بوده و سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین این باکتری بیشترین عامل مرگ و میر در بیمارستان‌ها می‌باشند، لذا درمان و شناسایی سریع سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین دارای اهمیت می‌باشد [۶]. مقایسه تحقیق حاضر با سایر مطالعات نشان می‌دهد میزان مقاومت سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های متی‌سیلین و کلیندامایسین به مراتب کمتر از سایر مطالعات انجام شده می‌باشد. همچنین، با توجه به الگوی به دست آمده تنها ۲ سویه نسبت به ونکومایسین از خود مقاومت نشان داد که می‌توان گفت ۹۷/۱٪ سویه‌ها نسبت به ونکومایسین حساس می‌باشند و این آنتی‌بیوتیک هنوز کارایی لازم برای درمان عفونت‌های حاصل از سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین MRSA (*Methicillin Resistance Staphylococcus aureus*) را دارا می‌باشد، ولی ۱۰۰٪ نبودن کارایی این آنتی‌بیوتیک یک علامت هشدار، برای یافتن آنتی‌بیوتیک‌های جدید و کارآمدتر می‌باشد. جهت کاهش مقاومت آنتی‌بیوتیکی باید دو فاکتور عمده یعنی استفاده زیاد از آنتی‌بیوتیک‌ها و سهولت گسترش ژن مقاومت را نیز در نظر داشت.

Patti و همکاران با بررسی بیان ژن *Cna* در *استافیلوکوکوس اورئوس* به نقش اصلی این ژن در ایجاد بیماری‌های استخوانی و مفاصل در بیماران حامل باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* که دارای این ژن می‌باشند اشاره می‌کند [۳]. Sapri و همکاران با استفاده از روش Multiplex-PCR به شناسایی ژن‌های حدت *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین (TSST-*I, PVL, seh, cna*) در این تحقیق فراوانی ژن

cna (۵۱/۵۹٪)، ژن *seh* (۲۱/۸۲٪)، *PVL* (۱۰/۲۳٪) و *TSST-1* (۶/۸۲٪) گزارش گردید [۷]. در نتایج پژوهش ما نیز فراوانی ژن *Cna* از بین مجموع نمونه‌ها ۴۱/۷٪ بوده است. ژن پنتون والننتین لوکوسیدین *PVL* یک فاکتور واگیرداری است که همراه با عفونت MRSA است و کشف آن زمان زیادی را به خود اختصاص می‌دهد که بستگی به محیط کشت آن دارد. با توجه به مطالعاتی که صورت گرفته درصد فراوانی ژن سم پنتون والننتین لوکوسیدین *PVL* در سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین بیشتر است [۵]. بنابراین تحقیق ما هیچ یک از نمونه‌ها حاوی ژن *PVL* نبوده و این ژن شناسایی نگردید. با توجه به نتایج حاصل از آزمایش دیسک دیفیوژن و مقایسه آن با الگوی استاندارد، بیشتر ایزوله‌های جدا شده مورد بررسی، نسبت به متی‌سیلین حساس بوده و نشان دهنده عدم بروز ژن *PVL* در سویه‌های مورد بررسی می‌باشد، که تأییدکننده این مطلب است که برای بروز ژن *pvl* و ایجاد مقاومت، حضور ژن *mec A* ضروری است [۵]. همچنین Martinez و همکاران با بررسی بر روی کودکان عفونی آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* به این نتیجه دست یافتند که میزان شناسایی ژن *pvl* با روش ملکولی در کودکانی که به متی‌سیلین مقاوم بوده‌اند به مراتب از سایر کودکان که به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین حساسیت نشان داده‌اند بیشتر بوده است [۴]. طی تحقیقی Enany و همکاران در مصر نیز مشخص گردید که، علیرغم انتشار جهانی حضور ژن *pvl* در *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین (مقاومت اکتسابی)، این ژن در کشور مصر شناسایی نگردید. و *pvl* یک مارکر خوب برای شناسایی این سویه‌ها می‌باشد [۲]. مقایسه این نتایج با پژوهش اخیر مؤید این مطلب می‌باشد که عدم جداسازی ژن *pvl* در نمونه‌های

