Archive of SID

*Medical Journal*
*of*
*Tabriz University of Medical Sciences and Health Services*

## Original Article

# Investigation of frequency of *agr* genes and determination of drug resistance pattern in *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical samples in Tabriz hospitals in 2017

**Abolfazl Jafari Sales[1], Yashar Bagherizadeh Tavakoli[1], Afsoon Shariat[2*]**

[1]Student of Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Kazerun Branch, Kazerun, Iran.
[2]Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Kazerun Branch, Kazerun, Iran.
*Corresponding author; E-mail: afsoonsh1980@yahoo.com

Received: 7 April 2018 Accepted: 24 June 2018 First Published online: 26 Feb 2020
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 April- May; 42(1):48-55

## Abstract

**Background:** *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) is major cause of nosocomial infections. The accessory gene regulator (agr) system of *Staphylococcus aureus* controls the expression of the genes encoding extracellular virulence factors. The aim of this study was to investigate the frequency of agr genes and drug resistance in *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical samples in Tabriz hospitals.

**Methods:** This cross-sectional study was done among a total of 100 strains isolated from clinical samples in Tabriz hospitals. Antibiotic susceptibility pattern of all isolates was determined by disk diffusion method. After DNA extraction, the presence of *agr* genes was investigated using Multiplex PCR. SPSS software was used to perform statistical tests.

**Results:** Among 100 *Staphylococcus aureus* strains, 38 isolates were resistant to methicillin. They were susceptible to rifampin (89%) and vancomycin (86%) but showed resistance to penicillin (98%) and tetracycline (85%). The most prevalent gene was *agrA* (65%) followed by the *agrC* (29%) in strains. None of the isolates harbored the *agrB* and *agrD* genes.

**Conclusion:** *agrA* and *agrC* genes play an important role in *staphylococcal* infections in clinical samples isolated from Tabriz hospitals. Also, the results showed high rates of multi-drug resistance in *Staphylococcus aureus* strains isolated from Tabriz hospitals. Therefore, it is recommended to limit the unnecessary uses of antibiotics.

**Keyword:** *Staphylococcus Aureus*, *Agr* Genes, Drug Resistance**,** Tabriz Hospitals

**How to cite this article**: Jafari Sales A, Bagherizadeh Tavakoli Y, Shariat A. [Investigation of frequency of agr genes and determination of drug resistance pattern in Staphylococcus aureus strains isolated from clinical samples in Tabriz hospitals in 2017]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 April- May; 42(1):48-55. Persian.

© 2020 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

www.SID.ir

Archive of SID



مقاله پژوهشی

# ارزیابی فراوانی ژن‌های *agr* و تعیین الگوی مقاومت دارویی در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه‌های بالینی در بیمارستان‌های تبریز در سال ۹۶

**ابوالفضل جعفری ثالث[۱]، یاشار باقری‌زاده توکلی[۱]، افسون شریعت[۲*]**

[۱] دانشجوی میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاداسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران
[۲] گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران
[*] نویسنده مسوول؛ ایمیل: afsoonsh1980@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۷/۱/۱۸  پذیرش: ۱۳۹۷/۴/۳  انتشار برخط: ۱۳۹۸/۱۲/۷
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۹؛ ۴۲(۱):۴۸-۵۵

## چکیده

**زمینه:** *استافیلوکوکوس اورئوس* پاتوژن اصلی در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد. سیستم تنظیم کننده کمکی ژن ( accessory gene regulator, *agr*) در *استافیلوکوکوس اورئوس* بیان ژن‌های کد کننده فاکتورهای بیماری‌زای خارج سلولی را کنترل می‌نماید. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی ژن‌های *agr* و مقاومت دارویی در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه‌های بالینی در بیمارستان‌های تبریز می‌باشد.

**روش‌کار:** این مطالعه توصیفی-مقطعی بر روی ۱۰۰ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه‌های بالینی در بیمارستان‌های تبریز انجام گرفت. الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها، توسط روش انتشار دیسک تعیین گردید. پس از استخراج DNA، حضور ژن‌های *agr*A,B,C,D با روش Multiplex PCR بررسی شد. نتایج بدست آمده با نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

**یافته‌ها:** از ۱۰۰ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۳۸ ایزوله مقاوم به متی‌سیلین بودند. آن‌ها به ریفامپین (۸۹٪) و وانکومایسین (۸۶٪) حساس بودند اما نسبت به پنی‌سیلین (۹۸٪) و تتراسیکلین (۸۵ ٪) مقاومت داشتند. بیشترین فراوانی ژن‌های *agr* در سویه‌ها مرتبط با ژن‌های *agrA* (۶۵٪) و *agrC* (۲۹٪) بود. ژن‌های *agrB* و *agrD* در هیچ سویه‌ای دیده نشدند.

