Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2014; 17(92): 9-16

Increasing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Vaccine potency, using a mixture of Alum-Naloxone: Augmentation of Humoral Immune Responses

Bahroodi M[1], Irajian G[2,*], Fizabadi MM[1], Behrouz B[3], Bahroudi S[4], Mahdavi M[5]

1 - Department of Microbiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2 - Department of Microbiology, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3 - Department of Microbiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources/ University of Tehran, Iran
5 - Department of Immunology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Received: 6 Oct 2014, Accepted: 12 Nov 2014

Abstract

Background: The emergence of antibiotic resistance, particularly resistance to methicillin in *Staphylococcus aureus* has made the treatment process more difficult. Therefore, producing of an effective vaccine seems to be necessary to prevent infections with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). In this study, a mixture of naloxone and alum has been used to improve the efficacy of a vaccine against MRSA.

Materials and Methods: MRSA 834 strain was grown on TSB medium and the grown cells were harvested and killed by sonication and were used as a vaccine model. Balb/c mice were divided into six groups and the vaccines were either injected alone, with naloxone, alum, or a mixture of naloxone - alum and control group received naloxone and PBS buffer. Total IgG antibody level was measured by ELISA method and finally, the challenge test of this bacterium was performed and the mice were examined regarding the degree of bacteria growth in their kidneys.

Results: The serum level of Total IgG antibody in the mixture of naloxone – alum with MRSA group was shown to be significantly increased ($p<0.05$). Furthermore, the lowest bacterial load was observed in this group.

Conclusion: It seems that a mixture of naloxone and alum as an adjuvant with the killed methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* enhances the humoral immunity leading to a high level of protection against MRSA infections. Therefore, this seems to be a good option for improving the performance of this vaccine.

Keywords: Naloxone, Alum, Immunogenicity, Adjuvant, Methicillin-resistant *Staphylococcus aurous*

*Corresponding Author:
Address: Department of Microbiology, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Email: dr.irajian@gmail.com

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۱۷، شماره ۱۱ (شماره پیاپی ۹۲)، بهمن ۱۳۹۳، ۱۶-۹

افزایش کارائی واکسن کشته شده استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین با به کارگیری مخلوط آلوم-نالوکسان به عنوان ادجوانت: تقویت پاسخ‌های ایمنی هومورال

محبوبه بحرودی[۱]، غلامرضا ایراجیان[۲*]، محمد مهدی فیض آبادی[۳]، بهادر بهروز[۱]، سعید بحرودی[۴]، مهدی مهدوی[۵]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲- دانشیار، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۳- استاد، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴- دانشجوی کارشناسی ارشد فرآوری محصولات دریایی، گروه شیلات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، تهران، ایران
۵- استادیار، گروه ویروس شناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۷/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: پیدایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی به ویژه مقاومت به متی‌سیلین در استافیلوکوکوس اورئوس، پروسه درمان را با مشکل مواجه ساخته است. در این مطالعه، اثر مخلوط نالوکسان و آلوم به عنوان یک ادجوانت بر کارائی واکسن استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین کشته شده بررسی گردید.

مواد و روش‌ها: سویه ۸۳۴ استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در محیط TSB کشت داده شد و به وسیله سونیکاسیون کشته شده و به عنوان یک مدل واکسن مورد استفاده قرار گرفت. موش‌های بالب سی به هفت گروه تقسیم شدند و واکسن مورد نظر در ترکیب با ادجوانت نالوکسان، آلوم، مخلوطی از نالوکسان و آلوم و یا به تنهایی مورد تزریق قرار گرفتند. سطح آنتی‌بادی توتال IgG و هم‌چنین ایزوتیپ های IgG2a , IgG1 به روش الیزا اندازه‌گیری شد و در نهایت آزمون چالش با باکتری مذکور انجام گرفت و موش‌ها به لحاظ میزان رشد باکتری در کلیه بررسی شدند.

یافته‌ها: سطح سرمی آنتی بادی IgG توتال در گروه مخلوط نالوکسان و آلوم با استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده بود($p<۰/۰۵$). به علاوه سطح پایین بار باکتری در این گروه مشاهد شد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تجویز مخلوط نالوکسان و آلوم به عنوان یک ادجوانت همراه با واکسن کشته شده استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، با تقویت ایمنی هومورال منجر به سطح بالایی از حفاظت در برابر عفونت استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین می‌گردد.

