مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۱، شماره۶، شهریور۱۳۹۵(شماره پی در پی۱۱۳)

فراوانی نسبی ژن کد کننده عامل پنتون والنتین لکوسیدین در استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از خون و زخم در شهر زاهدان

حامد طهماسبی*، محمد بکائیان

گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۵/۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۶/۸

مقدمه

زمینه و هدف: پنتون- والنتین لکوسیدین یک توکسین از خانواده گاما توکسین در *استافیلوکوک اورئوس* محسوب می‌شود. ممکن است یک ارتباط بین *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین و پنتون - والنتین لکوسیدین، که یک سیتوتوکسین مهم خصوصاً در عفونت‌های شدید است، وجود داشته باشد. هدف از این مطالعه، جداسازی و شناسایی ژن عامل لکوسیدین پنتون- والنتین از ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین با استفاده از تکنیک PCR از نمونه‌های خون بود.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی- مقطعی، ۸۹ ایزوله *استافیلوکوک اورئوس* از نمونه‌های خون و زخم طی ۶ ماه از بیمارستان علی‌ابن‌ابی‌طالب زاهدان جمع‌آوری شد. در ابتدا نمونه‌های مورد مطالعه به وسیله تست‌های مختلف بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند و بر اساس استانداردهای تشخیصی ایزوله‌های *استافیلوکوک اورئوس* جداسازی شدند. جهت تأیید ایزوله‌های به دست آمده از ژن 16srRNA استفاده شد. حساسیت ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها بر اساس دستورالعمل موسسه استاندارد آزمایشگاهی بالینی بررسی شد. سپس با استفاده از روش سفوکسیتین(۳۰میکروگرم) دیسک دیفیوژن نمونه‌های مقاوم به متی‌سیلین غربالگری شد و سپس ژن‌های*PVL* و *mecA* به وسیله آزمایش PCR مورد شناسایی قرار گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون اماری مجذورکای تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: از مجموع ۸۹ ایزوله *استافیلوکوک اورئوس*۲۶ ایزوله از زخم و ۶۳ ایزوله از خون جداسازی شد. بیشترین نمونه‌های به دست آمده از بیماران زن به دست آمد. با توجه به نتایج آزمایش‌های مولکولی،۴۷ ایزوله(۵۲/۸۲ درصد) دارای ژن *mecA* و مقاوم به متی‌سیلین و ۴۲ ایزوله(۴۷/۲) حساس به متی‌سیلین بودند. هم‌چنین، ۱۶ ایزوله به عنوان حامل ژن *PVL* شناسایی شد که از این میان ۱۳ ایزوله مقاوم به متی سیلین و ۳ ایزوله حساس به متی سیلین بودند. مقاومت به ونکومایسین در هیچ یک از ایزوله‌ها مشاهده نشد. بیشترین مقاومت نسبت به اریترومایسین و پنی‌سیلین در بین ایزوله‌ها مشاهده شد. سویه‌های دارای مقاومت چندگانه دارای بیشترین فراوانی از نظر ژن *PVL* بودند. هم‌چنین ارتباط معنی داری بین مقاومت و حضور ژن پنتون والنتین مشاهده شد($p = ۰/۰۰۴۳$).

نتیجه‌گیری: با توجه به فراوانی ژن‌های *mecA* و*PVL* در سویه‌های مقاوم و حساس استافیلوکوک اورئوس و پراکنش بالای ژن عامل پنتون والنتین در سویه‌های مقاوم، بر اساس آنالیزهای آماری، می‌توان نتیجه گرفت که ممکن است بین این دو ژن ارتباطی وجود داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: پنتون- والنتین لکوسیدین، استافیلوکوک اورئوس، مقاومت آنتی بیوتیکی

***نویسنده مسئول: حامد طهماسبی**، زاهدان، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی

Email: h.tahmasebi87@yahoo.com

مقدمه

لکوسیدین پنتون والنتین(PVL)[1] یکی از فاکتورهای بیماری‌زا در باکتری استافیلوکوک اورئوس می‌باشد(۱). پانتون و والنتین توکسین پنتون والنتین را در سال ۱۹۳۲ در سویه های استافیلوکوک اورئوس V_8 شناسایی کردند. این توکسین از یک بیمار مبتلا به فورونکوزیس جدا شده بود(۳ و۲). پنتون والنتین یک لکوسیدین و توکسین گاما در استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد که شامل اجزای مختلفی از جمله دو جزء پروتئینی S (38KDa) و F (32KDa) است که به وسیله ژن‌های *Luks.PV* و *Lukf.PV* کنترل و بیان می‌شود(۴).PLV علیه غشای خارجی سلول‌های مورفونوکلئور، مونوسیت‌ها و ماکروفاژهای انسانی وارد عمل شده و متناسب با غلظت توکسین، باعث باز شدن کانال‌های کلسیم، نکروز و هم‌چنین آپوپتوزیس لکوسیت‌های انسانی می‌گردد(۵). سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوسی که از نظر حضورPVL مثبت هستند، به مراتب از شدت بیشتری در امر بیماری‌زایی برخوردار هستند، به طوری که این توکسین با ایجاد مقاومت در مقابل فاگوسیتوز قدرت تهاجمی استافیلوکوک را افزایش می‌دهد(۶). پنتون- والنتین لکوسیدین در برخی موارد با ضایعات پوستی و آبسه‌های پوستی و عفونت‌های نکروتیک شدید همراه می‌باشند(۷). این توکسین علیه گلبول‌های سفید پلیمورفونوکلئر و ماکروفاژها عمل میکند و باعث افزایش قدرت نفوذپذیری غشاء سلولی و در نتیجه سبب لیز شدن لکوسیت‌ها و نکروز بافت می‌شود(۸). همه این موارد باعث می‌شود که این توکسین در خون بیشترین مقدار آسیب و تخریب لکوسیتی را ایجاد کند در باکتریمی‌هایی با منشا استافیلوکوک‌های اورئوس حامل این توکسین، شاهد ضایعات بیشتری خواهیم بود(۹). عدم فاگوسیت شدن استافیلوکوک‌های دارای PVL شانس زنده ماندن آنها در برابر سیستم ایمنی را افزایش داده و شرایط مناسبی را برای مقاومت باکتری در مقابل درمان به وجود می‌آورد(۱۰). سویه‌های *استافیلوکوک اورئوس* مقاوم به متی سیلین(MRSA)[2] یکی از مهم ترین سویه‌های متعلق به این گونه می‌باشد که به آنتی‌بیوتیک‌های متعددی از کلاس‌های بتالاکتامی و سفالوسپورینی مقاومت پیدا کرده‌اند. در برخی موارد، حضور ژن‌های عامل مقاومت، مانند *mecA* که مقاومت به متی‌سیلین را کد می‌کند، ممکن است با ژن‌های عامل توکسین در سویه‌های مقاوم همراه شوند(۱۱). در دهه ۱۹۸۰ مقاومت به متی‌سیلین شایع شد و به سرعت رو به افزایش نهاد، به‌طوری‌که در این سال‌ها MRSA به‌عنوان یکی از مشکلات مهم بالینی و اپیدمیولوژیک در بیمارستان‌ها درآمد(۱۲). طبق آماری که سازمان پیشگیری و کنترل بیماری‌های عفونی (CDC)[3] در سال ۲۰۰۴ منتشر نمود ۵۹/۵ درصد از مراکز بهداشتی درمانی ایالات متحده حداقل یک‌بار، موردی از MRSA را گزارش کرده‌اند(۱۳) . حضور ژن *mecA* منجر به