**نتیجه‌گیری:** ژن‌های *agrA* و *agrC* نقش مهمی در عفونت‌های *استافیلوکوکی* در نمونه‌های بالینی جدا شده از بیمارستان‌های تبریز ایفا می‌نمایند. هم‌چنین نتایج، شیوع بالای مقاومت چند دارویی را در سویه‌های بیمارستانی *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان می‌دهد. بنابراین باید از کاربرد غیرضروری آنتی‌بیوتیک‌ها اجتناب نمود.

**کلید واژه‌ها:** *استافیلوکوکوس اورئوس*، *ژن‌های agr*، مقاومت دارویی، بیمارستان‌های تبریز

نحوه استناد به این مقاله: جعفری ثالث ا، باقری‌زاده توکلی ی، شریعت ا. ارزیابی فراوانی ژن‌های agr و تعیین الگوی مقاومت دارویی در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی در بیمارستان‌های تبریز در سال ۹۶. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛ ۴۲(۱):۴۸-۵۵

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

www.SID.ir

Archive of SID



## مقدمه

باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*, *S.aureus*) به دلیل قدرت بیماری‌زایی بالقوه و مقاومت روزافزون در برابر داروهای ضد میکروبی به یکی از مشکلات بهداشتی مهم در جهان تبدیل شده است. این باکتری با تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز نسبت به پنی‌سیلین مقاوم می‌باشد (۱). عفونت‌های ناشی از این باکتری، علی‌رغم درمان آنتی‌بیوتیکی عوارض شدیدی از خود به جا می‌گذارد. بنابراین جلوگیری از بروز عفونت‌های ناشی از این باکتری و ریشه‌یابی کانون‌های انتشار آن در بیمارستان‌ها از مسائل ضروری است. *استافیلوکوکوس اورئوس* سبب ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله اندوکاردیت (Endocarditis)، استئومیلیت (Osteomyelitis)، پنومونی (Pneumonia) و سندرم شوک سمی (Toxic shock syndrome) می‌شود. *استافیلوکوکوس اورئوس* بعد از *اشریشیاکولی* دومین عامل ایجاده کننده عفونت‌های بیمارستانی است و بنابراین منطقه جغرافیایی دستخوش تغییرات قابل توجهی در الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در طول سالیان گذشته شده است (۲). اولین بار در سال ۱۹۶۱ در کشور انگلستان پس از بررسی عفونت ایجاد شده توسط *استافیلوکوکوس اورئوس* و مشخص شدن مقاومت این باکتری نسبت به درمان، سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین (*Methicillin-resistant staphylococcus aureus*, *MRSA*) شناسایی شدند (۳). عواملی نظیر اقامت طولانی مدت در بیمارستان، استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها، عدم رعایت بهداشت و عدم آگاهی از نحوه مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توانند از جمله علل مستعد کننده ظهور *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین باشند (۴). مرگ بیماران مبتلا به عفونت *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین دو برابر بیشتر از بیماران مبتلا به عفونت *با سویه* حساس به متی‌سیلین است (۵). فراوانی سویه‌های MRSA در کشورهای آسیایی مانند چین و کره بیش از ۷۰٪، در عراق ۴۶٪، در پاکستان ۳۶٪، در آمریکا بیش از ۵۰٪ و در اروپا ۲۰٪ است (۵). میزان شیوع عفونت‌های ناشی از MRSA در ایران ۴۳٪ می‌باشد. کاربرد بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها و عدم کنترل عفونت‌های بیمارستانی از دلایل اصلی شیوع بالای MRSA در ایران به شمار می‌روند (۶). بیان اکثر فاکتورهای ویرولانس در *استافیلوکوکوس اورئوس* توسط ژن‌های *agr* (Accessory gene regulator) کنترل می‌شود (۷). لکوس *agr* در *استافیلوکوکوس اورئوس* یک دسته ژنی با سیستم حد نصاب (Quorum sensing) و حاوی ژن‌های *agrA-D* بوده که تولید فاکتورهای ویرولانس ترشحی از قبیل همولیزین‌های آلفا، بتا و دلتا را افزایش می‌دهد. به‌طوری که جهش در ژن‌های *agr* منجر به کاهش تولید پروتئین‌های ویرولانس خارج سلولی و کاهش بیماری‌زایی باکتری می‌گردد (۸). لکوس *agr* بر روی کروموزوم باکتری با اندازه ۳/۵ کیلو باز واقع بوده و حاوی دو واحد رونویسی RNAII و RNAIII می‌باشد که به‌ترتیب توسط پروموتورهای P2 و P3 بیان می‌شوند. رونوشت RNAII یک اپرون حاوی ۴ ژن *agrBDCA* بوده به‌طوری که AgrD پپتید پیش‌ساز خودالقایی (Autoinducing peptide, AIP) و AgrB یک اندوپپتیداز درون غشایی دخیل در پردازش و ترشح AIP می‌باشد. به‌علاوه، AgrC و AgrA تشکیل سیستم دوجزئی می‌دهند که در آن AgrC یک هیستیدین کیناز غشایی و AgrA یک تنظیم کننده پاسخ است. رونوشت RNAIII بیان فاکتورهای ویرولانس پس از رونویسی را تنظیم می‌نماید. این اپرون یک دلتاهمولیزین کد کرده و نقش کلیدی در پاسخ ژن‌های *agr* بازی می‌کند (۹). بنابراین بیان اکثر فاکتورهای ویرولانس در *استافیلوکوکوس اورئوس* تابع ژن‌های تنظیم کننده *agr* می‌باشد. این تنظیم در رشد محیطی *استافیلوکوکوس اورئوس نیز* موثر است (۱۰). هدف از این مطالعه بررسی فراوانی ژن‌های *agr* A,B,C,D و تعیین الگوی مقاومت دارویی در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه‌های بالینی در بیمارستان‌ها و مراکز درمانی شهر تبریزدر سال ۱۳۹۶ می‌باشد.

## روش کار

در این مطالعه توصیفی–مقطعی تعداد ۱۰۰ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* از نمونه‌های بالینی مختلف از قبیل: عفونت زخم (۳۵ مورد زن و ۵ مورد مرد) (۴۰٪)، عفونت خون (۲۲ مورد زن و ۱۴ مورد مرد) (۳۶٪)، آبسه (۱۲ مورد زن و ۳ مورد مرد) (۱۵٪) و عفونت ادراری (۱ مورد زن و ۸ مورد مرد) (۹٪) از بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های سینا و امام رضا و آزمایشگاه پزشکی مرکزی شهر تبریز در فاصله زمانی آذر ماه ۱۳۹۵ الی بهمن ماه ۱۳۹۶ جمع‌آوری گردید. جهت انجام این تحقیق، پلیت‌های کشت باکتری از آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی بیمارستان‌های فوق جمع‌آوری شدند و گواهی مبنی بر تاییدیه اخلاقی و رضایت بیماران مورد نیاز نبود. از ۱۰۰ ایزوله جمع‌آوری شده، ۷۰ مورد مربوط به زنان (۷۰٪) و ۳۰ مورد مربوط به مردان (۳۰٪) بود. میانگین سنی بیماران ۴۷/۴±۲۷ سال و دامنه تغییرات بین ۱۰ تا ۷۵ سال بود. ابتدا نمونه‌های مشکوک به *استافیلوکوکوس اورئوس* جمع‌آوری شده بر روی محیط‌های آگار خون‌دار و مانیتول سالت آگار (Merck، آلمان) کشت داده شدند و به مدت۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. پس از این مرحله، نمونه‌ها از نظر شکل کلنی و تغییرات ایجاد شده در محیط‌های مورد استفاده بررسی شدند. کلنی‌ها با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم و آزمون‌های بیوشیمیایی از جمله کاتالاز، کواگولاز اسلایدی، کواگولاز لوله‌ای،DNase و تخمیر مانیتول مورد تأیید نهایی قرار گرفتند (۱۰). به منظور تعیین الگوی حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی

www.SID.ir

Archive of SID



سویه‌های جدا شده از بیماران، آزمون حساسیت به روش انتشار دیسک در آگار (Kirby-Bauer) طبق دستورالعمل مؤسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (Clinical and laboratory standards institute, CLSI) بر روی محیط مولر هینتون آگار (Merck، آلمان) انجام پذیرفت (۱۱). دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده در آزمون حساسیت ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* شامل: آزیترومایسین (۱۵ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم)، داکسی‌سیکلین (۳۰ میکروگرم)، تتراسیکلین (۳۰ میکروگرم)، جنتامیسین (۱۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، ریفامپین (۵ میکروگرم)، وانکومایسین (۳۰ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۲۵ میکروگرم) و سفوکسیتین (۳۰ میکروگرم) شرکت پادتن طب ایران بود. جهت انجام آنتی‌بیوگرام سوسپانسیون باکتری با غلظت معادل استاندارد نیم‌مک‌فارلند تهیه و بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شدند. در نهایت بر اساس قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها نتایج به صورت حساس، نیمه‌حساس، مقاوم بیان گردیدند. به منظور بررسی مقاومت به وانکومایسین از روش E-test استفاده شد و میزان MIC اندازه‌گیری گردید. عددی که در مقابل محل تلاقی هاله عدم رشد با نوار E-test (بیودیسک، سوئد) قرار داشت به عنوان مقدار کمی MIC در نظر گرفته شد (۱۲). جهت شناسایی سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک سفوکسیتین استفاده شد که در نهایت جدایه‌های با عدم رشد بیشتر یا مساوی ۲۲ میلی‌متر به عنوان سویه‌های حساس و جدایه‌های با عدم رشد کمتر یا مساوی ۲۱ میلی‌متر به‌عنوان سویه‌های مقاوم در نظر گرفته شدند (۱۳). استخراج DNA تمامی سویه‌ها با استفاده از کیت Invitek Stratec Business (ساخت کشور کانادا) انجام شد. آزمون Multiplex PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر همراه با پرایمرهای اختصاصی شامل: ۱۲/۵ میکرولیتر PCR master mix 2X (سیناکلون، ایران)، ۰/۵ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها به غلظت ۰/۸ میکرومولار، ۴ میکرولیتر از DNA الگو (۱۰ نانوگرم) و ۴/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل انجام گرفت. از سویه استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 33591 به‌عنوان سویه کنترل مثبت استفاده شد. پرایمرهای بکار رفته برای ژن *agr* در جدول (۱) آورده شده است (۱۴). برنامه واکنش PCR در دستگاه ترموسیکلر (BIO RAD,T100، امریکا) در جدول (۲) نشان داده شده است. نهایتا، محصول واکنش Multiplex PCR در آگارز ۱/۲٪ الکتروفورز و بعد از رنگ‌آمیزی در دستگاه ژل‌داک (BIO RAD، امریکا) مشاهده گردید. به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نسخه ۱۹ نرم‌افزار SPSS و آزمون مجذور کای استفاده شد. مرز معنی‌داری روی $p<۰/۰۵$ قرار داده شد.

## یافته‌ها

از ۱۰۰ ایزوله جمع‌آوری شده، ۳۸٪ از افراد بستری و ۶۲٪ از افراد سرپایی بودند. نتایج آزمون آنتی‌بیوگرام نمونه‌ها نشان داد که بیشترین میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی *استافیلوکوکوس اورئوس* مربوط به ریفامپین (۸۹٪) و وانکومایسین (۸۶٪) و بیشترین میزان مقاومت مربوط به پنی‌سیلین (۹۸٪) و تتراسیکلین (۸۵٪) می‌باشد (جدول ۳). از ۱۰۰ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۳۸ نمونه (۳۸٪) مقاوم به متی‌سیلین بودند.

**جدول۱:** پرایمرهای مورد استفاده برای ژن *agr* (۱۴)

| Primer Name | Amplicon size (bp) | Nucleotide sequence |
|---|---|---|
| *agrA* | ۴۳۹ | F- ATGCACATGGTGCACATGCR-<br>GTCACAAGTACTATAAGCTGCGAT |
| *agrB* | ۵۷۲ | F- TATTACTAATTGAAAAG<br>R- TGCCATAGC |
| *agrC* | ۳۲۰ | F- GTAATGTAATAGCTTGTA<br>R- TAATAATACCCAG |
| *agrD* | ۶۵۷ | F- CGATAATGCCGTAATACCCG<br>R- CGATAATGCCGTAATACCC |

**جدول۲:** چرخه دمایی و زمان مورد استفاده در واکنش PCR

| Test procedure | Temperature(C) | Time (Seconds) |
|---|---|---|
| Initial denaturation step | ۹۴ | ۱۸۰ |
| Denaturation step | ۹۴ | ۶۰ |
| Annealing step | ۵۵ | ۳۰ |
| Extension/elongation step | ۷۲ | ۶۰ |
| Final extension/ elongation step | ۷۲ | ۶۰ |

**جدول ۳:** نتایج حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*

| نام آنتی‌بیوتیک | نوع واکنش | | |
|---|---|---|---|
| | حساس | نیمه‌حساس | مقاوم |
| آزیترومایسین | ٪۷۵ | – | ٪۲۵ |
| کلرامفنیکل | ٪۸۵ | ٪۱۰ | ٪۵ |
| سیپروفلوکساسین | ٪۶۰ | ٪۱۰ | ٪۳۰ |
| کلیندامایسین | ٪۸۰ | – | ٪۲۰ |
| تتراسیکلین | ٪۵ | ٪۱۰ | ٪۸۵ |
| داکسی‌سیکلین | ٪۶۵ | ٪۵ | ٪۳۰ |
| جنتامیسین | ٪۷۴ | ٪۶ | ٪۲۰ |
| پنی‌سیلین | ٪۲ | – | ٪۹۸ |
| ریفامپین | ٪۸۹ | – | ٪۱۱ |
| کوتریموکسازول | ٪۷۶ | – | ٪۲۴ |
| وانکومایسین | ٪۸۶ | – | ٪۱۴ |

www.SID.ir

Archive of SID

**شکل ۱:** الکتروفورز محصولات ژن *agr* در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* بر روی ژل آگارز ۱ ٪. چاهک M مارکر ۵۰ bp، چاهک (+): کنترل مثبت واجد ژن‌های *agrD* (۶۵۷bp)، *agrB* (۵۷۲bp)، *agrA* (۴۳۹bp) و *agrC* (۳۲۰bp). چاهک ۱: سویه‌های دارای ژن *agrA*، چاهک ۲: سویه‌های دارای ژن *agrC*، چاهک ۳: سویه‌های دارای دو ژن *agrA,C*، چاهک‌های ۷-۵: سویه‌های دارای ژن *agrA*، Cn: کنترل منفی.

در پژوهش حاضر ۶۵ نمونه از باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* دارای ژن *agrA* و ۲۹ نمونه از باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* دارای ژن *agrC* بودند (شکل ۱). ۲۶ نمونه از باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین دارای ژن *agrA* و ۷ نمونه از باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین دارای ژن *agrC* می‌باشند. ژن‌های *agrB* و *agrD* در هیچ کدام از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده نشد. با توجه به تحلیل آماری هیچ ارتباط معناداری بین جنس و سن بیماران و میزان مقاومت به متی‌سیلین و فراوانی ژن‌های *agr* وجود نداشت ($p>0/05$).

## بحث

در حالی‌که شواهدی بر کاهش شیوع *استافیلوکوک اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین در برخی از کشورهای اروپایی وجود دارد، این باکتری هنوز به‌عنوان یک مشکل عمده و قابل توجه در بهداشت عمومی مطرح است (۱۵). بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، فراوانی و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین مشخص گردید. میزان شیوع سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین در بیمارستان‌ها و مراکز درمانی شهر تبریز ۳۸٪ بود. سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین یکی از شایع‌ترین باکتری‌های دارای مقاومت به چندین آنتی‌بیوتیک هستند، که قادر به کلونیزه شدن و بقاء در محیط‌های بیمارستانی می‌باشند. *استافیلوکوکوس اورئوس* این توانایی را از طریق کسب ژن‌های مناسب از ارگانیسم‌های مختلف در محیط کسب می‌کند (۱۶). مشابه با این تحقیق Rahimi و همکاران میزان شیوع سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین در سه بیمارستان مرجع در شهر تهران را ۳۰٪ گزارش کردند (۱۷). در پژوهش Dormanesh و همکاران ۲۹٪ ایزوله‌ها به عنوان سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین شناسایی گردید (۱۸). Hassanzadeh و همکاران با استفاده از روش دیسک دیفیوژن از بین ۱۲۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس در تهران ۶۰ مورد MRSA جداسازی کردند. در این مطالعه بیشترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، کلیندامایسین و اریترومایسین گزارش شد (۱۹). Davoodabadi و همکاران با بررسی کودکان مبتلا به عفونت‌های تنفسی میزان شیوع MRSA را ۶٪ گزارش کردند و بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و سفوکسیتین وجود داشت (۲۰). بنابراین مطالعه حاضر نشان می‌دهد میزان شیوع MRSA در مقایسه با سال‌های گذشته افزایش یافته است که می‌تواند ناشی از بستری شدن طولانی مدت بیماران در بیمارستان و استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها باشد. این عوامل منجر به ظهور سویه‌های مقاوم می‌گردد. گرچه مقاومت چند دارویی نیز در سویه‌های MRSA ایجاد شده است. به‌طوری که آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و تتراسیکلین نیز علیه MRSA مؤثر نیستند. تفاوت در مقاومت دارویی در سویه‌های باکتریایی در مطالعات مختلف می‌تواند ناشی از حساسیت دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی به کار رفته و تفاوت در منبع سویه‌ها نیز باشد. هم‌چنین با وجود انجام صحیح روش دیسک دیفیوژن، در اکثر موارد نمی‌توان به نتایج این روش اکتفا نمود و جهت تأیید قطعی مقاومت دارویی در باکتری‌ها لازم است میزان حداقل غلظت مهارکنندگی تعیین گردد (۲۱). در این مطالعه، بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۹۸٪) و تتراسیکلین (۸۵٪) مشاهده شد و ریفامپین (۸۹٪) و وانکومایسین (۸۶٪) بیشترین حساسیت را به باکتری مذکور داشتند. حساسیت به وانکومایسین در این مطالعه ۸۶٪ بود که نسبت به نتایج تحقیقات Zarifian و همکاران از حساسیت بیشتری برخوردار بود (۲۲). یافته‌های مطالعه حاضر مقاومت ۱۱ درصدی *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به ریفامپین را نشان می‌دهد این در حالی است که در مطالعه Beirami و همکاران هیچ مقاومتی نسبت به ریفامپین مشاهده نگردید (۲۳). در مطالعه‌ای که Mohseni Moghadam و همکاران در رفسنجان انجام دادند میزان مقاومت به سیپروفلوکسازین را ۱۰٪ در مقایسه با ۳۰٪ در مطالعه حاضر گزارش دادند که نشان دهنده افزایش میزان مقاومت نسبت به فلوئوروکینولون‌ها می‌باشد که زنگ خطری برای مسئولین می‌تواند باشد (۲۴). پیدایش *استافیلوکوکوس*‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها، به‌عنوان یک پاسخ اجتناب‌ناپذیر به فشار انتخابی ناشی از درمان ضدمیکروبی در نظر گرفته می‌شود. ظهور سریع

www.SID.ir

Archive of SID



مقاومت آنتی‌بیوتیکی در اثر استفاده بالینی آنتی‌بیوتیک، نشانگر توانایی بالای جمعیت‌های باکتریایی در سازش با تغیرات محیطی است. به‌طور کلی مقاومت آنتی‌بیوتیکی اکتسابی توسط موتاسیون در ژنوم باکتری و یا کسب یک قطعه DNA جدید، حاصل می‌شود (۲۵). در پژوهش حاضر، ۶۵ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* دارای ژن *agrA* و ۲۹ سویه دارای ژن *agrC* بودند. به‌طور مشابهی، Arabestani و همکاران طی مطالعه‌ای در سال ۱۳۹۴ نشان دادند بیشترین فراوانی ژن‌های *agr* در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به *agrA* و سپس *agrC* مربوط می‌شود (۲۶). Peerayeh و همکاران در سال ۲۰۰۹ و Hasannejad و Bibalan و همکاران در سال ۲۰۱۴ فراوانی ژن *agrA* را به ترتیب ۵۵/۱٪ و ۴۳/۳٪ بیان کردند که تا حدودی با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت دارد (۲۷، ۲۸). هم‌چنین به‌طور مشابهی، Indrawattana و همکاران در تحقیقی میزان فراوانی ژن *agrA* را ۵۹٪ گزارش نمودند (۲۹). اما در مطالعه Shopsin و همکاران در آمریکا و هم‌چنین Ben Ayed و همکاران در تونس میزان فراوانی ژن *agrA* به ترتیب ۳۰٪ و ۱۵٪ گزارش شد که با نتایج این مطالعه هم‌خوانی ندارد (۱۴، ۳۰).

## نتیجه‌گیری

از آن‌جا که بیان اکثر فاکتورهای ویرولانس در *استافیلوکوکوس اورئوس* توسط ژن‌های *agr* کنترل می‌شود، لذا شناسایی سیستم *agr* به عنوان یک هدف دارویی مطرح بوده و با تشخیص به موقع و سریع *agr* و نوع آن می‌توان به درمان سریع بیماران کمک نمود. ژن‌های *agrA* و *agrC* نقش مهمی در عفونت‌های *استافیلوکوکی* در نمونه‌های بالینی جدا شده از بیمارستان‌های تبریز ایفا می‌نمایند. با توجه به گسترش سریع سویه‌های مقاوم باکتریایی در بیمارستان‌ها و تفاوت الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها در مناطق جغرافیایی مختلف کشور پیشنهاد می‌شود نظارت‌های دوره‌ای بر الگوی مقاومت پاتوژن‌ها و برنامه‌ریزی جهت بهبود روش‌های شناسایی و کنترل این گونه عفونت‌ها جهت انتخاب روش درمانی مناسب صورت گیرد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها می‌تواند بر حسب زمان و مکان مطالعه متغیر باشد. به‌طوری که مقاومت دارویی از شهری به شهر دیگر و حتی از بیمارستانی به بیمارستان دیگر در یک شهر نیز متفاوت است. بنابراین، نتایج این تحقیق می‌تواند در درمان عفونت‌های *استافیلوکوکی* در بیمارستان‌های تبریز کمک‌کننده باشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های ریفامپین (۸۹٪) و وانکومایسین (۸۶٪) حساس بودند اما نسبت به پنی‌سیلین (۹۸٪) و تتراسیکلین (۸۵٪) مقاومت داشتند. بنابراین به نظر می‌رسد ریفامپین و وانکومایسین عوامل ضدمیکروبی مناسبی جهت درمان عفونت‌های *استافیلوکوکی* با مقاومت چند دارویی باشند.


## قدردانی

از همکاری کارکنان و پرسنل آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی بیمارستان‌های شهر تبریز که در جمع‌آوری نمونه و مراحل انجام این تحقیق مساعدت نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد. این مطالعه برگرفته از طرح تحقیقاتی دانشجویی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون می‌باشد که در سال ۱۳۹۶ انجام شده است.


## ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه شامل ملاحظات اخلاقی نمی‌شود.


## منابع مالی

این تحقیق حامی مالی نداشت و با هزینه شخصی انجام گرفت.


## منافع متقابل

نویسندگان اظهار می‌دارند که منافع متقابلی از تألیف یا انتشار این مقاله وجود ندارد.

## مشارکت مؤلفان

اجرا و تحلیل نتایج مطالعه، بر عهده ا ج ث و همکاران بود. در طراحی و تألیف مقاله ا ش نقش داشته و نسخه نهایی آن را خوانده و تأیید نموده است.

## References


1. Nimmo G R, Coombs G W, Pearson J C, O'Brien F G, Christiansen K J, Turnidge J D, et al. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the Australian community; an evolving epidemic. *Med J Aust* 2006; **184**(8): 374-375. doi: 10.1128/JCM.42.10.4735-4743.2004
2. Graves S F, Kobayashi S D, DeLeo F R. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* immune evasion and virulence. *J Mol Med* 2010; **88**(2): 109-114. doi: 10.1007/s00109-009-0573-x
3. Ghaznavi-Rad E, Nor Shamsudin M, Sekawi Z, van Belkum A, Neela V. A simplified multiplex PCR assay for fast and easy discrimination of globally distributed staphylococcal cassette chromosome mec types in meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol* 2010; **59**(10): 1135-1139. doi: 10.1099/jmm.0.021956-0
4. Huang Z G, Zheng X Z, Guan J, Xiao S N, Zhuo C. Direct detection of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* in sputum specimens from patients with hospital-associated pneumonia using a novel multilocus PCR assay. *Pathogens* 2015; **4**: 199-209. doi: 10.3390/pathogens4020199
5. De Sousa M A, Crisostomo M, Sanches I S, Wu J, Fuzhong J, Tomasz A, et al. Frequent recovery of a single clonal type of multidrug-resistant Staphylococcus aureus from patients in two hospitals in Taiwan and


www.SID.ir

Archive of SID



China. *J Clin Microbiol* 2003; **41**(1): 159-163. doi: 10.1128/JCM.41.1. 159-163.2003
6. Dadashi M, Nasiri M J, Fallah F, Owlia P, Hajikhani B, Emaneini M, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)In Iran: A Systematic review and meta-analysis. *J Glob Antimicrobial Resist* 2018; **12**: 96-103. doi: 10. 1016/j.jgar.2017.09.006
7. Saleem A J, Ali M R, Nasser N E. Prevalence of Accessory Gene Regulator Specificity Groups among Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Iraqi Hospital Patients. *Int J Curr Microbiol App Sci* 2016; **5**(7): 321-328. doi: 10.20546/ijcmas.2016.507.034
8. Yoon H J, Choi J Y, Lee K, Yong D, Kim J M, Song Y G. Accessory Gene Regulator Group Polymorphisms in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An association with clinical significance. *Yonsei Med J* 2007; **48**(2): 176-183. doi: 10.3349/ymj.2007.48.2.176
9. Murray EJ, Crowley RC, Truman A, Clarke SR, Cottam J A, Jadhav G P. Targeting *Staphylococcus aureus* quorum sensing with nonpeptidic small molecule inhibitors. *J Med Chem* 2014; **57**(6): 2813-219. doi: 10.1021/jm500 215s
10. Rajaduraipandi K, Mani K, Panneerselvam K, Mani M, Bhaskar M, Manikandan P. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: A multicentre study. *Indian J Med Microbiol* 2006; **24**(1): 34-38. doi: 10.4103/0255-0857.19892
11. Schwaber M J, Navon-Venezia S, Kaye K S, Ben-Ami R, Schwartz D, Carmeli Y. Clinical and economic impact of bacteremia with extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacte-riaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; **50**(4): 1257-1262. doi: 10.1128/AAC.50.4.1257-1262-2006
12. Arianpoor A, Estaji F, Naderinasab M, Askari E. Antimicrobial Susceptibility Pattern of *Staphylococcus aureus* Isolates Against Newly Marketed Antibiotics: A Report From Imam Reza Hospital of Mashhad, Iran. *Razavi Int J Med* 2015; **3**(4): e31568. doi: 10.17795/rijm31568.
13. Zeinali E, Moniri R, Musavi G H. Antibiotic resistance and molecular subtypes of clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a teaching hospital. *Indian J Med Microbiol* 2011; **29**: 318-319. doi: 10.4103/0255-0857.83926
14. 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. *J Clin Microbiol* 2003; **41**(1): 456-459. doi: 10.1128/JCM.41.1.456–459.2003
15. Dulon M, Haamann F, Peters C, Schablon A, Nienhaus A. MRSA prevalence in European healthcare settings: a review. *BMC Infect Dis* 2011; **11**: 138. doi: 10.1186/1471-2334-11-138
16. Nanthini Devi P, Saikumar C. Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus in Wound Infections in a Tertiary Care Hospital. *Int J Curr Microbiol App Sci* 2017; **6**(10): 3472-3479. doi: 10.20546/ijcmas.2017.610.409
17. Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie M R. Antibiotic resistance pattern of methicillin resistant and methicillin sensitive *staphylococcus aureus* isolates in Tehran, Iran. *Jundishapur J Microbiol* 2013; **6**(2): 144-149. doi: 10.5812/jjm. 4896
18. Dormanesh B, Siroosbakhat S, Khodaverdi Darian E, Afsharkhas L. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated From Various Types of Hospital Infections in Pediatrics: Panton-Valentine Leukocidin, Staphylococcal Chromosomal Cassette mec *SCCmec* Phenotypes and Antibiotic Resistance Properties. *Jundishapur J Microbiol* 2015; **8**(11): e11341. doi: 10.5812/ jjm.11341
19. Hassanzadeh S, Pourmand M R, Hadadi A, Nourijeylani K, Yousefi M, Mashhadi R. Frequency and antimicrobial resistance patterns of methicillin resistant *staphylococcus aureus* in Tehran. *J Med Bacteriol* 2013; **2**(3-4): 41-46. doi: 10.1016/j.micpath.2017.08.026
20. Davoodabadi F, Mobasherizadeh S, Mostafavizadeh K, Shojaei H, Havaei S A, Mehrabi Koushki A, et al. Nasal colonization in children with community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Adv Biomed Res* 2016; **5**: 86. doi: 10.4103/2277-9175.182217
21. Ahmadi A, Soltanpour M M, Imani Fooladi A A. Prevalency of imipenem-resistant bacterial strains isolated from hospital and accuracy of Iranian imipenem disc product. *J Gorgan Univ Med Sci*. 2015; **17**(1): 61-66. URL: goums.ac.ir/journal/ article-1-2286-fa.html
22. Zarifian A, Sadeghian A , Sadeghian H , Ghazvini K, Safdari H. Antibiotic Resistance Pattern of Hospital Isolates of Staphylococcus aureus in Mashhad-Iran During 2009 - 2011. *Arch Clin Infect Dis* 2012; **7**(3): 96-98. doi: 10.5812/ archcid.14468
23. Beirami M, Mahmood Alilo M, Zarei A, Zeinali S. Postnatal Attachment and General Health in Easy, Preterm, and Difficult Delivery: A Comparative Study. *IJN* 2017; **30**(105): 58-67. doi: 10.29252/ijn.30.105.58
24. Mohseni Moghadam F, Tashakori M, Shahidi Zandi B, Hadavi M, Ranjbar E, Shahidi Zandi S. Assessment of the frequency of Staphylococcus aureus carriers and its antibiotic susceptibility in paramedical students in Rafsanjan University of Medical Sciences, Iran. *JOHE* 2016; **5**(2): 83-88. doi: 10.18869/acadpub.johe.5.2.83

www.SID.ir

Archive of SID



25. Wright G D. Mechanisms of resistance to antibiotics. *Curr Opin Chem Biol* 2003; **7**(5): 563-569. doi: 10.1016/j.tim.2016.06.009
26. Arabestani M R, Abdoli Kahrizi M. Determining the *agr* Gene Variety (Accessory Gene Regulator) in Susceptible and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* strains in clinical samples and carriers Employed in remedial centers. *AMUJ* 2016; **18**(11): 44-53.
27. Peerayeh S N, Azimian A, Nejad Q B, Kashi M. Prevalence of agr specificity groups among *Staphylococcus aureus* isolates from university hospitals in Tehran. *Lab Medicine* 2009; **40**(1): 27-29. doi: 10.1309/LMGB9GB82WKDANWF
28. Hasannejad Bibalan M, Ghaemi E A, Shakeri F, Javid N. The relation between accessory gene regulator (agr) types of S.aureus and some phenotypic criteria. *AMUJ* 2014; **17**(87): 1-8. doi: 10.7860/JCDR/2014/6971.4219
29. Indrawattana N, Sungkhachat O, Sookrung N, Chongsa-Nguan M, Tungtrongchitr A, Voravuthikunchai S. *Staphylococcus aureus* clinical isolates: antibiotic susceptibility, molecular characteristics, and ability to formbiofilm. *Bio Med research international* 2013; **2013**: 1-11. doi: 10.1155/2013/314654
30. 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): 435-438. doi: 10.1016/j.patbio.2006.07.010

www.SID.ir