

بررسی ارتباط بین ژن‌های القایی عامل کروم سنسینگ وابسته به پروموتور و مقاومت به متی سیلین در سویه‌های استافیلوکوک اورئوس بالینی

ساناز ده‌باشی^۱، حامد طهماسبی^۲، بهروز زینی^۳، دکتر محمد رضا عربستانی^۳ 

نویسنده‌ی مسئول: دکتر محمد رضا عربستانی، گروه میکروب شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان mohammad.arabestani@gmail.com
دریافت: ۹۶/۲/۲۷ پذیرش: ۹۶/۶/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: پدیده کروم سنسینگ، پروموتورهای دخیل در این فرایند و اثر این پروموتورها بر میزان بیان برخی از ژن‌های ساختاری مانند *agrA* و *PII*، می‌تواند دید مناسبی از فعالیت و بروز مقاومت‌های آنتی بیوتیکی در استافیلوکوک اورئوس را بیان نماید. هدف از این مطالعه ارتباط بین ژن‌های القایی عامل کروم سنسینگ وابسته به پروموتور و مقاومت به متی سیلین در سویه‌های استافیلوکوک اورئوس بالینی می‌باشد. روش بررسی: در این مطالعه‌ی تحلیلی، ۳۱۵ ایزوله بالینی استافیلوکوک اورئوس از نمونه‌های بالینی مختلف جمع‌آوری شد. سویه‌های مقاوم و حساس جهت حضور پروموتور القایی مورد بررسی کیفی و کمی قرار گرفتند. میزان بیان ژن‌های *PII* و *agrA* با استفاده از تکنیک *Real-Time PCR* انجام شد. آنالیزهای آماری (توصیفی-تحلیلی) با استفاده از نرم افزار *SPSS* نسخه ۱۶ و آنالیز نتایج بیان ژن‌ها با استفاده از نرم‌افزار *REST 2008 V3* صورت گرفت.

یافته‌ها: از ۱۲۵ سویه استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین، ۱۰۰ سویه (۸۳/۳۳ درصد) دارای ژن پروموتور *P2* و تمامی ایزوله‌ها دارای ژن *agrA* و از ۱۹۰ سویه حساس به متی سیلین، ۸۴ ایزوله (۴۴/۲۱ درصد) دارای ژن *P2* و ۱۶۹ ایزوله (۸۸/۹۴ درصد) دارای ژن *agrA* بودند. همچنین ایزوله‌های مقاوم به متی سیلین در مقایسه با ایزوله‌های حساس دارای میزان بیان ژن *P2* و *AgrA* بیشتری بودند. نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل شده، احتمال ارتباط پدیده کروم سنسینگ و ژن‌های القایی آن با میزان مقاومت‌های دارویی، به عنوان یکی از مهم‌ترین مواردی است که باید آن را مورد توجه قرار داد. واژگان کلیدی: کروم سنسینگ، مقاومت دارویی، استافیلوکوک اورئوس، بیان ژن.

مقدمه

Quorum Sensing (QS) ارتباط سلول-سلول بین باکتری‌های مختلف است که وسیله‌ای برای تولید سیگنال خارج سلولی جهت مرتبط کردن باکتری‌های موجود در یک جمعیت می‌باشد (۱). این مکانیسم که در بین باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی وجود دارد، توسط پروتئین‌های خاصی کنترل می‌شود که در نهایت با رونویسی و بیان ژن‌های وابسته سبب فعال یا غیرفعال شدن می‌شود (۱). از مهم‌ترین باکتری‌های گرم مثبت دارای QS می‌توان به استافیلوکوک	
--	--

۱- دانشجوی دکترای تخصصی میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان

۲- کارشناس ارشد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان

۳- دکترای تخصصی میکروب شناسی، دانشیار گروه میکروب شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان

۴- دکترای تخصصی میکروب شناسی، دانشیار مرکز پژوهش دانشجویان، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان

اورئوس اشاره کرد. این باکتری که کوکسی گرم مثبت با توانایی تولید آنزیم‌های متنوع می‌باشد، دارای قدرت بیماری‌زایی بسیار زیادی است و می‌تواند در قسمت‌های مختلفی از بدن ایجاد بیماری کند (۳ و ۲). یکی از عواملی که تولید عوامل بیماری‌زای *استافیلوکوک اورئوس* و آنزیم‌های مترشحه از این باکتری را تحت تاثیر قرار می‌دهد، پدیده‌ی کروم سنسینگ می‌باشد (۴). مجموعه عوامل بیماری‌زای *استافیلوکوک اورئوس* توسط یک سیستم کروم سنسینگ به نام *agr* accessory gene regulator (agr) کنترل می‌شوند (۳). *agr* با کد کردن موتیف‌های خاصی از پپتیدهای مختلف سبب کنترل فعالیت رونویسی و تولید محصولات بیماری‌زای *استافیلوکوک اورئوس* می‌شود (۵). این سیستم توسط دو بخش مختلف بنام‌های *RNAII* و *RNAIII* که در رونویسی محصولات این لوکوس نقش دارند، تشکیل شده است (۶). هر یک از این بخش‌ها در کنار پروموتورهای اختصاصی *P2* و *P3* کنترل مجموعه *agr* را به صورت مجزا بر عهده دارند (۵). *RNAII* با کمک گرفتن از پروموتور *P2* در چرخه *agr* کنترل قسمت‌های مختلف *agr* شامل *agrA*، *agrB*، *agrC*، *agrD* بر عهده دارد (۶). در این مجموعه از لوکوس *agr*، بخش *agrD* با کد کردن پپتیدهای خاصی به نام *autoinducing peptide* (API) سبب تولید سیگنال‌های خارج سلولی در *QS* می‌شود (۷). مسیر *QS* بدین گونه می‌باشد که در ابتدا سیگنال‌های محیطی که به واسطه *AIP* ها به داخل سلول باکتری هدایت شده‌اند، توسط *agrC* در سطح سلول باکتری دریافت شده و سبب تحریک شدن *agrA* می‌گردد که تحریک شدن این قسمت زمینه‌ی فعال شدن *agrD* و به دنبال آن *agrB* را فراهم می‌کند. *agrB* با ارسال سیگنال‌های خارج سلولی به واسطه برقراری پیوندهای دوگانه در برخی عناصر خارج سلولی، سبب ارسال پیام توسط باکتری برای ارتباط توسط پدید کروم سنسینگ می‌شوند (۸). در این فرایند *agrA* نقش بسیار مهمی را ایفا

می‌کند، چون این بخش از لوکوس *agr* توسط عوامل ذکر شده کنترل شده و در واقع یک بخش چند فعالیتی می‌باشد (۹).