واژگان کلیدی: نالوکسان، آلوم، ایمنی‌زایی، ادجوانت، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین

***نویسنده مسئول:** تهران، دانشگاه علوم پزشکی ایران، گروه میکروب شناسی

Email:dr.irajian@gmail.com

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یک کوکسی گرم مثبت باعث ایجاد بیماری‌های متعددی نظیر سندرم فلسی شدن پوست، سندرم شوک سمی، مسمومیت غذایی، عفونت‌های جلدی، اندوکاردیت، پنومونی، آرتریت چرکی و استئومیلیت می‌گردد و یکی از شایع‌ترین پاتوژن‌ها در ایجاد عفونت‌های استخوان و مفاصل است به گونه‌ای که آرتریت سپتیک و استئومیلیت حاد از رایج‌ترین عفونت‌های استخوان و مفصلی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشند(۱). متی‌سیلین یکی از رایج‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در درمان عفونت‌های استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد ولی در سال ۱۹۶۱ دانشمندان انگلیسی اولین سویه از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس را که به متی‌سیلین مقاومت داشت شناسایی کردند و در سال ۱۹۶۸ اولین مورد مقاومت به این آنتی‌بیوتیک در عفونت انسانی با این باکتری از ایالات متحده گزارش شد(۲). با توجه به اهمیت استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus-MRSA)، مطالعات دامنه داری در دنیا بر روی ایزوله‌های بالینی فوق صورت گرفت. از جمله میزان شیوع این سویه از باکتری در کشورهای آسیایی نظیر چین، کره و تایوان بیش از ۷۰ درصد(۳)، در آمریکای شمالی بیش از ۵۰ درصد و در اروپا ۲۰ درصد گزارش شده است(۴). در ایران نیز مطالعاتی در مورد شیوع عفونت‌های ناشی از سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقام به متی‌سیلین انجام شده است. بررسی‌ها نشان می‌دهد میزان فراوانی MRSA در ایران حدود ۴۸/۵ درصد می‌باشد که احتمالا دلیل آن عدم استفاده از روش‌های یکسان، چگونگی آزمایش و نوع دیسک آنتی‌بیوتیک مورد استفاده می‌باشد(۵، ۶). یکی از مشکلات مهم در مقابله با این عامل پاتوژن، مکانیسم‌های بیماری‌زایی متعدد این میکروب و فقدان درک صحیح از پاسخ‌های ایمنی موثر علیه آن می‌باشد. به نظر می‌رسد یک راهکار نوید بخش در این گونه موارد به کارگیری ادجوانت‌های جدید در ساختار واکسن باشد. آلوم به عنوان یک ادجوانت مناسب که به صورت گسترده در واکسیناسیون به کار می‌رود و مجوز به کارگیری در واکسیناسیون انسانی را دارد، قادر به تحریک مناسب ایمنی هومورال است اما در برخی واکسن‌ها مانند واکسن هپاتیت B در درصدی از افراد قادر به پاسخ موثر آنتی بادی نمی‌باشد(۷). مطالعات گذشته نشان می‌دهد که نالوکسان به عنوان یک آنتاگونیست اپیوئید توانایی انحراف پاسخ‌های ایمنی به سمت Th1 را دارد و قادر است پاسخ‌های ایمنی به واکسن‌ها را تقویت نماید(۸، ۹). از سوی دیگر از نظر توکسیک بودن و یا عوارض جانبی شدید کاملا بی‌خطر بوده و مصرف آن در جمعیت‌های انسانی برای موارد ترک اعتیاد توسط سازمان غذا و داروی یالات متحده آمریکا (FDA) به تایید رسیده است. از سوی دیگر یافته‌های مطالعات اخیر بیان‌گر آنست که نالوکسان قادر به تقویت عملکرد ادجوانت آلوم در القاء پاسخ‌های آنتی بادی است(۱۲-۱۰). در این مطالعه اثر ادجوانتی مخلوط نالوکسان-آلوم در مدل واکسن کشته شده استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در تقویت پاسخ‌های ایمنی هومورال و ایجاد اثر محافظتی در عفونت تجربی به باکتری مذکور مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه و تایید سویه استاندارد استافیلو کوکوس اورئوس مقام به متی‌سیلین(MRSA)

سویه۸۳۴ MRSA به صورت لیو فیلیزه از انیستیتو پاستورتهران تهیه گردید و با روش‌های متداول بیوشیمیایی و کشت تایید گردید.

