

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

Hasannejad Bibalan M^{1*}, Ghaemi E.A², Shakeri F², Javid N²

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 85 clinical 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

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^۲، ناعمه جاوید^۳

۱- دانشجوی دکتری 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 ویرولانسی، آگزوتوکسین‌های ترشحی و همولیزین‌ها 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 اختصاصی 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 پلیمرز، استافیلوکوکوس اورئوس

*نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، گروه میکروبیولوژی

Email: meysam_hasannejad@yahoo.com

مقدمه

با توجه به اهمیت ژن agr در تنظیم بیان پروتئین های سطح سلول، اگزوتوکسین های ترشحی، همولیزین ها و فاکتورهای ویروالانس و تیپ های مختلف این ژن که در مناطق مختلف دنیا دارای فراوانی و شیوع متفاوتی هستند و توجه به این مسئله که بیماری زاوی سویه های متعلق به هر تیپ در مناطق مختلف متفاوت است، ضروری است که سویه های 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 ایزوله های متعلق به agr group III دارای توانایی بیشتری در تولید سندروم شوک سمی هستند و هم چنین مشخص گردید که ایزوله های متعلق به agr group I دارای توانایی بیشتری در بروز اندوکاردیت و باکتری می هستند.

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

مواد و روش

در این مطالعه توصیفی-تحلیلی تعداد ۱۹۴ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس بین سال های ۱۳۸۸ تا ۱۳۹۱ از بیماران (تعداد ۸۵ ایزوله)، حاملین سالم شاغل در بیمارستان های آموزشی (تعداد ۵۸ ایزوله) و نمونه های غذایی (تعداد ۵۱ ایزوله) شهر گرگان جداسازی شده بود، برای مطالعه استفاده شد. در هر مورد ابتدا ایزوله در محیط آگار خون دار و مانتیول سالت آگار احیا شد و برای اطمینان از خلوص، با تست های بیوشیمیائی استاندارد مثل رنگ آمیزی گرم، تست کاتالاز، تست کواگولاز اسلایدی و لوله ای و تست Dnase مورد بررسی مجدد قرار داده شد. اطلاعات دموگرافیک بیماران و حاملین و نیز محل جدا

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

در بسیاری از بیماری های انسانی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس، سیستم agr مسئول کنترل و هماهنگی تولید فاکتورهای ویروالانس، اگزوتوکسین های ترشحی و همولیزین ها می باشد. 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 می دهد 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 P₂ و P₃ از هم متمایز می شوند. اپران P₂ مسئول کد کردن چهار پروتئین agrA، agrB، agrC و agrD است و پروموتور P₃ 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 می دهند 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 P₂ و P₃ می شود. استافیلوکوکوس اورئوس را می توان بر اساس تفاوت در توالی ژن agrC که کد کننده گیرنده پپتید خود القاگر است و ژن agrD که کد کننده پپتید خود القاگر است به چهار گروه agrI، agrII، agrIII و agrIV تیپ بندی کرد (۴، ۵).

فرمتناز) و DNA توسط فنل کلروفورم ایزوامیل الکل، کلروفورم و اتانول سرد استخراج شد(۶).

agr تایپینگ: تمامی ۱۹۴ ایزوله با استفاده از روش PCR و بر اساس پرایمر ذکر شده در جدول ۱ تیپ بندی 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.

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

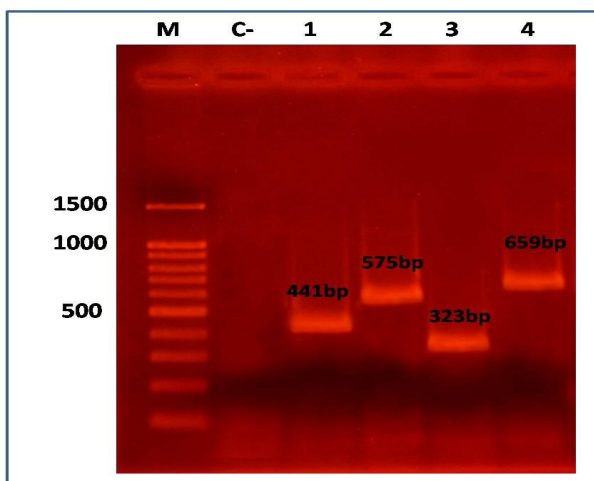
استخراج DNA ژنومی: استخراج با استفاده از روش لیزوزیم-فنل کلروفورم و بهره گیری از نمک سدیم سارکوزین ۲ درصد (۳۰۰ میکرولیتر)، پروتیناز K (۳۰ میکرولیتر)، RnaseA (۵ میکرولیتر) انجام شد (شرکت

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده برای تیپ بندی ژن agr

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

یافته ها

تنوع تایپها نشان داد که بیشتر ایزوله ها 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 معنی داری در این مورد مشاهده نشد ($p > 0.05$) (شکل ۱).



شکل ۱. محصول PCR چاهک یک تا چهار به ترتیب agr group I تا IV، M: مارکر، C: کنترل منفی

توزیع فراوانی تیپ های استافیلوکوکوس اورئوس بر مبنای ژن agr در ایزوله های مختلف بر حسب منبع جدا

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

۱/۵ واحد آنزیم Taq DNApol، ۲۰۰ میکرومول dNTP، ۵ میکرومول کلرید منیزیم، ۲/۵ میکرولیتر بافر $10 \times$ ، ۵ میکرولیتر از DNA استخراج شده و ۱ میکرومول از هر کدام از پرایمرها (شرکت فرمتناز) 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 سانتی گراد، مرحله اتصال به مدت ۱ دقیقه در دمای ۵۶ درجه سانتی گراد و تکثیر به مدت ۷۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد و بالاخره تکثیر نهایی ۸ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد 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 داگ 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 نمونه ها بر روی محیط آگار خوندار کشت داده شد. هم چنین جهت بررسی تولید پیگمان، نمونه ها روی محیط نوترینت آگار کشت داده شد.