1- Valentine(PLV) Leucocidin Panton
2- methicillin-resistant Staphylococcus aureus
3- Centers for Disease Control and Prevention

بروز *استافیلوکوک اورئوس*های مقاوم به متی‌سیلین می‌شود(۱۴). ژن *mecA* بر روی یک المنت ژنتیکی سیار قرار دارد که به آن کاست کروموزومی *mec* استافیلوکوکی می‌گویند(۱۵). ژن *mecA* باعث بیان شدن پروتئین PBP2a در باکتری شده و مانع اتصال آنتی‌بیوتیک به باکتری شده و در نتیجه اثر آن را خنثی می‌کند(۱۷ و۱۶). این ویژگی خاص کاست ژنی ممکن است زمینه انتقال برخی ژن‌ها همراه با ژن *mecA* را ایجاد کند.(۱۸). حضور برخی ژن‌های عامل توکسین‌ها در کنار ژن‌های عامل مقاومت مانند *mecA* در برخی سویه‌های مقاوم به متی سیلین دیده شده است که احتمال این امر را افزایش می‌دهد(۲۰ و۱۹). به دلیل حضور فعال باکتری *استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سلین* در برخی باکتریمی‌های خطرناک و هم‌چنین احتمال وجود ارتباط این ژن با ژن *PVL*، هدف از این مطالعه شناسایی ژن‌های *mecA* و *PVL* در استافیلوکوکوس ارئوس جدا شده از نمونه‌های کشت خون بود.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی- مقطعی، طی یک دوره ۶ ماهه ۱۸۹ نمونه خون و ۹۳ نمونه از زخم و خون بیماران مشکوک به باکتریمی و عفونت‌های باکتریایی بستری در بخش‌های مختلف و بیماران مراجعه کننده به مراکز درمانی دانشگاه علوم پزشکی شهر زاهدان در سال ۱۳۹۴جمع‌آوری شد. روش نمونه گیری بر اساس روش آسان و دردسترس و غیرتصادفی صورت گرفت و معیار ورود و خروج هم عفونت‌های ایجاد شده در زخم و خون به وسیله باکتری‌ها تعیین شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده خون داخل بطری‌های کشت خون(biomerieux فرانسه) ریخته و بعد از انکوبه‌گذاری ۲۴ساعته در دمای ۳۷درجه سانتی‌گراد، بر روی محیط شکلات آگار(Merck آلمان) کشت داده شد و مجدداً با شرایط فوق گرم‌خانه‌گذاری شد. نمونه‌های زخم هم بعد از کشت بر روی محیط بلادآگار با ۵ درصد خون گوسفندی مورد بررسی کلنی قرار گرفت. کلنی‌های به دست آمده داخل میکروتیوب‌های پلاستیکی درب دار که حاوی محیط ترانسپورت BHI(Merck آلمان) با ۱۰ درصد گلیسرول بود، تلقیح و برای انجام آزمایش‌های تکمیلی و تشخیصی دقیق‌تر به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان منتقل شد و تا زمان انجام آزمایش‌ها، نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

نمونه‌های به دست آمده بر روی محیط Blood Agar (Merck آلمان)پایه که با ۵ درصد خون تازه گوسفندی غنی شده بود، به صورت خطی کشت داده شد و به مدت ۲۴ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد. پس از مشاهده کلنی‌ها، رنگ‌آمیزی گرم انجام و کوکسی‌های گرم مثبت جداسازی شدند. با استفاده از تست‌های بیو شیمیایی استاندارد، شناسایی ایزوله‌های استافیکوکوس ارئوس انجام شد. در نهایت ۱۷۰ ایزوله استافیلوکوک اورئوس بعد از انجام

آزمایش‌های افتراقی از مجموع ۴۷۰ نمونه جمع‌آوری شده به دست آمد.

جهت بررسی استافیلوکوکس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین، بعد از تهیه محلول نیم مک فارلند و کشت بر روی محیط Mueller Hinton agar(Merck آلمان)با ضخامت ۵ میلی‌متر دیسک سفوکسیتین ۳۰ میکروگرم و اوگزاسیلین۱ میکروگرم(هر دو MAST انگلستان) را با یک پنس استریل بر روی محیط قرار داده و به مدت ۲۴ساعت انکوبه شد. بر اساس جدیدترین معیار CLSI در صورتی که قطر هاله ایجاد شده نسبت به دیسک سفوکسیتین بیشتر از ۲۱ میلی‌متر باشد به عنوان استافیلوکوک اورئوس حساس به سفوکسیتین در نظر گرفته شدند و در صورتی که قطر هاله نسبت به دیسک سفوکسیتین کمتر از ۲۱ میلی‌متر باشد، ایزوله استافیلوکوک اورئوس مقاوم به سفوکسیتین و قطر هاله ایجاد شده نسبت به دیسک اوگزاسیلین بیشتر از ۲۱ میلی‌متر باشد به عنوان استافیلوکوک اورئوس حساس به اوگزاسیلین در نظر گرفته شدند(۲۷). در این مطالعه از سویه استافیلوکوک اورئوس ATCC33591 به عنوان سویه استاندارد کنترل مثبت و از سویه استاندارد استافیلوکوک اورئوس ATCC25923 به عنوان کنترل منفی استفاده شد(۲۸).

الگوی تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های بالینی به ۸ آنتی‌بیوتیک بتالاکتام شامل ونکومایسین ۳۰میکروگرم، سفازولین ۳۰میکروگرم، اریترومایسین ۱۵میکروگرم، پنی سیلین ۱۰ واحد، تتراسایکلین ۳۰میکروگرم، سیپروفلوکساسین ۵ میکروگرم، کلیندامایسین ۲میکروگرم، ریفامپین ۵ میکروگرم (همگی Mast انگلستان) با استفاده از روش Kirby-Bauer Disk Diffusion، انجام شد. در این روش، برای به حداقل رساندن آلودگی، دیسک‌ها با فواصل مناسب به وسیله دستگاه Disc Dispenser(Mast انگلستان) روی سطح پلیت قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۵°C، قطر هاله‌های عدم رشد با استفاده از آخرین نسخهCLSI مورد بررسی قرار گرفتند.

به منظور استخراج DNA، ابتدا ایزوله‌های بالینی که به وسیله تست‌های بیوشیمیایی اولیه و رشد و عدم رشد در محیط‌های اختصاصی تأیید شده را روی محیط Blood agar(Merck آلمان) با ۵ درصد خون گوسفند، کشت مجدد داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. سپس یک کلنی از هر ایزوله کشت داده شده به ۵ میلی‌لیتر محیط کشت Loria Bertani Broth (Merck آلمان) که قبلاً درون لوله های درب دار شیشه ایی به تعداد ایزوله ها تقسیم و شماره‌گذاری شده بودند، تلقیح شد و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ ساعت انکوبه گردید. ۱/۵ سی سی از محیط کشت حاوی باکتری را، درون میکروتیوب‌های درب‌دار سپس ۱/۵سی‌سی پلاستیکی(Biofill کره) ریخته شد. در این پژوهش از کیتهای استخراج DNA شرکت سینا ژن ایران استفاده شد و طبق پروتوکل ارایه شده به وسیله شرکت سازنده، سایر مراحل انجام گرفت. محصولات به دست آمده DNA بعد از کنترل کیفی به وسیله

الکتروفورز ژل آگارز۱درصد، در دمای ۲۰- برای انجام کارهای مولکولی ذخیره سازی شد.

پرایمرها از شرکت ژن فناوران(ایران) که به وسیله شرکت دانمارکی TAG Copenhagen ساخته شد، تهیه گردید. در این پژوهش از پرایمرهای بالگوی نوکلئوتیدی Luk-PV-1 (5′-ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA-3′) و Luk-PV-2 (5′-GCATCAAGTGTATTGGATAGCAAAAGC-3′) به طول ۴۳۳ جفت باز برای ژن *PVL* لکوسیدین پنتون-والنتین استفاده شد. هم‌چنین برای تکثیر ژن *mecA* توالی نوکلئوتیدی MecA1(5′-GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA-3′) و MecA2 (5′-CCAATTCCACATTGTTTCGGTCTAA-3′) به طول ۳۱۰ جفت باز مورد استفاده قرار گرفت. برای تأیید ایزوله‌های به دست آمده از نظر مثبت بودن جنس و نوع هم از پرایمرهای Staph756F (5′-AACTCTGTTATTAGGGAAGAACA-3′) و Staph750R (5′-CCACCTTCCTCCGGTTTGTCACC-3′) به طول ۷۵۶ جفت باز برای تکثیر ژن *16S rRNA* بهره گرفته شد.

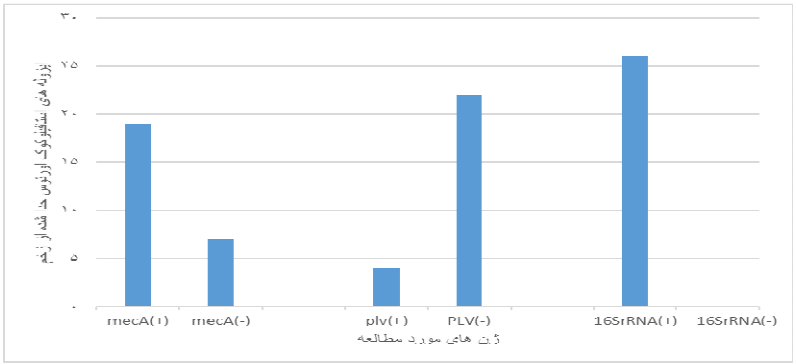
برای انجام واکنش MultiplexPCR ، ۵۰ میکرولیتر از محلول نهایی شامل؛ ۲میکرولیتر از DNA الگو، ۱میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت۱۰پیکومولار و ۲۵ میکرولیتر از مستر میکس(Ampliqonدانمارک) استفاده شد. برای رساندن به حجم نهایی از آب مقطر دیونیزه استفاده شد(۱۴). سپس آزمون PCR برای ژن‌های *lukS/F-PV*، *16S rRNA* و *mecA* با استفاده از دستگاه ترموسایکلر(BioRad آمریکا)، انجام شد. سیکل‌های دمایی مورد استفاده در این آزمون برای ژن‌های فوق به ترتیب واسرشتگی اولیه۹۴ درجه ۱۰ دقیقه، واسرشتگی ثانویه ۹۴ درجه۳۰ ثانیه، اتصال پرایمر ۵۷ درجه سانتی‌گراد ۴۵ ثانیه و طویل‌سازی اولیه در۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۵ ثانیه در ۲۵ سیکل انجام شد. در این مطالعه از روش Multiplex PCR برای بالا بردن سرعت و دقت کار، استفاده شد. در این آزمون از سویه‌های استاندارد استافیلوکوک اورئوس ATCC25923 برای کنترل منفی ژن‌های lukS/F-PV و mecA استفاده شد.

به دلیل استفاده از تکنیک Multiplex و مشاهد بهتر باندها به صورت تفکیک شده و بدون اسمیر از ژل آگارز ۳درصد استفاده شد. برای این کار ۵ میکرولیتر از محصول نهایی PCR در ژل اگارز۳ درصد در بافر۰/۵X به مدت ۴۵ دقیقه الکتروفورز گردید. برای دادن خاصیت فلورسانت به ژل هنگام تهیه ژل به آن ۵ میکرولیتر محلول Gel Red (Biotium آمریکا) اضافه شد. نتیجه نهایی به وسیله دستگاه Gel Documentation system CCD (کیاژن ایران) بررسی و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از مارکر ۱۰۰ bp فرمنتاز (Thermofisher آمریکا) برای تخمین اندازه باندهای مورد نظر استفاده شد.

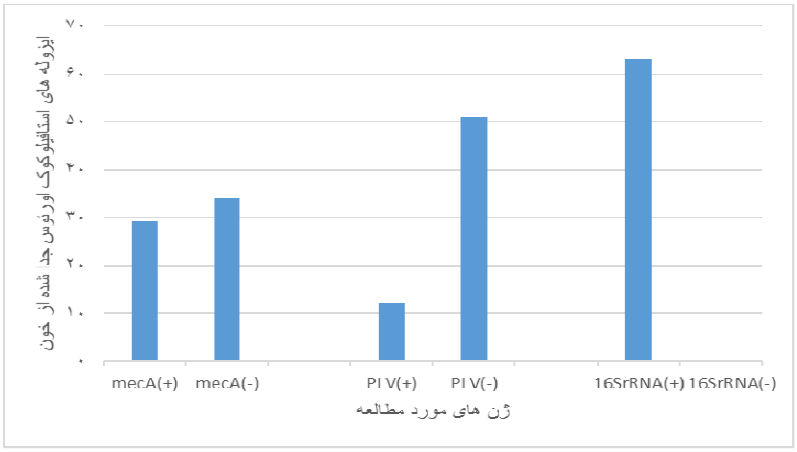
داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری مربع کای تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها

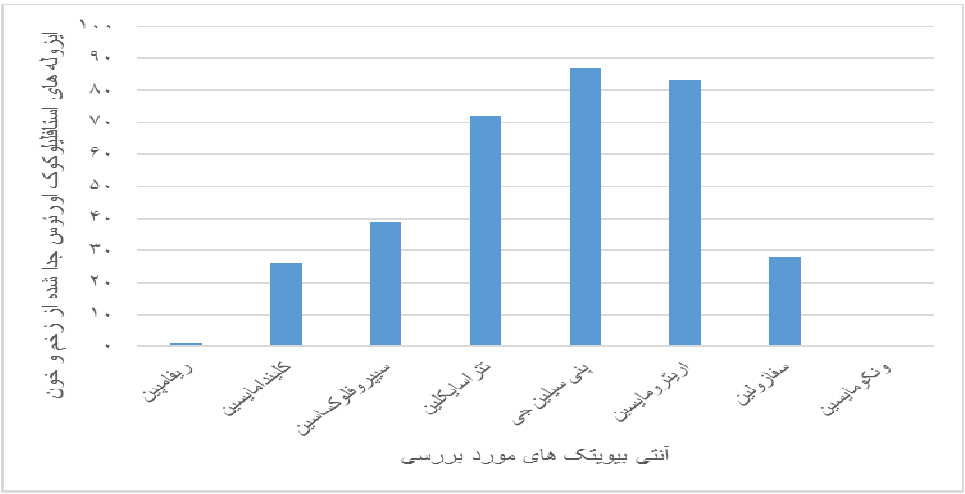
از ۱۸۹ نمونه خون گرفته شده از بیماران مشکوک به باکتریمیو ۹۳ نمونه زخم مشکوک به عفونت‌های استافیلوکوکی، ۸۹ ایزوله استافیلوکوک اورئوس جداسازی شد. بیشترین نمونه‌های زخم گرفته شده از مردان و بیشترین نمونه خون گرفته شده از زنان به دست آمد. از مجموع این ۸۹ ایزوله استافیلوکوک اورئوس، ۶۳ ایزوله از خون و ۲۶ ایزوله از زخم جداسازی شدند جدول۱. در غربالگری اولیه به وسیله روش دیسک دیفیوژن سفوکسیتین (۳۰میکروگرم) نمونه‌ها برای مقاومت به متی‌سیلین مورد بررسی قرار گرفتند. برای تأیید کردن همه ایزوله‌های به دست آمده از نظر جنس و گونه از ژن *16S rRNA* استفاده شد. که از ۸۹ ایزوله شناسایی شده به وسیله تست‌های بیوشیمیایی و محیط کشت‌های اختصاصی، استافیلوکوک اورئوس بودند. (نمودار۱ و ۲). هم‌چنین بعد از انجام آزمایش‌های مولکولی که به صورت Multiplex PCR انجام گرفت، ۴۷ ایزوله دارای ژن *mecA* و ۴۲ ایزوله فاقد این ژن بودند. از نظر حضور ژن *PVL* هم، ۱۶ ایزوله دارای این ژن که ۱۳ ایزوله هر دو ژن *mecA* و *PVL* را با هم داشتند، شکل۱. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به پنی‌سیلین که مقاومتی بیش از ۹۵ درصد مشاهده شد و کم‌ترین مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین بود که هیچ ایزوله بالینی مقاوم به این انتی بیوتیک نبودند، نمودار۳. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به نمونه‌های گرفته شده خون و سپس زخم بود. ایزوله‌هایی که از نظر ژن *mecA* و *PVL* مثبت بودند به تمامی آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به جز ونکومایسین مقاوم بودند، نمودار۳. در بررسی‌های انجام شده تنها ۳ ایزوله *استافیلوکوک اورئوس* حساس به متی سیلین دارای ژن *PVL* بودند. علاوه بر این، از ایزوله‌هایی که فاقد ژن *PVL* بودند، ۱۹ ایزوله دارای ژن *mecA* و ۴۴ ایزوله فاقد ژن *mecA* بودند (نمودار ۲ و ۱). با بررسی آماری مشخص شد که ارتباط معنی‌داری بین ایزوله‌هایی که مقاومت فنوتیپی و ژنوتیپی دارند و ژن *PVL* وجود دارد(جدول۲).



نمودار۱: توزیع فراوانی ژن های 16SrRNA ، mecA و PVL **در ایزوله های *استافیلوکوک اورئوس* جدا شده از زخم**



نمودار۲: توزیع فراوانی ژن های 16SrRNA ، mecA و PVL **در ایزوله های *استافیلوکوک اورئوس* جدا شده از خون**



نمودار۳:توزیع فراوانی حساسیت آنتی بیوتیک های مختلف در ایزوله های *استافیلوکوک اورئوس* جدا شده از زخم و خون

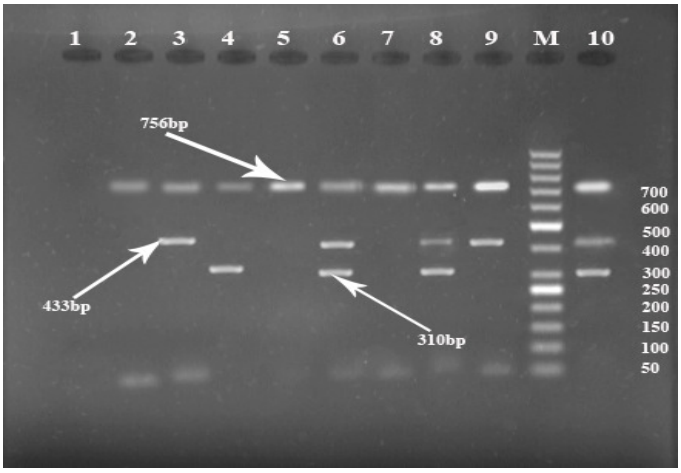
جدول۱: الگوی فراونی ایزوله های *استافیلوکوک اورئوس* بر اساس جنسیت و نمونه جدا شده

جنس بیمار	ایزوله بالینی استافیلوکوک اورئوس تعداد = ۸۹	
	زخم تعداد=۲۶	خون تعداد=۶۳
مرد تعداد(درصد)	۱۷(۶۵/۳۸)	۲۳(۳۶/۵)
زن تعداد(درصد)	۹(۳۴/۶۱)	۴۰(۶۳/۴۹)

جدول۲:. الگوی فراوانی نسبی مقاومت آنتی بیوتیکی و پراکنش ژنتیکی ژنهای *mecA* و *LPV* در ایزوله های بالینی *استافیلوکوک اورئوس*

آنتی بیوتیک	کد آنتی بیوتیک	MRSA*(*mecA*+) (n=۴۲)				MRSS*(*mecA*-) (n=۴۷)				سطح معنی‌داری
		lukS/F-PV (+) (۱۳= تعداد)		*lukS/F-PV* (-) (۲۹= تعداد)		*lukS/F-PV* (+) (۳=تعداد)		*lukS/F-PV* (-) (۴۴=تعداد)		
		حساس (درصد)	مقاوم (درصد)	حساس (درصد)	مقاوم (درصد)	حساس (درصد)	مقاوم (درصد)	حساس (درصد)	مقاوم (درصد)	
ونکومایسین	VA30C	(۱۰۰)۱۳	۰	(۱۰۰)۲۹	۰	(۱۰۰)۳	۰	(۱۰۰)۳۷	۰	۰/۰۲۹
سفازولین	CZ30C	(۳۰/۷۶)۴	(۶۹/۲۳)۹	(۷۱/۴۲)۲۱	(۳۱/۰۳)۹	(۱۰۰)۳	۰	(۸۹/۱۸)۳۳	(۲۷/۰۲)۱۰	۰/۰۰۳۴
اریترومایسین	E15C	(۷/۶)۱	(۹۲/۳)۱۲	(۳/۴)۱	(۹۶/۵۵)۲۸	(۱۰۰)۳	۰	(۹/۰۹)۴	(۹۰/۹)۴۰	۰/۰۰۱
پنی سیلین-جی	PG10C	۰	(۱۰۰)۱۳	۰	(۱۰۰)۲۹	(۱۰۰)۳	۰	(۲/۲)۱	(۹۷/۷۲)۴۳	۰/۰۰۴۵
تتراسایکلین	T30C	(۳۰/۷۶)۴	(۶۹/۲۳)۹	۰	(۱۰۰)۲۹	(۱۰۰)۳	۰	(۲۹/۵۷)۱۳	(۷۰/۴۵)۳۱	۰/۰۰۵۱
سیپروفلوکساسین	CIP5C	(۷/۶)۱	(۹۲/۳)۱۲	(۲۴/۱۳)۷	(۷۵/۸۶)۲۲	(۳۳/۳۳)۱	(۶۶/۶۶)۲	(۶/۸)۳	(۹۳/۸۱)۴۱	۰/۰۰۳۹
کلیندامایسین	CD2C	(۶۱/۵۳)۸	(۵۳/۸۴)۷	(۵۵/۱۷)۱۶	(۴۴/۸۲)۱۳	(۱۰۰)۳	۰	(۸۶/۳۶)۳۸	(۱۳/۶۳)۶	۰/۰۰۲۹
ریفامپین	RP5C	(۹۲/۳)۱۲	(۷/۶)۱	(۱۰۰)۲۹	۰	(۱۰۰)۳	۰	(۱۰۰)۴۴	۰	۰/۰۰۱۹

* MRSA: methicillin-resistant Staphylococcus aureus
* MRSS: methicillin-susceptible Staphylococcus aureus
* lukS/F-PV: Panton-Valentine Leukocidin gen
*mecA: methicillin-resistant Staphylococcus aureus gen



شکل۱: تصویر الکتروفورز محصولات PCR ژن های 16SrRNA، LPV و mecA با اندازه های ۷۵۶، ۴۳۳ و ۳۱۰ جفت باز نمونه های زخم و خون استافیلوکوک اورئوس.

۱: کنترل منفی.۲تا۹: نمونه های مثبت و منفی و از نظر حضور ژن های مورد بررسی. M: مارکر ۵۰جفت بازی. ۱۰ کنترل مثبت.

بحث

استافیلوکوک اوئوس از باکتری‌هایی می‌باشد که توانایی تولید توکسین‌های متنوعی را دارا می‌باشد(۲۱). بیشترین آسیبی که برخی توکسین‌ها بر بدن می‌گذارند زمانی است که سویه‌های تولید کننده توکسین در خون یا زخم‌های سطحی و عمقی ایجاد عفونت می‌کنند. در این زمان علاوه بر دیدن عفونت‌های گسترده و توزیع سریع آن در بدن، شاهد

شوک‌های سپتیک و واکنش‌های سریع از جانب سیستم ایمنی نیز خواهیم بود(۲۲). این توکسین‌ها گاهی علاوه بر این که شدت بیماری‌زا بودن باکتری چندین برابر افزایش می‌دهند، از قدرت عملکردی بالایی به باکتری در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها برخوردار بوده و زمینه ساز ظهور سویه‌های جدید می‌شود(۲۱). بیشتر سویه‌های استافیلوکوک اورئوس، خصوصاً سویه MRSA، یکی از توکسین‌های توکسین اگزفولیاتیو، انتروتوکسین‌های استافیلوکوکی، توکسین۱ سندروم شوک توکسیک و توکسین لوکوسیدین پنتون والنتین را تولید می‌کنند. مطالعه‌های متعدد نشان داده است که در سویه‌های استافیلوکوک اورئوس حساس به متی‌سیلین(MSSA)، هم می‌توان شاهد وجود ژن‌های مولد توکسین بود، اما در سویه‌هایی که دارای مقاومت به متی‌سیلین هستند به نسبت سویه‌های حساس دارای شدت بیماری‌زایی بالا و قدرت تهاجم بیشتری هستند، این امر را می‌توان در برخی توکسین‌های خاص از جمله توکسین لوکوسیدین پنتون والنتین مشاهده کرد(۲۴).

در این مطالعه که بر روی سویه‌های استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین(MRSA) انجام شد، ردیابی ایزوله‌های‌هایی که قادر به تولید توکسین لکوسیدین پنتون- والنتین بودند، با موفقیت به نتیجه رسید. از نتایج به دست آمده در این پژوهش و با توجه به آنالیزهای آماری صورت گرفته، وجود ارتباط بین برخی توکسین‌ها و ژن‌های عامل مقاومت به برخی آنتی‌بیوتیک‌ها مشاهده شد. در برررسی های اولیه بیشترین میزان ایزوله‌های جدا شده از زنان و از نمونه‌های خون بود. هم‌چنین در این بررسی مشاهده شد که بیشترین نمونه‌های به دست آمده از نظر حضور ژن عامل لکوسیدین پنتون- والنتین متعلق نمونه‌های گرفته شده از زخم می‌باشد. از این نظر با نتایج گزارش شده به وسیله ملاعباس‌زاده و همکاران در تبریز و هوایی و همکاران در اصفهان کاملاً هم‌خوانی داشت. این امر ممکن است به دلیل ویژگی ذاتی این توکسین باشد که در بخش‌هایی که حضور برخی گلبول‌های سفید مانند نوتروفیل‌ها افزایش پیدا می‌کند، می‌تواند حضور فعال‌تری داشته باشد و با لیز این سلول‌های تدافعی بدن از مرگ باکتری جلوگیری کند. با حضور فعال نوتروفیل در زخم و روند آبشاری التهاب این سلول‌ها می‌توان نتایج مطالعه‌های اخیر را توجیه کرد. بیشترین ایزوله‌های دارای ژن عامل مقاومت به متی‌سیلین هم از نمونه‌های زخم جداسازی شد که از این نظر با مطالعات ملاعباس زاده و همکاران در تبریز و هوایی و همکاران در اصفهان هم‌خوانی ندارد(۲۸ و۲۷). این موضوع را می‌توان به تفاوت سویه‌های جداسازی شده بر اساس تغییر الگوی جغرافیایی نسبت داد. چون در برخی مواقع با تغییر شرایط جغرافیایی مناطق مختلف و ظهور برخی جهش‌های مخرب و مفید برای حفظ بقای باکتری، ویژگی‌های باکتری را دستخوش تغییر قرار می‌دهد. در تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به طیف مختلفی از آنتی‌بیوتیک‌ها، هیچ گونه مقاومتی در برابر ونکومایسین مشاهده نشد که از این نظر با مطالعه

علیـزاده و همکـاران و امینـی و همکـاران هـر دو در رفسنجان مطابقت نداشت(۳۰ و۲۹). از لحـاظ مقاومـت به سایر آنتـی‌بیوتیـک‌هـا از ۸۹ ایزولـه مـورد مطالعـه ۲۸(۳۱/۴۶ درصد) ایزوله به سفازولین، ۸۳ ایزولـه بـه اریترومایسین(۹۱/۰۱ درصد)، ۸۷ ایزوله به پنی‌سیلین (۹۷/۷۵ درصد)، ۷۲ ایزولـه بـه اریترومایسـین(۸۰/۸۹ درصـد)، ۳۹ ایزولـه بـه سیپروفلوکساسـین(۴۳/۸۲ درصد)، ۲۶ ایزوله به کلیندامایسـین(۲۹/۲۱ درصـد) و یـک ایزولـه(۱/۱ درصـد) هـم بـه ریفـامپین مقاومـت داشـتند. هـم‌چنـین بیشـترین مقاومـت آنتـی‌بیـوتیکی مربوط به پنـی‌سـیلین بـود کـه بـیش از ۹۰ درصـد از ایزوله‌هـای جدا شـده بـه ایـن آنتـی‌بیوتیـک مقاومـت داشتند. اریترومایسین و تتراسایکلین آنتی‌بیوتیک‌هایی بودند که بعد از پنی سیلین بیشترین مقاومت را نسبت بـه درمـان از خـود نشـان دادنـد. ایـن مـوارد بـا مشاهده‌های بازی و همکاران که در عربستان سعودی انجـام شـده اسـت، هـم‌خـوانی دارد(۳۱). در مطالعـه حاضر از بین ۸۹ ایزوله بـه دسـت آمـده و شناسـایی شـــده بـــه عنـــوان اســـتافیلوکوک اورئـــوس، ۴۷ ایزولـه(۵۲//۸ درصـد) از ایزولـه‌هـا دارای ژن *mecA* بودنـد. هـم‌چنـین از نظـر حضـور ژن *LukSF/PV* در مجموع ۱۶ ایزوله(۱۷/۹۷ درصد) مثبت گزارش شـدند که از این بـین ۱۳ ایزولـه دارای ژن *mecA* و ۳ ایزولـه فاقد ژن *mecA* بودند. در مقایسه نتایج به دسـت آمـده در این مطالعه با مطالعه‌هـای انجـام شـده در داخـل و خارج کشور می‌توان با نتایج هم‌خـوان و نـاهم‌خـوانی مواجه شد. در بررسی انجام شده به وسـیله کوپـان و همکـــاران در لاتویـا بـیش از نیمـی از ایزولـــه‌هـــای اســـتافیلوکوکوس اورئـــوس ، واجـــــد ژن *PVL* بودنـــد و بیش از ۱۰درصد از آنها MSSA بودنـد که از این نظر با نتایج به دسـت آمـده در مطالعـه حاضـر هـم‌خـوانی دارد(۳۲). بـراوون و همکـاران در آمریکـا نشان دادند که بیش از ۷ درصد از نمونه های سـویه اســتافیلوکوکوس اورئـــوس مـــورد بررســـی دارای *LukSF/PV* اسـت کـه از ایـن نظـر بـا پـژوهش حاضـر مطابقت دارد(۳۳).

در این مطالعه بـا بررسـی‌هـای انجـام شـده و تجزیه و تحلیل‌هـای آمـاری، ارتبـاط معنـی‌داری بـین مقاومت‌های آنتی‌بیـوتیکی و حضـور ژن عامـل تولیـد پنتون والنتین دیده شد، بـه طـوری کـه بـا اسـتناد بـه برخی آزمون‌های آماری، در سـویه‌هـایی کـه از نظـر الگـوی فنـوتیپی بـه چنـدین آنتـی‌بیوتیـک مقـاوم بودنـد(MDR)، از نظـر حضـور ژن *PVL* دارای فراوانـی بیشتری بودنـد. ایـن امـر در سـویه‌هـایی کـه از نظـر حضور ژن *mecA* مثبت بودنـد نیـز مشـاهد شـد. ایـن احتمال می‌رود که سویه های MDR اسـتافیلوکوک کـه عـلاوه بـر پنـی‌سـیلین و متـی‌سـیلین بـه برخـی سفالوسپورین‌ها هم مقاوم شده‌اند، المنت‌هـای ژنـی را به وسیله کاست ژنی MCCmec منتقل کنند که علاوه بـر ایجاد مقاومت، می‌تواند ژن‌های عامل توکسـین را نیـز بین سویه‌های حساس منتقل کند. به این ترتیـب وقتـی سویه‌های حساس ژن‌های مقاومت را دریافت می‌کنند، زمینه برای دریافت ژن‌های تولید توکسـین هـم آمـاده می‌شود و در کنار مقاومت آنتی‌بیـوتیکی، زمینـه‌سـاز

بروز بیماری‌های پوستی شدیدی هم می‌شوند(۲۶ـ۲۴). در مطالعه خسروی و همکاران شیوع ژن PVL در ایزوله‌های MRSA برابر با ۲/۷ درصد و در ایزوله‌های MSSA برابر با ۳/۳۳ درصد گزارش شد که با نتایج به دست آمده در این مطالعه مطابقت نداشت(۳۴). به طور کلی تفاوت نتایج به دست آمده در این بررسی می‌تواند به دلیل وجود اختلاف منطقه جغرافیایی و هم‌چنین تغییر سویه‌ها و حتی زیر سویه‌ها در مناطق مختلف، باشد.

نتیجه‌گیری

این مطالعه که با هدف قرار دادن سویه‌های MRSA و ردیابی هم‌زمان ژن‌های *mecA* و *PVL* انجام شد، نشان از فراوانی ژن عامل توکسین لکوسیدین پنتون- والنتین در ایزوله‌های جدا شده از نمونه‌های بالینی را داشت. البته به دلیل مقطعی بودن این مطالعه و عدم دسترسی به جامعه آماری گسترده و محدودیت‌های رخ داده در امر نمونه‌گیری، نمی‌توان نتایج حاصل از این بررسی را قانع کننده دانست و نیاز به مطالعه‌های بیشتر در بازه‌های زمانی بلندمدت، حس می‌شود. با از بین بردن این محدودیت‌ها علاوه بر این که می‌توان این ارتباط را در سویه‌های مقاوم با قطعیت بالاتری اثبات کرد، با شناسایی این سویه‌ها راه کارهای درمانی بهتر و سریع‌تری را در برابر باکتری‌های مقاوم می‌توان اتخاذ کرد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل قسمتی از طرح تحقیقاتی مصوب معاونت محترم تحقیقات و فناوری بوده و از محل بودجه طرح‌های تحقیقاتی این معاونت تأمین اعتبار شده است. نویسندگان این مقاله از مسئولین محترم آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان و هم‌چنین از کارشناسان بخش میکروب‌شناسی بیمارستان علی‌ابن‌ابی‌طالب زاهدان به دلیل همکاری آنان، کمال تشکر را دارند.

RFERENCES

1.Dash N, Panigrahi D, Al Zarouni M, Yassin F, Al-Shamsi M. Incidence of community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus carrying Pantone-Valentine leucocidin gene at a referral hospital in United Arab Emirates. APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, Etimmunologica Scandinavica 2014; 122(4): 341-6.
2.Turner CE, Sriskandan S. Panton-Valentine leucocidin expression by Staphylococcus aureus exposed to common antibiotics. The Journal of Infection 2015; 71(3): 338-46.
3.Shrestha B, Singh W, Raj VS, Pokhrel BM, Mohapatra TM. High prevalence of Panton-Valentine leukocidin (PVL) genes in nosocomial-acquired Staphylococcus aureus isolated from tertiary care hospitals in Nepal. BioMed Research International 2014; 20(14): 350-790.
4.Day NP. Panton-Valentine leucocidin and staphylococcal disease. The Lancet Infectious diseases 2013; 13(1): 5-6.
5.Hu Q, Cheng H, Yuan W, Zeng F, Shang W, Tang D, et al. Panton-Valentine leukocidin (PVL)-positive health care-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates are associated with skin and soft tissue infections and colonized mainly by infective PVL-encoding bacteriophages. J Clin Microbiol 2015; 53(1): 67-72.
6.Vandroux D, Brulliard C, Hoarau N, Allou N, Allou-Coolen N, Antok E, et al. Panton-Valentine leukocidin-positive methicillin susceptible Staphylococcus aureus necrotizing pneumonia at Reunion Island. Med Mal Infect 2015; 45(7): 297-300.
7.Cakir Aktas N, Erturan Z, Karatuna O, Karahasan Yagci A. Panton-Valentine leukocidin and biofilm production of Staphylococcus aureus isolated from respiratory tract. Journal of Infection in Developing Countries 2013; 7(11): 888-91.
8.Sheikh HQ, Aqil A, Kirby A, Hossain FS. Panton-Valentine leukocidin osteomyelitis in children: a growing threat. Br J Hosp Med(Lond) 2015; 76(1): 18-24.
9.Mesrati I, Saidani M, Ennigrou S, Zouari B, Ben Redjeb S. Clinical isolates of pantone-valentine leucocidin- and gamma-haemolysin-producing staphylococcus aureus: prevalence and association with clinical infections. The Journal of Hospital Infection 2010; 75(4): 265-8.
10.Otto M. Panton-Valentine leukocidin antibodies for the treatment of MRSA skin infections?. Expert Rev Anti Infect Ther 2011; 9(4): 389-92.
11.Ozekinci T, Dal T, Yanik K, Ozcan N, Can S, Tekin A, et al. Panton-Valentine leukocidin in community and hospital-acquired strains. Biotechnol Biotechnol Equip 2014; 28(6): 1089-94.
12.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. JundishapurJournal of Microbiology 2015; 8(11): 11341.
13. Havaei SA, Ahmadpour M, Poursina F, Ruzbahani M, Assadbeigi B. The prevalence of panton-valentine leukocidin gene in staphylococcus aureus isolated from alzahra hospital Isfahan, Iran. J Isfahan Med Sch 2015; 32(31) :219-29.
14.Seyedmonir E, Yilmaz F, Icgen B. MecA gene dissemination among staphylococcal and non-staphylococcal isolates shed in surface waters. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 2015; 95(1): 131-8.
15.Nastase E, Dorneanu O, Vremera T, Logigan C, Miftode E, Dorobat CM. MecA and pvl genes detection in Staphylococcus aureus strains isolated from lower respiratory tract infections. Revista Medico-Chirurgicala a Societatii de Medici si Naturalisti Din Lasi 2010; 114(4): 1162-8.
16.Kitao T, Ishimaru M, Nishihara S. Detection of biofilm-producing and methicillin resistance genes in Staphylococcus epidermidis isolated from healthy humans and in blood culture tests. Journal of Infection and Chemotherapy 2010; 16(3): 170-3.
17.Martins A, Riboli DFM, Camargo CH, Pereira VC, de Almeida Sampaio R, de Souza da Cunha MdLR. Antimicrobial resistance and persistence of Staphylococcus epidermidis clones in a Brazilian university hospital. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2013; 77(2): 164-8.
18.Argudín MA, Vanderhaeghen W, Butaye P. Antimicrobial resistance and population structure of Staphylococcus epidermidis recovered from pig farms in Belgium. The Veterinary Journal 2015; 203(3): 302-8.

19.Vanderhaeghen W, Vandendriessche S, Crombé F, Dispas M, Denis O, Hermans K, et al. Species and staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) diversity among methicillin-resistant non-Staphylococcus aureus staphylococci isolated from pigs. Veterinary Microbiology 2012; 158(1–2): 123-8.
20.Higashide M, Kuroda M, Ohkawa S, Ohta T. Evaluation of a cefoxitin disk diffusion test for the detection of mecA-positive methicillin-resistant Staphylococcus saprophyticus. International Journal of Antimicrobial Agents 2006; 27(6): 500-4.
21.Muttaiyah S, Coombs G, Pandey S, Reed P, Ritchie S, Lennon D, et al. Incidence, risk factors, and outcomes of Panton-Valentine leukocidin-positive methicillin-susceptible Staphylococcus aureus infections in Auckland, New Zealand. J Clin Microbiol 2010; 48(10): 3470-4.
22.Yoong P. Immunomodulation by the Panton-Valentine leukocidin can benefit the host during Staphylococcus aureus infections. Virulence 2013; 4(1): 92-6.
23.Grumann D, Nubel U, Broker BM. Staphylococcus aureus toxins--their functions and genetics. Infection, genetics and evolution. Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases 2014; 21(5) :83-92.
24.Imani Fooladi AA, Ashrafi E, Tazandareh SG, Koosha RZ, Rad HS, Amin M, et al. The distribution of pathogenic and toxigenic genes among MRSA and MSSA clinical isolates. Microbial Pathogenesis 2015; 8(1): 60-6.
26.Srinivasan A, Bankowski MJ, Seifried SE, Jinno S, Perkins R, Singh S, et al. A probe-based method for confirmation of methicillin-resistant Staphylococcus aureus and detection of Panton–Valentine leukocidin and tst virulence genes. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2011; 70(4): 541-3.
26.Hu DL, Omoe K, Inoue F, Kasai T, Yasujima M, Shinagawa K, et al. Comparative prevalence of superantigenic toxin genes in meticillin-resistant and meticillin-susceptible Staphylococcus aureus isolates. Journal of Medical Microbiology 2008; 57(9): 1106-12.
27.Molla-abbaszadeh H, Moba yen H, Mirzaei H. Identification of panton valentine leukocidin (pvl) genes in staphylococcus aureusisolated from in- patients of emam reza and shohada hospitals of tabriz by real-time PCR. Iranian Journal of Medical Microbiology 2013; 6(4): 72-80.
28.Havaei SA, Ahmadpour M, Poursina F, Ruzbahani M, Assadbeigi B. The prevalence of panton-valentine leukocidin gene in staphylococcus aureus isolated from alzahra hospital, Isfahan, Iran. J Isfahan Med Sch 2015; 32(31)-219-29.
29.Kord Z, Amini K, Parviz M. Determining the Frequency of panton-valentine leukocidin (pvl), and collagen- binding protein (can) in staphylococcus aureus strains isolated from clinical specimens and antibiotic resistance: a short report. J RafsanjanUniv Med Sci 2015; 14(8): 701-8.
30.Alizadeh S, Amini K. Identification of Virulence Gene Panton Valentine Leukocidin (PVL) and Resistance to Methicillin (mecA) in Staphylococcus Aureus Isolated from Clinical Specimens: A Short Report. J Rafsanjan Univ Med Sci 2015; 14(5): 427-34.
31.Bazzi AM, Rabaan AA, Fawarah MM, Al-Tawfiq JA. Prevalence of Panton-Valentine leukocidin-positive methicillin-susceptible Staphylococcus aureus infections in a Saudi Arabian hospital. J Infect Public Health 2015; 8(4): 364-8.
32.Tseng CW, Biancotti JC, Berg BL, Gate D, Kolar SL, Muller S, et al. Increased Susceptibility of humanized nsg mice to panton-valentine leukocidin and staphylococcus aureus skin infection. PLoS Pathogens 2015; 11(11): 1005-292.
33.Brown ML, O'Hara FP, Close NM, Mera RM, Miller LA, Suaya JA, et al. Prevalence and sequence variation of panton-valentine leukocidin in methicillin-resistant and methicillin-susceptible staphylococcus aureus strains in the United States. J Clin Microbiol 2012; 50(1): 86-90.
34.Khosravi AD, Hoveizavi H, Farshadzadeh Z. The prevalence of genes encoding leukocidins in Staphylococcus aureus strains resistant and sensitive to methicillin isolated from burn patients in Taleghani Hospital, Ahvaz, Iran. Burns 2012; 38(2): 247-51.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

The Study of Pantone Valentin Leukocidin (PVL) Gene in Methicillin-resistant Staphylococcus Aureus Isolated from Blood and Wound in Zahedan, Iran

Tahmasebi H*, Bokaeian M

[1]Department of Microbiology, Zahedan University of Medical Science, Zahedan, Iran

Received: 30 Apr 2016 Accepted: 29 Aug 2016

Abstract

Background & aim: Panton-Valentine leukocidin (PVL) is a *Staphylococcus aureus* gamma toxin. There may be a link between Meticillin-Resistant Staphylococcus aureus and Panton-Valentine leukocidin (PVL), as an important cytotoxin found particularly in severe infections. The purpose of this study was to isolate and identify *Staphylococcus aureus* virulence Panton-Valentine leukocidin (*PVL*) and methicillin resistance genes in clinical samples using PCR techniques.

Methods: In the present cross-sectional study, 89 isolates were collected from blood samples and detected as Staphylococcus aureus during the period of 6 months at Ali Ebne AbiTaleb Hospital, Zahedan, Iran. Initially, the case study examples were examined by biochemical tests. Then, based on recognized standards, Staphylococcus aureus isolates were isolated. Afterwards, isolates obtained were confirm by using 16srRNA gene. Subsequently, the antibiotic susceptibility of all isolates to methicillin was determined using Cefoxitin(30µg) disk diffusion and agar screening methods. Finally, the PCR method was used to determine PVL and mecA genes. All results were analyzed by the Chi-square test.

Results: Out of the total 89 isolates of Staphylococcus aureus blood isolates, 26 isolates from wounds and 63 were isolated. Most samples were obtained from female patients. According to the molecular analysis, 47 isolates (82/52%) were mecA gene and resistant to methicillin and 42 strains (47/2%) was methicillin-sensitive. Resistance to vancomycin wasn't observed in isolates. Erythromycin and Penicillin had the highest prevalence of antibiotic resistance among isolates, respectively. Multi-resistant strains were the most *PLV* genes frequent. A significant relationship was observed between the resistance and the presence of Pantone Valentin (P≥0 / 05).

Conclusions: Due to the frequency of mecA and PLV genes in resistant and susceptible strains of Staphylococcus aureus, and also the distribution of Pantone Valentin gene in resistant strains; therefore, based on the statistical analysis, we can conclude that there may be a connection between these two factors (P≥0 / 05).

Keywords: Panton-Valentine leucocidin(PVL), *Staphylococcus aureus*, Antibiotic resistance

***Corresponding author: Tahmasebi H**, Department of Microbiology, Zahedan University of Medical Science, Zahedan, Iran
Email: h.tahmasebi87@yahoo.com

Please cite this article as follows:
Tahmasebi H, Bokaeian M. The Study of Pantone Valentin Leukocidin (PVL) Gene in Methicillin-resistant Staphylococcus Aureus Isolated from Blood and Wound in Zahedan, Iran. Armaghane-danesh 2016; 21 (6): 591-604.