تهیه باکتری کشته شده MRSA

از کشت شبانه باکتری MRSA ، یک کشت تازه در ۷۵۰ میلی‌لیتر محیط TSB براث درون ارلن یک لیتری انجام گرفت. پس از رسیدن کدورت رشد باکتری به حدود ۰/۶ درطول موج ۶۰۰ نانومتر، به مدت ۳۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ و رسوبات سلولی جمع‌آوری و بعد از افزودن ۱ میلی مول PMSF به تعداد دفعات ۳ بار، هر بار به مدت ۳۰ ثانیه، با فواصل ۱۰ ثانیه از هم و با قدرت ۱۳۰ کیلو هرتز سونیکیت شد (Hielscher Ultrsound

Technology, Germany). سپس دیالیز در محلول PBS x ۱ (Sigma) انجام گرفت و در پایان غلظت پروتئین به دست آمده و پس از استریل نمودن با کمک فیلتراسیون غلظت پروتئین با روش برادفورد در حضور استانداردهای آلبومین گاو اندازه‌گیری شد.

گروه‌بندی موش‌های مطالعاتی و تزریق واکسن

بدین منظور تعداد ۱۴۴ سر موش Balb/c نر ۸-۶ هفته‌ای از انستیتو پاستور کرج خریداری شد. موش‌ها در ۶ گروه ۲۴ تایی در قفس‌های جداگانه مطابق با قوانین دانشگاه علوم پزشکی ایران نگهداری شدند. تزریقات در روزهای ۰ ، ۱۴و ۲۸ به صورت زیر جلدی و به میزان ۱۰ میکروگرم از لیزات باکتری کشته شده استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین فرموله شده در نالوکسان، آلوم، یا مخلوط نالوکسان و آلوم به عنوان گروه‌های اصلی مطالعه و باکتری کشته شده استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین بدون ادجوانت، کنترل PBS و کنترل نالوکسان به عنوان گروه‌های شاهد و در حجم نهایی ۰/۵ میلی‌لیتر انجام گرفت.

سنجش سطح IgG توتال

دو هفته پس از آخرین تزریق، از گوشه چشم موش‌ها (سینوس رتروارویتال) خون‌گیری به عمل آمد و سرم حاصل از آن برای سنجش میزان IgG توتال در ۲۰- سانتی‌گراد درجه نگهداری شد. میزان IgG توتال در سرم هر موش به روش الیزای استاندارد در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای (Extragen, Korea) اندازه‌گیری شد. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر آنتی ژن باکتریایی (۱μg/well) در PBS (pH ۷/۴) به هر چاهک پلیت میکروتیتر اضافه گردید و به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از ۳ بار شستشو با بافر PBST (بافر PBS محتوی ۰/۰۵درصد Tween-۲۰)، با PBST محتوی ۵ درصد BSA به مدت ۲ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد بلوکه شد و به دنبال چند بار شستشو با PBST، از سرم هر موش رقت‌های ۱:۱۰۰ تا۱:۱۲۸۰۰ تهیه و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به چاهک‌ها اضافه گردید و به مدت ۲ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه گردید. پس از ۴ بار شستشو، ۱۰۰ میکرولیتر آنتی بادی کونژوگه با پراکسیداز (rabbit anti-mouse IgG, Sigma) با رقت ۱:۱۰۰۰۰ به هر چاهک اضافه و ۱/۵ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه شد. به دنبال چند مرحله شستشو، ۱۰۰ میکرولیتر از معرف رنگ‌زای TMB/H2O2 (Razi institute) به هر چاهک اضافه، فعالیت آنزیمی به کمک اسید سولفوریک ۱ نرمال متوقف و جذب نوری در ۴۵۰ نانومتر قرائت شد.