الگوی مقاومتی آن انجام داده و به این نتیجه رسیدند که *استافیلوکوکوس اورئوس* از جمله عوامل مهم ایجاد عفونت‌های شدید بوده و سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین این باکتری بیشترین عامل مرگ و میر در بیمارستان‌ها می‌باشند، لذا درمان و شناسایی سریع سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین دارای اهمیت می‌باشد [۶]. مقایسه تحقیق حاضر با سایر مطالعات نشان می‌دهد میزان مقاومت سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های متی‌سیلین و کلیندامایسین به مراتب کمتر از سایر مطالعات انجام شده می‌باشد. همچنین، با توجه به الگوی به دست آمده تنها ۲ سویه نسبت به ونکومایسین از خود مقاومت نشان داد که می‌توان گفت ۹۷/۱٪ سویه‌ها نسبت به ونکومایسین حساس می‌باشند و این آنتی‌بیوتیک هنوز کارایی لازم برای درمان عفونت‌های حاصل از سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین MRSA (*Methicillin Resistance Staphylococcus aureus*) را دارا می‌باشد، ولی ۱۰۰٪ نبودن کارایی این آنتی‌بیوتیک یک علامت هشدار، برای یافتن آنتی‌بیوتیک‌های جدید و کارآمدتر می‌باشد. جهت کاهش مقاومت آنتی‌بیوتیکی باید دو فاکتور عمده یعنی استفاده زیاد از آنتی‌بیوتیک‌ها و سهولت گسترش ژن مقاومت را نیز در نظر داشت.

Patti و همکاران با بررسی بیان ژن *Cna* در *استافیلوکوکوس اورئوس* به نقش اصلی این ژن در ایجاد بیماری‌های استخوانی و مفاصل در بیماران حامل باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* که دارای این ژن می‌باشند اشاره می‌کند [۳]. Sapri و همکاران با استفاده از روش Multiplex-PCR به شناسایی ژن‌های حدت *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین (TSST-*I, PVL, seh, cna*) در این تحقیق فراوانی ژن

می‌توان در کوتاه‌ترین مدت زمان با ویژگی و حساسیت بالا به حضور ژن‌های بیماری‌زا پی برد و با شناسایی سویه‌های مقاوم و راه‌های انتقال این ژن‌ها در جمعیت‌های انسانی اقدامات پیشگیرانه را انجام داد. اقدامات کنترل عفونت و رعایت نکات بهداشتی در بین کارکنان بیمارستانی و ضدعفونی لوازم و تجهیزات بیمارستانی در حذف یا کاهش این نوع سویه‌ها باید بسیار جدی گرفته شود.

تشکر و قدردانی

از کارکنان آزمایشگاه پژوهشی میکروبیولوژی پاسارگاد مهندس ابوالفضل مقدم، رامین خاکی جوان که در انجام مراحل عملی این تحقیق یاری نمودند تشکر و سپاسگزاری می‌گردد.

بالینی با توجه به نتایج آزمون آنتی‌بیوگرام، با میزان بالای حساسیت به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین در عدم شناسایی این ژن ارتباط معناداری دارد.

نتیجه‌گیری

با توجه به فراوانی ژن *Cna* به عنوان یک ادهزین در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در این تحقیق که می‌تواند در ایجاد ضایعات و آسیب‌های مفصلی و استخوانی در بیمارانی آلوده به این باکتری نقش مهمی ایفا نماید، جداسازی مستمر و انجام آزمون‌های مولکولی جهت شناسایی این ژن در ردیابی منابع آلوده کننده ضروری می‌باشد. با استفاده از روش Multiplex PCR