این تفاوت از نظر آماری معنی دار بود ($p < 0.05$). در تمامی گروه ها 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 (جدول ۲).

سازی با یکدیگر متفاوت بود. در این مطالعه، قسمت اعظم ایزوله های جدا شده از نمونه های غذایی (۵۲/۹ درصد) و حاملین سالم (۴۸/۳ درصد) متعلق به agr group I بود در حالی که فراوانترین تیپ agr در ایزوله های جدا شده از بیماران (۴۱/۲ درصد) متعلق به agr group III بودند که

جدول ۲. 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

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

جز نمونه هایی که از کشت خون جدا شده بود که در این مورد تایپ I شایع تر از تیپ III بود (۶ مورد در برابر ۵ مورد). از طرفی ۵۰ درصد ایزوله های جدا شده از بیماران دارای تیپ IV، از عفونت ادراری جدا شده بود (جدول ۳).

بین تیپ agr و نوع عفونت بالینی که باکتری از آن جدا شده بود، تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). همان طور که انتظار می رفت در تمامی انواع عفونت ها شیوع agr group III بیش از بقیه تیپ ها بود به

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 جدا شده از ادرار، زخم و... در نمونه های جدا شده از خون agr group I غالب بود.

جدول ۴. توزیع فراوانی تولید همولیز بین نمونه های استافیلوکوکوس اورئوس

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

از میان ۱۹۴ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس، ۱۲۰ نمونه (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 نمونه ها 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 معنی داری بین نوع گروه agr و تولید یا عدم تولید همولیزین مشاهده نشد ($p > 0.05$). (جدول ۴)

همکاران (۷) agr group I با ۴۲ درصد بیشترین میزان را در بین ایزوله‌های جدا شده از کودکان و والدین شان دارا بود و در مطالعه وان لی و همکاران (۹) از میان ۱۹۲ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس، ۷۱ درصد متعلق به agr group I بودند و در مطالعه نجاریپرایه 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.

شایع ترین تیپ در ایزوله‌های جدا شده از مواد غذایی و حاملین سالم نیز همین تیپ ۱ بود ولی در ایزوله‌های جدا شده از بیماران تیپ ۳ به صورت معنی‌داری غالب بود. در مطالعه بویاکر 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 مثلاً 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 بویاکر و همکاران (۱۲) در مطالعه خود نشان داد که ایزوله‌های متعلق به agr group III عامل عفونت‌های غیرتهاجمی هستند و ایزوله‌های متعلق به agr group I عامل عفونت‌های تهاجمی به خصوص باکتری می 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 جدا شده است.

از میان ۱۹۴ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس، ۱۰۶ نمونه (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).

جدول ۵. 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 معنی‌داری 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 و IV تقسیم کرد. شایع ترین 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

بودن همولیزین های استافیلوکوکی و بیان مناسب تر آنها در این گروه agr باشد.

در این پژوهش، ۱۰۶ نمونه (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 نمونه ها 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 ایزوله های 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 تایید بودند و 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 نمونه های زخم، خون و ادرار تشخیص دهیم.

نتیجه گیری

یکی از اهداف تیپ بندی باکتری ها استفاده از آنها به عنوان مارکر ردیابی به خصوص در درک اپیدمیولوژی بیماری های عفونی است که روش agr تایپینگ و سایر روش ها از قبیل spa, coa, تایپینگ و PFGE, MLST می توانند ابزار مناسبی برای ردیابی ملکولی استافیلوکوک ها 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 می گیرد.

منابع

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

به جز ایزوله های جدا شده از کشت خون در سایر ایزوله های جدا شده از بیماران agr group III غالب بوده است. آیا این یافته نشان دهنده آن است که قدرت بیماری زائی یا تهاجم استافیلوکوکوس اورئوس تیپ agr group III با سایر تیپ ها تفاوت دارد یا این پدیده اتفاقی است؟ برای یافتن پاسخ این سؤال انجام مطالعات وسیع تر در استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده از عفونت های مختلف و تعیین تیپ agr پیشنهاد می گردد، هم چنین مقایسه فاکتورهای ویرولان در ایزوله های جدا شده از بیماری های مختلف نیز می تواند به درک بهتر این مطلب کمک نماید.

در بین ایزوله های 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 نمونه های 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 گروه های agr داراست. این نتایج نشان دهنده آن است که تنوع تیپ agr در بین ایزوله های جدا شده از مواد غذایی مختلف متفاوت است و نوع ماده غذایی، نحوه نگهداری، پروسه های انجام شده بر آن و عوامل دیگر می تواند بر نتیجه نهایی تاثیر گذار باشد.

توزیع فراوانی توانایی ایجاد همولیز در ایزوله های متعلق به گروه agr group IV از بقیه بیشتر بود به این معنی که از ۱۰ ایزوله متعلق به این گروه (۷۰ درصد) ایزوله همولیز مثبت بودند در حالی که این رقم در ایزوله های متعلق به agr group II ۵۴/۵ درصد بوده و کمتر از سایر گروه ها می باشد ولی ارتباط آماری معنی داری 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 ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران که متعلق به agr group IV بودند، توانایی تولید همولیز را از خود نشان دادند که ممکن است نشان گر فعال

- 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. The agr P2 operon: An autocatalytic sensory transduction system in *Staphylococcus 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, Alcibes 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 methicillin 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.