بررسی بار باکتریائی در گروه‌های تجربی

بدین منظور یک هفته پس از چالش باکتریایی، کلیه موش‌هایی که مورد چالش باکتریایی قرار گرفته بودند، در شرایط استریل از بدن موش‌ها خارج گردید و پس از هموژنیزاسیون محیط مایع سلولی مقدار ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده بدون رقیق سازی به مدت یک شب در محیط کشت LB آگار کشت داده شد و روز بعد تعداد کلون‌های رشد کرده با واحد CFUs (Colony Forming Units) برای تعیین بار باکتری در گروه‌های موشی شمارش شدند.

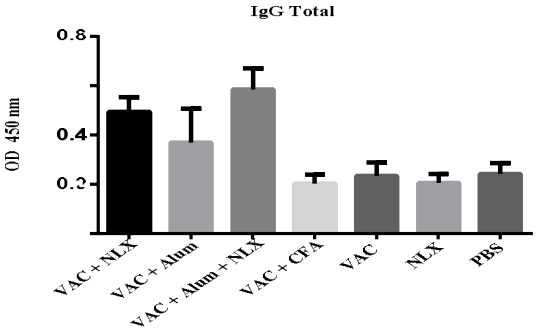
در پایان جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ استفاده شد و نتایج داده‌های کمی بر اساس میانگین سه بار تکرار و به کمک آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و روش LSD مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و با حدود اطمینان ۹۵ درصد و $p<۰/۰۵$ گزارش شد.

یافته‌ها

تیتر آنتی بادیIgG توتال

نتایج بررسی آنتی‌بادی IgG توتال (نمودار ۱) در گروه‌های موشی که واکسن مورد نظر را به همراه ادجوانت آلوم یا نالوکسان و یا ترکیبی از این دو ادجوانت دریافت کرده بودند، نسبت به گروه‌های کنترل به صورت معنی‌داری ($p<۰/۰۰۳$) افزایش پاسخ‌های آنتی بادی را نشان می‌دهند. به کارگیری مخلوط نالوکسان و آلوم در گروه‌های تجربی موجب تقویت پاسخ آنتی بادی نسبت به گروه ایمن شده با واکسن به همراه ادجوانت آلوم شده است($p=۰/۰۰۱$)

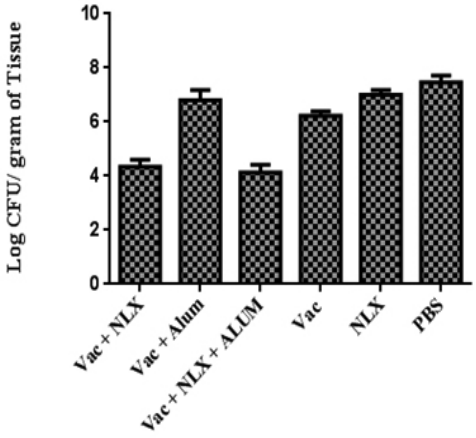
همچنین تزریق واکسن به همراه ادجوانت آلوم/ نالوکسان نسبت گروه دریافت کننده واکسن/ نالوکسان نیز در میزان تولید آنتی‌بادی توتال افزایش معنی‌داری را نشان داده است(p=۰/۰۲۴).



نمودار ۱. نتایج اندازه‌گیری IgG توتال در بین گروه‌های مختلف مطالعه. میزان تولید آنتی‌بادی IgG توتال در گروهی که با باکتری کشته شده استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین فرموله شده در مخلوط ادجوانتی آلوم و نالوکسان ایمونیزه شده‌اند بالاتر از سایر گروه‌های مورد مطالعه می‌باشد(p<۰/۰۵). داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار (SD) نمایش داده شده‌اند.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان بار باکتری از عفونت تجربی موش‌ها با سویه MRSA

نتایج بررسی بار میکروبی در گروه‌های تجربی نشان می‌دهد که متوسط میزان بار باکتری در کلیه در گروهی که واکسن استافیلوکوکی مورد نظر را در ترکیب با مجموع ادجوانت‌های آلوم/ نالوکسان دریافت کرده بودند نسبت به سایر گروه‌ها کاهش معنی‌داری در بار میکروبی در کلیه نشان داده است(p=۰/۰۰۱). اما بین گروه دریافت کننده واکسن با آلوم/نالوکسان و گروه واکسن/نالوکسان تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است(p<۰/۰۵)(نمودار ۲).