References

- [1] Gillespie SH, Hawkey PM. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. Second Edition. England. John Wiley & Sons Ltd 2006; 73-89.
- [2] Enany S, Yaoita E, Yoshida Y, Enany M, Yamamoto T. Molecular characterization of Pantone-Valentine leukocidin-positive community-acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Egypt. *Microbiol Re* 2010; 165(2): 152-62.
- [3] Patti JM, Jonsson H, Guss B, et al. Molecular characterization and expression of a gene encoding a *Staphylococcus aureus* collagen adhesin. *J Biol Chem* 1992; 267(7): 4766-72.
- [4] Martínez-Aguilar G, Avalos-Mishaan A, Hulten K, Hammerman W, Mason Jr EO, Kaplan SL. Community-acquired, Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* musculoskeletal infections in children. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23(8): 701-6.
- [5] McClure JA, Conly JM, Lau V, et al. Novel multiplex PCR assay for detection of the staphylococcal virulence marker Pantone-Valentine leukocidin genes and simultaneous discrimination of methicillin-susceptible from-resistant staphylococci. *J Clin Microbiol* 2006; 44(3): 1141-4.
- [6] Najar Peerayeh S, Azimian A, Mostafae M, Siadat SD. Identification of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by Disk Diffusion method determination of MIC and PCR for *mecA* gene.

- Modares J Med Sci Pathobiology* 2009; 12(3): 61-9.
[Farsi]
- [7] Sapri HF, Sani NAM, Neoh H-m, Hussin S. Epidemiological Study on *Staphylococcus aureus* Isolates Reveals Inverse Relationship between Antibiotic Resistance and Virulence Repertoire. *Indian j Pathol Microbiol* 2013; 53(3): 321-2.
- [8] Cockerill FR. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing. Approved Standard Eleventh Edition M02-A11. *CLSI* 2012; 32(1).

Archive of SID

Determining the Frequency of Panton-Valentine Leukocidin (*PVL Genes*), and Collagen-Binding Protein (*cna*) in *Staphylococcus Aureus* Strains Isolated from Clinical Specimens and Antibiotic Resistance: A Short Report

Z. Kord¹, K. Amini², M. Parviz³

Received: 18/04/2015 Sent for Revision: 30/05/2015 Received Revised Manuscript: 07/06/2015 Accepted: 22/06/2015

Background and Objective: Panton-Valentine leukocidin (*PVL*) toxin is a hemolytic exotoxin that increases the permeability of the cell membrane, thus causing lysis of leukocytes and tissue necrosis. Collagen-binding protein (*Cna*) adhesion *Staphylococcus aureus* is responsible for binding to collagen and the major virulence factor in arthritis and osteomyelitis. The purpose of this study was to investigate the presence of antibiotic resistance and virulence genes for *PVL*, *Cna* in *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens by Multiplex PCR.

Materials and Methods: In this cross-sectional, descriptive study, 67 samples of *Staphylococcus aureus* were isolated. Based on CLSI antimicrobial susceptibility guideline, different antibiotics were tested. Multiplex PCR assay was performed.

Results: Findings showed that the susceptibility to vancomycin and linezolid antibiotics was 97.1% and maximum resistance is to clindamycin was 23.9%. the frequency of *Cna* gene in clinical samples was 41.7% while *PVL* genes were not detected in the samples.

Conclusion: Because of the importance of methicillin resistance *Staphylococcus aureus* as the cause of infection among people, especially resistant hospital infections, due to increasing use of antibiotics, knowledge of the level of resistance to these agents is essential. Multiplex PCR is a simple, sensitive, inexpensive, relatively quick and very specific in addition, it has an ability to identify multiple genes simultaneously.

Key words: *Staphylococcus aureus*, Panton -Valentine leukocidin, *Cna*, Multiplex PCR

Funding: This research was funded by Saveh Science and Research Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Saveh Science and Research Branch, Islamic Azad University approved the study.

How to cite this article: Kord Z, Amini K, Parviz M. Determining the Frequency of Panton-Valentine Leukocidin (*PVL*), and Collagen- Binding protein (*can*) in *Staphylococcus Aureus* Strains Isolated from Clinical Specimens and Antibiotic Resistance: A Short Report. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2015; 14(8): 701-8. [Farsi]

1- MSc in Microbiology, College of Saveh Science and Research Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

2- Assistant Prof., Dept. of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

(Corresponding Author) Tel: 086-42241511, Fax: 086-42241511, E-mail: kamini@iau-saveh.ac.ir

3-Academic Member Dept. of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran