مجله دنیای میکروب ها
سال سوم، شماره اول (پیاپی ۶)، بهار ۱۳۸۹
صفحات ۵۵-۴۸

Original Article

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

هاجرحویزاوی*[۱]، دکتر آذردخت خسروی[۲]، زهرا فرشاد زاده[۳]

[۱]کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه میکروبیولوژی [۲]دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه جندی شاپور اهواز
[۳]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، ذات الریه کشنده، 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 *mecA*، *PVL* و *LUKE/D* 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 *PVL* و *LUKE/D* در سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین به ترتیب ۷/۲۳٪ و ۶۶/۲۶٪، و در سویه‌های حساس به متی سیلین ۳۳/۳٪ بود.

نتیجه گیری: 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

دریافت مقاله: دی ۸۸ پذیرش برای چاپ: فروردین ۸۹

مقدمه

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 بیماران سوختگی می‌شوند، استافیلوکوکوس اورئوس، به ویژه سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA)، چالش بزرگی را به وجود آورده اند (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

*) آدرس برای مکاتبه: جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه میکروبیولوژی
تلفن: ۰۹۱۶۶۱۴۲۹۲۵
پست الکترونیک: hajar505@yahoo.com

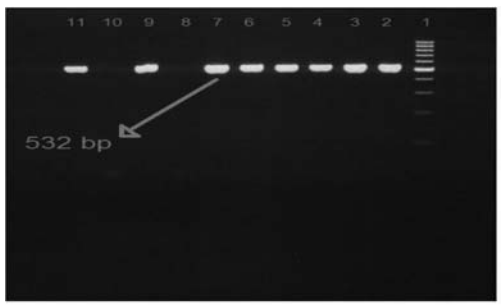
می‌باشند. زیرا این بیماران دارای پوست‌های برهنه و آسیب دیده می‌باشند. بنابراین با از میان رفتن دیواره‌ی پوستی، سد محافظ در مقابل این باکتری‌ها کاهش می‌یابد (۳). این حقیقت که باکتری‌های استافیلوکوکوس می‌توانند درون لکوسیت‌های پلی‌مورفونوکلئر به حیات خود ادامه دهند، مشکل را فزونی می‌بخشد. به علاوه، عملکرد باکتری کشی در پلی‌مورفونوکلئرها در بیماران سوختگی کاهش می‌یابد و به باکتری‌ها اجازه زندگی طولانی‌تری را می‌دهد (۴). بر اساس داده‌های مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها (Centers of Disease Control and Prevention=CDC)، تعداد عفونت‌های MRSA در ۱۰ سال گذشته دو برابر شده است. از طرفی در ایالات متحده آمار مرگ و میر کسانی که در اثر عفونت‌های MRSA جان خود را از دست می‌دهند، بیش از تعداد افرادی است که در اثر درگیری با ایدز می‌میرند (۵). مقاومت به متی‌سیلین نشان‌دهنده‌ی مقاومت به تمامی پنی‌سیلین‌های مقاوم به پنی‌سیلیناز و سفالوسپورین‌ها می‌باشد 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 راکد می‌کند. مقاومت به متی‌سیلین به وسیله یک قطعه کروموزومی تحت عنوان SCCmec ایجاد می‌شود (۷). تقریباً اغلب جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس سموم و آنزیم‌های بیشماری را تولید می‌کنند که نقش کمک کنندگی در بیماری‌زایی توسط این باکتری را دارند (۸). اعضای خانواده لکوتوکسین‌های استافیلوکوکی شامل: Panton Valentine Leukocidin (PVL)، Hemolysin3 (HlgA+HlgB+HlgC)، (LUKE+LUKD) LUKE/D و LUKM (LUKM-PV+LUKF-PV) می‌باشند (۹). لکوتوکسین‌ها، اگزوتوکسین‌هایی دو جزئی بوده که به خانواده barrel-2 (برون تراوا) غشای انتقالی تعلق دارند (۱۰). لکوتوکسین‌های دو بخشی استافیلوکوکوس، از دو پروتئین مجزا LUKS-PV (۳۳ کیلودالتون) و LUKF-PV (۳۴ کیلودالتون) تشکیل شده‌اند که با ایجاد منافذی در غشا باعث از بین رفتن سلول می‌شوند. این پروتئین‌ها از دو ژن نزدیک به هم *lukS-PV* و *lukF-PV* به وجود می‌آیند که به طور هم زمان رونویسی می‌شوند (۱۱). هدف اصلی سلول‌های لکوتوکسین استافیلوکوکوس سلول‌های چندشکلی هسته‌ای انسان (پلی مورفونوکلئرها)، مونوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها می‌باشند. پنتون والنتین لکوسیدین یک اگزوتوکسین تشکیل‌دهنده منفذ محسوب می‌شود و استافیلوکوکوس اورئوس‌هایی که ژن *PVL* را حمل می‌کنند، توانسته‌اند یک مشکل جدی را ایجاد کنند. این ژن در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی سیلین مشاهده می‌گردد. در موارد بسیار زیادی، از ارتباط بین پنتون والنتین لکوسیدین ترشح شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس و بروز بیماری‌هایی مثل عفونت‌های پوستی و بافت نرم، فورنکل (کورک) و آبسه‌های برگشت پذیر گزارش شده است (۱۲). عضو دیگری از خانواده‌ی توکسین‌های 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 لکوسیت‌ها متصل می‌شوند و به این صورت موجب از بین رفتن سلول‌ها می‌گردند (۱۳). هدف از این پژوهش، بررسی فراوانی ژن‌های کد کننده لکوسیدین در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی‌سیلین جدا شده از بیماران سوختگی در بیمارستان طالقانی اهواز بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش در سال‌های ۱۳۸۸ تا ۱۳۸۹ در مجموع ۲۰۳ نمونه از زخم بیماران سوختگی، بستری شده در بیمارستان طالقانی اهواز جمع‌آوری گردید. تمامی نمونه‌ها برای شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس با روش‌های معمول کشت و تست‌های بیوشیمیایی مانند کاتالاز، کوآگولاز و DNase مورد ارزیابی قرار گرفتند (۱۴). DNA نمونه‌های 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 (mecAF)5'-AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC-3' و (mecA|R)5'-AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC-3' برای شناسایی ژن *mecA* استفاده گردید. توالی ۵۳۲bp نشان دهنده وجود ژن *mecA* بود (۱۶). از سویه‌ی استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC3359 به عنوان کنترل مثبت

استفاده شد. واکنش PCR با حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر شامل: ۱۰ میکرولیتر (10X) PCR buffer، ۲ میلی‌مول $MgCl_2$ (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 سانتی‌گراد، در ادامه ۳۵ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال در دمای ۶۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه انجام شد. هم چنین از پرایمرهای (PLV F)5'-ATCATTAGGTAAAATGTCTGCACATGATCCA-3' و(PLV R)5'-GCATCAASTGTATTGGATAGCCAAAAGC-3' برای شناسایی ژن *PVL* (۱۷) و از پرایمرهای '5-CACTGC- (LUKE/D F)5'-ATTCCATAGCATAAG و (LUKE/D R)5'-TGAAAAACCTTCAAAGTTGATACCAG-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 سویه‌ی استاندارد استافیلوکوکوس اورئوسATCC49775 و برای شناسایی ژن *LUKE/D* از سویه‌ی 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)، ستون‌های ۲ تا ۹) نمونه‌های مورد مطالعه، ستون ۱۰) کنترل منفی و ستون ۱۱) کنترل مثبت.

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

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

نتایج

از مجموع نمونه‌های 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 سویه‌های 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 ژن‌های مورد مطالعه بر اساس واکنش PCR نشان داد که از بین ۹۵ نمونه واجد سویه‌های استافیلوکوکوس، ۸۳ مورد (۸۷/۳۶٪) دارای ژن *mecA* (سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین) و ۱۲ مورد (۲۱/۶۴٪) فاقد این ژن (سویه‌های حساس به متی‌سیلین) بودند (جدول ۱). آنالیز داده‌ها نشان داد که بین وجود ژن‌های *mecA*، *PVL* و *LUKE/D*، با سن و درجه سوختگی بیماران ارتباط معنی داری وجود ندارد (p>۰/۵).

در شکل‌های ۱، ۲ و ۳ تصاویر ژل الکتروفورز حاصل از PCR مربوط به ژن‌های *mecA*، *PVL* و *LUKE/D* نشان داده شده است. در شکل ۴ فراوانی ژن‌های *PVL+* و *LUKE/D+* در سویه‌های مقاوم و حساس به متی‌سیلین با هم مقایسه شده اند.

جدول ۱: فراوانی ژن های مورد مطالعه بر اساس واکنش PCR.

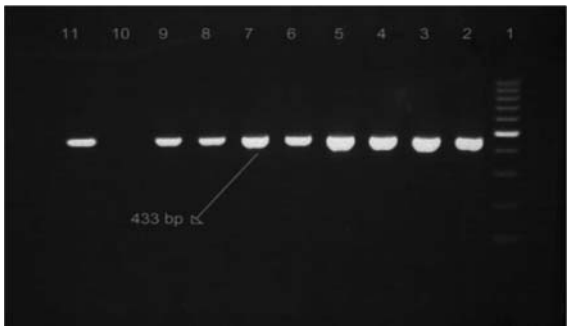
ژن	موارد مثبت (درصد)	موارد منفی (درصد)	جمع کل (درصد)
mec A	۸۳ (۸۷/۳٦)	۱۲ (۱۲/٦٤)	۹۵ (۱۰۰)
PVL	۱۰ (۱۰/۵۳)	۸۵ (۸۹/٤۷)	۹۵ (۱۰۰)
LUKE/D	۵۹ (٦۲/۵۹)	۳٦ (۳۷/۹)	۹۵ (۱۰۰)

بحث

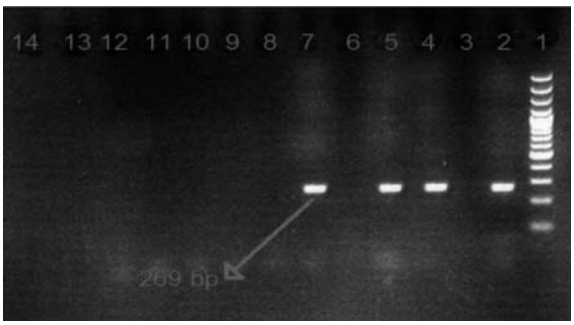
استافیلوکوکوس اورئوس یکی از شایع‌ترین عوامل ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی به شمار می رود. این باکتری در برابر بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های رایج مورد استفاده مقاوم شده است. فراوانی سویه‌های مقاوم به دارو، مشکلات جدی درمانی و مشکلات مربوط به کنترل عفونت‌های MRSA در محیط‌های بیمارستانی را ایجاد نموده است. 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 داده‌که بین سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس واجد ژن‌های *LUKE/D* و *PVL* و 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 و۲۰). 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 کشورهایی مانند 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).

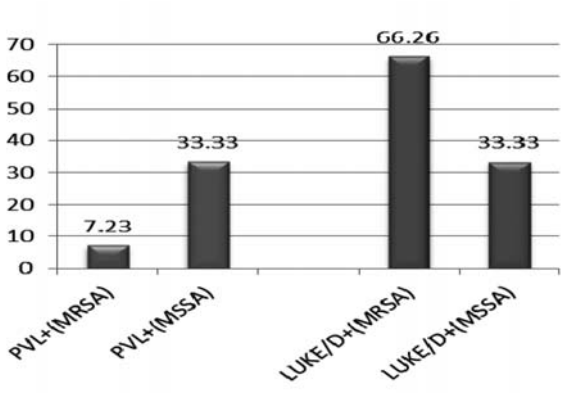
در مجموع فراوانی بالای سویه‌های MRSA در بیمارستان مورد مطالعه موضوع نگران‌کننده‌ای است‌که باید با جدیت بیشتری مورد توجه قرار گیرد. به نظر می‌رسد بافت فرسوده و غیر استاندارد ساختمان و تأسیسات بخش‌های درمانی به ویژه تعداد قابل توجه بیماران بستری شده و مراجعه‌کننده، از عوامل اصلی عدم موفقیت کنترل عفونت در این بیمارستان محسوب می‌گردد. در مطالعه حاضر فراوانی ژن‌های *LUKE/D* و *PVL* در سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین به‌ترتیب ۷/۲۳٪ و ۶۶/۲۶٪ بود، اما فراوانی این دو ژن در سویه‌های حساس به متی‌سیلین ۳۳/۳٪ گزارش شد. در مورد ژن *LUKE/D* می‌توان گفت‌که این ژن اخیراً شناسایی شده و به همین دلیل مطالعات محدودی درمورد 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 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) نمونه های مورد مطالعه، ستون ۱۰) کنترل منفی و ستون ۱۱) کنترل مثبت.



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 ستون های ۴ تا ۱۴) نمونه های مورد مطالعه.



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 سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از خون و عفونت‌های ریوی ارتباط معنی داری مشاهده نشد، اما این ارتباط در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از موارد پوستی و نمونه‌های ادرار معنی‌دار بود (۱۷).

در مطالعات مختلف فراوانی ژن پنتون والنتین لکوسیدین در میان سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس بین ۲ تا ۳۵٪ بوده است (۲۱ و ۳۱). درحالی که فراوانی این ژن در آرژانتین ۵۶٪ (۳۲) و ایران ۶۱/۸٪ (۱۷) به طور قابل توجهی بالاتر گزارش شده است. دلیل تفاوت گزارش‌های مربوط به فراوانی این ژن در مناطق جغرافیایی مختلف می‌تواند به دلیل کاربرد روش‌های گوناگون مورد بررسی باشد. فراوانی بالای ژن PVL در این پژوهش می‌تواند به دلیل نوع نمونه مورد بررسی باشد. زیرا در مطالعات مختلف انجام گرفته بر روی نمونه‌های حاصل از پوست، زخم و عفونت‌های ریوی فراوانی این ژن بیش از سایر نمونه‌های ارزیابی شده است (۱۷ و ۳۳).

به دلیل خطرناک بودن سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس حاوی ژن پنتون والنتین لکوسیدین، بیماری‌های ایجاد شده توسط این سویه‌ها می‌تواند به عنوان یک عامل تهدید کننده زندگی محسوب گردد. از این رو تشخیص و درمان زود هنگام آن توصیه می‌شود. به منظور تشخیص زود هنگام بیماری در بیماران مبتلا و افراد حامل و نیز جلوگیری از انتقال فرد به فرد آن، می‌توان از روش‌هایی مانند PCR معمولی استفاده کرد.

نتیجه گیری

با توجه به فراوانی بالای ژن‌های PVL و $LUKE/D$ در میان سویه‌های MRSA و نیز شدید و کشنده بودن بیماری‌های 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 نمونه‌ها کمال امتنان را دارند.

References

1. Woodford N, Livermore DM. Infections caused by Gram-positive bacteria: a review of the global challenge. J Infect. 2009; 59(S1): S4-S16.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. Jeremi LP. Frequency of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in healthy nasal carriers in Pomoravlje district. Acta Medica Medianae. 2010; 49(1): 33-6.
6. Diederen BMW, Kluytmans JAJW. The emergence of infections with community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. J Infect. 2006; 52(3): 157-68.
7. Grundmann H, Aires-de-Sousa M, Boyce J, Tiemersma E. Emergence and resurgence of meticillin-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 methicilin-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.

Journal of Microbial World
Volume 3, No. 1, May 2010

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 Hoveizavi[1], Azar Dokht Khosravi[2], Zahra Farshadzadeh[3]

[1]MSc., Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
[2]Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Infectious and Tropical Diseases Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
[3]Lecturer, Infectious and Tropical Diseases Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Abstract

Bakground 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%), betwwn 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.

Correspondence to: Hajar Hoveizavi
E-mail: hajar505@yahoo.com
Tel: +98-9166142925
Journal of Microbial World 2010 3(1): 49-55