نمودار ۲. مقایسه میزان بار باکتریایی کلیه موش‌های درگیر با سویه MRSA. داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار (SD) نمایش داده شده اند.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مخلوط آلوم-نالوکسان به همراه واکسن موجب افزایش کارائی واکسن شده است که به صورت افزایش سطح تولید IgGتوتال و ایزوتیپ‌های IgG1 و IgG2a و هم‌چنین کاهش بار باکتری در کلیه حیوانات ایمن شده مشهود بود. هم‌چنین یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که آلوم-نالوکسان نسبت به آلوم تنها به عنوان ادجوانت کارائی بالاتری در القائ پاسخ‌های هومورال و مهار گسترش باکتری در شرایط درون تنی از خود نشان می‌دهد.

مطالعات گذشته نشان می‌دهد که مخلوط نالوکسان-آلوم موجب تقویت ایمنی هومورال می‌شود(۱۳) که این یافته علمی با نتایج مطالعه حاضر همسو می‌باشد. مکانیسم احتمالی اثر ترکیب ادجوانتی آلوم-نالوکسان در بهبود پاسخ‌های هومورال احتمالا اثر دو طرفه هر یک از ادجوانت‌های آلوم و نالوکسان باشد و بررسی‌های بیشتر در این زمینه می‌تواند راهگشا باشد(۱۴، ۱۵).

این نتایج با نتایجی که در سال ۲۰۱۰ در بررسی اثر ادجوانتی مخلوط نالوکسان-آلوم در ترکیب با واکسن کشته شده سالمونلا تیفی موریوم در تحریک سیستم ایمنی، افزایش تولید سطح سرمی IgG توتال، با کاهش بار باکتریایی در کبد و طحال مطابقت داشت(۱۲).

هم‌چنین مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۳ مشخص نمود مخلوط نالوکسان-آلوم در ترکیب با واکسن کشته شده بروسلا ملی تنسیس منجر به افزایش سطح سرمی IgG توتال و کاهش بار باکتریایی در طحال می‌گردد(۱۶).

تقویت پاسخ‌های ایمنی با استفاده از مخلوط نالوکسان-آلوم در تحریک ایمنی هومورال(۱۲، ۱۷، ۱۸) و مهار پاتوژن‌های خارج سلولی بسیار حائز اهمیت است. با در نظر گرفتن این که باکتری MRSA یک پاتوژن خارج سلولی می‌باشد بنابراین پاسخ ایمنی هومورال در مهار آن از کارائی بالائی برخوردار است. همان گونه که نتایج مطالعه حاضر نشان داده است استفاده از مخلوط آلوم-نالوکسان به عنوان ادجوانت موجب القا بهتر پاسخ‌های ایمنی هومورال شده و کاهش بار باکتریایی در موش‌های ایمن شده با استفاده از مخلوط نالوکسان-آلوم می‌تواند به دلیل القاء بهتر پاسخ‌های ایمنی هومورال و به دنبال آن حذف موثرتر باکتری‌ها با مکانیسم‌های وابسته به آنتی بادی باشد(۱۳).

با توجه به کاهش بار میکروبی در گروه دریافت کننده واکسن با استفاده از مخلوط نالوکسان-آلوم در مقایسه با گروه واکسن-آلوم به نظر می‌رسد تقویت پاسخ‌های ایمنی در گروه مخلوط نالوکسان-آلوم به عنوان ادجوانت موجب کاهش بار باکتریایی شده و این بدان معنی است که مخلوط نالوکسان-آلوم به عنوان ادجوانت نسبت به آلوم که ادجوانت متداول در انسان می‌باشد کارائی واکسن در القاء پاسخ‌های ایمنی را بهبود بخشیده است.

استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یک پاتوژن اصلی در عفونت‌های انسانی، مکانیسم‌های متعددی برای فرار از دسترس سیستم ایمنی دارد(۱). با ظهور سویه‌های جدید مقاوم به آنتی‌بیوتیک، درمان‌های رایج آنتی‌بیوتیکی با شکست مواجه شده‌اند و به نظر می‌رسد واکسن بتواند بیماری را مهار نماید(۱۹). کارائی واکسن‌ها تا به حد زیادی به ادجوانت مناسب بستگی دارد(۲۰). داروی نالوکسان به عنوان یک داروی ترک اعتیاد که هیچ سمیتی در مورد آن مشاهده نشده است، مورد تایید سازمان بهداشت جهانی و FDA قرار دارد(۲۱). اولین بار در سال ۲۰۰۷ با مشاهده اثر این دارو در افزایش سطح سایتوکاین IFN-γ و پاسخ‌های ایمنی سلولی در مطالعه‌ای بر روی عفونت HSV-I احتمال داده شد که داروی نالوکسان دارای اثر ادجوانتی باشد(۲۲). مطالعات بعدی در سال‌های ۲۰۰۹ و ۲۰۱۰ بر اثر این ادجوانتی این دارو در تقویت سطح پاسخ‌های ایمنی سلولی از طریق سوق دادن پاسخ‌های ایمنی به سمت پاسخ‌های Th1، افزایش سطح سایتوکاین IFN-γ و بهبود پاسخ‌های تکثیری لنفوسیت‌ها و نیز پاسخ‌های سیتوتوکسیک صحه گذاشت(۲۳). به نظر می‌رسد مکانیسم عمل این دارو به عنوان ادجوانت به دلیل ایجاد محیط التهابی است(۱۴). از سوی دیگر شواهدی وجود دارد که داروی نالوکسان مانع از عمل تنظیمی سلول‌های T تنظیمی بر روی سلول‌های عرضه کننده آنتی ژن می‌گردد(۲۴). با توجه به این که تاکنون به دلیل توانایی استافیلوکوک اورئوس در ایجاد مقاومت، استفاده از آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت‌های این پاتوژن چندان موفق نبوده است، پژوهش حاضر با رویکرد بهبود کارائی واکسن علیه این پاتوژن با به کارگیری مخلوط نالوکسان-آلوم به عنوان ادجوانت انجام پذیرفت.

نتیجه گیری

مخلوط نالوکسان-آلوم نسبت به آلوم که ادجوانت متداول در انسان می‌باشد کارائی واکسن را در القاء پاسخ‌های ایمنی بهبود می‌بخشد و با تقویت ایمنی هومورال منجر به سطح بالایی از حفاظت در برابر عفونت استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از سرکار خانم نرجس برجسته که ما را در انجام این پژوهش یاری کردند صمیمانه کمال تشکر و قدر دانی را داریم.

منابع

1. Otto M. Novel targeted immunotherapy approaches for staphylococcal infection. Expert opinion on biological therapy. 2010;10(7):1049-59.

2. Proctor RA. Is there a future for a Staphylococcus aureus vaccine? Vaccine. 2012; 30(19):2921-7.
3. De Sousa MA, Crisostomo M, Sanches IS, 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 China. Journal of clinical microbiology. 2003;41(1):159-63.
4. Tiemersma EW, Bronzwaer SL, Lyytikäinen O, Degener JE, Schrijnemakers P, Bruinsma N, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Europe, 1999–2002. 2004;10(9):1627-34.
5. Khorvash F, Mostafavizadeh K, Mobasherizadeh S. Frequency of mecA gene and borderline oxacillin resistant Staphylococcus aureus in nosocomial acquired methicillin resistance Staphylococcus aureus infections. Pakistan journal of biological sciences: PJBS. 2008;11(9):1282-5.
6. Vaez H, Ghazi Saeidi Kioumars MA, Tabaraei A, Khodabakhshi B, Bazouri M, Golriz N, et al. Antibiotic Resistance Pattern of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus isolated from Health-Educational Centers of Gorgan, Iran, 2008-2009. Iran J Med Micro. 2010; 3(4):31-6.
7. Harandi AM, Medaglini D, Shattock RJ. Vaccine adjuvants: a priority for vaccine research. Vaccine. 2010;28(12):2363-6.
8. San Secondo D. Endogenous opioids modulate allograft rejection time in mice: possible relation with Th1/Th2 cytokines. Clinical & Experimental Immunology. 1998; 113(3): 465-9.
9. Sacerdote P, Gaspani L, Panerai AE. The opioid antagonist naloxone induces a shift from type 2 to type 1 cytokine pattern in normal and skin-grafted mice. Annals of the New York Academy of Sciences. 2000;917(1):755-63.
10. Mazloomi E, Jazani NH, Shahabi S. A novel adjuvant, mixture of alum and the beta-adrenergic receptor antagonist propranolol, elicits both humoral and cellular immune responses for heat-killed Salmonella typhimurium vaccine. Vaccine. 2012; 30(16): 2640-6.
11. Karaji AG, Hamzavi Y. The opioid antagonist naloxone inhibits Leishmania major infection in BALB/c mice. Experimental parasitology. 2012;130(1):73-7.
12. Jazani NH, Sohrabpour M, Mazloomi E, Shahabi S. A novel adjuvant, a mixture of alum and the general opioid antagonist naloxone, elicits both humoral and cellular immune responses for heat-killed Salmonella typhimurium vaccine. FEMS Immunology & Medical Microbiology. 2011;61(1):54-62.
13. Jazani NH, Parsania S, Sohrabpour M, Mazloomi E, Karimzad M, Shahabi S. Naloxone and alum synergistically augment adjuvant activities of each other in a mouse vaccine model of Salmonella typhimurium infection. Immunobiology. 2011;216(6):744-51.
14. De Gregorio E, Tritto E, Rappuoli R. Alum adjuvanticity: unraveling a century old mystery. European journal of immunology. 2008; 38(8): 2068-71.
15. Wilson-Welder JH, Torres MP, Kipper MJ, Mallapragada SK, Wannemuehler MJ, Narasimhan B. Vaccine adjuvants: current challenges and future approaches. Journal of pharmaceutical sciences. 2009;98(4):1278-316.
16. Motaharinia Y, Rezaee MA, Rashidi A, Jalili A, Rezaie MJ, Shapouri R, et al. Induction of protective immunity against brucellosis in mice by vaccination with a combination of naloxone, alum, and heat-killed Brucella melitensis16 M. Journal of Microbiology, Immunology and Infection. 2013; 46(4):253-8.
17. Casadevall A. Antibody-mediated immunity against intracellular pathogens: two-dimensional thinking comes full circle. Infection and Immunity. 2003; 71(8):4225-8.
18. Casadevall A, Pirofski La. A Reappraisal of Humoral Immunity Based on Mechanisms of Antibody-Mediated Protection Against Intracellular Pathogens. Advances in immunology. 2006; 91: 1-44.
19. Spaulding AR, Salgado-Pabón W, Merriman JA, Stach CS, Ji Y, Gillman AN, et al. Vaccination against Staphylococcus aureus pneumonia. Journal of Infectious Diseases. 2014;209(12):1955-62.
20. Schijns VE, Lavelle EC. Trends in vaccine adjuvants. Expert review of vaccines. 2011; 10(4): 539-50.
21. Jamali A, Mahdavi M, Hassan ZM, Sabahi F, Farsani MJ, Bamdad T, et al. A novel

adjuvant, the general opioid antagonist naloxone, elicits a robust cellular immune response for a DNA vaccine. International immunology. 2009;21(3):217-25.
22. Jamali A, Mahdavi M, Shahabi S, Hassan ZM, Sabahi F, Javan M, et al. Naloxone, an opioid receptor antagonist, enhances induction of protective immunity against HSV-1 infection in BALB/c mice. Microbial pathogenesis. 2007; 43(5): 217-23.
23. Jazani NH, Karimzad M, Mazloomi E, Sohrabpour M, Hassan ZM, Ghasemnejad H, et al. Evaluation of the adjuvant activity of naloxone, an opioid receptor antagonist, in combination with heat-killed Listeria monocytogenes vaccine. Microbes and Infection. 2010;12(5):382-8.
24. Mahdavi M, Ebtekar M, Mahboudi F, Khorram Khorshid H, Rahbarizadeh F, Azadmanesh K. Immunogenicity of a new HIV-1 DNA construct in a BALB/c mouse model. Iran J Immunol. 2009;6(4):163-73.