با توجه به ارتباط تنگاتنگ مسیرهای وابسته به چرخه *agr* در امر تولید عوامل بیماری‌زا و رخ دادن پدیده کروم سنسینگ در باکتری *استافیلوکوک اورئوس*، با بررسی میزان بیان پروموتورهای تنظیمی این بخش‌ها که لوکوس‌های *agr* را کنترل می‌کنند، می‌توان به میزان بیان ژن‌های عامل تولید انواع توکسین‌های باکتریایی در *استافیلوکوک اورئوس* دست یافت (۱۰). با اندازه‌گیری میزان بیان پروموتور *P2* علاوه بر اینکه تولید این عوامل بیماری‌زا را مورد بررسی و مشاهده قرار داد، می‌توان با اندازه‌گیری دقیق میزان بیان این پروموتورها، به تمایل باکتری به تولید سیگنال جهت انجام پدیده کروم سنسینگ پرداخت (۱۱). با بررسی دقیق موارد فوق در باکتری‌های مقاوم به برخی آنتی‌بیوتیک خاص که ارتباط نزدیکی با تولید عوامل بیماری‌زا دارند، توانایی ارتباط برقرار کردن بین مقاومت و بروز پدیده کروم سنسینگ از یک طرف و مقاومت و تولید عوامل بیماری‌زا از سوی دیگر را می‌توان مطرح کرد (۱۳ و ۱۲). این درحالی است که بالا رفتن قدرت بیماری‌زایی *استافیلوکوک اورئوس* و پدیده‌ی کروم سنسینگ نیز توسط محققان بررسی و وجود ارتباط بین این عوامل به اثبات رسیده است (۱۴). حضور باکتری‌هایی مانند *استافیلوکوک اورئوس* که می‌توانند در قسمت‌های مختلف بدن به واسطه‌ی اتصال به سطوح مختلف مانند ابزار آلات پزشکی، پوست بدن و مواردی از این دست وارد بدن انسان شوند، پیوسته باید در برابر عوامل و شرایط نامساعد مانند قرارگیری در برابر ضدعفونی‌کننده‌ها، شوینده‌ها و حتی عدم دسترسی بودن انرژی کافی، مقاوم باشند. از این‌رو فعالیت برخی ژن‌های ساختاری خود را تغییر داده و به نحوی فعالیت خود را پیش می‌برند که بتوانند با حفظ قدرت بیماری‌زایی خود، مقاومت به آنتی‌بیوتیک را نیز افزایش دهند. با در نظر

گرفتن موارد ذکر شده، هدف از این مطالعه بررسی میزان بیان پروموتور القایی عامل کروم سنسینگ در سویه‌های بالینی حساس و مقاوم به متی‌سلین / استافیلوکوک / اورئوس بود.

روش بررسی

در این مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی، طی یک دوره‌ی ۹ ماهه ۳۷۵ نمونه بالینی شامل خون، ادرار، مایع مغزی-نخاعی، سواب بینی، زخم، ترشحات، تراشه، خلط و بزاق، از بیماران بستری در بخش‌های مختلف و بیماران مراجعه کننده (به صورت سرپایی) به مراکز درمانی دانشگاه علوم پزشکی شهر همدان در بازه‌ی زمانی مرداد تا دی ماه جمع آوری شد. روش نمونه‌گیری بر اساس روش نمونه‌گیری آسان و در دسترس انتخاب شد. معیار ورود افراد برای نمونه‌گیری، بیمارانی بودند که به مدت طولانی در بیمارستان بستری و مشکوک به عفونت استافیلوکوکی بودند و معیار خروج نیز بیماران فاقد عفونت‌های باکتریایی در نظر گرفته شد. ایزوله‌های به دست آمده بر روی محیط Blood Agar (Merck آلمان) پایه که با خون ۵ درصد تازه گوسفندی غنی شده بود، به صورت خطی کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از مشاهده‌ی کلنی‌ها، رنگ‌آمیزی گرم انجام و کوکسی‌های گرم مثبت جداسازی شدند. از تست کاتالاز برای تفریق استافیلوکوک‌ها از استرپتوکوک‌ها استفاده شد. برای تشخیص استافیلوکوک‌ها از میکروکوک‌ها هم از آزمایش اکسیداسیون و احیا استفاده گردید. برای تفکیک استافیلوکوک‌های کوگولاز مثبت از استافیلوکوک‌های کوگولاز منفی از تست کوگولاز لوله‌ای استفاده شد. در نهایت ۱۲۵ ایزوله‌ی بالینی / استافیلوکوک / اورئوس مقاوم به متی‌سلین بر اساس تست‌های اولیه جداسازی شد. جهت جمع‌آوری اطلاعات ایزوله‌های بالینی و مشخصات آنها از فرم‌های طراحی شده استفاده گردید (۱۵).

جهت تعیین سویه‌های مقاوم و حساس از روش Disk Diffusion استفاده شد. بدین صورت که ابتدا از کلنی تازه سویه‌های مورد نظر سوسپانسیون تهیه گردید و رقت آن به کدورت نیم مک فارلند رسانده شد. سپس بر روی محیط مولر هیتون آگار که داخل پلیت‌های ۸ سانتی‌متری با ضخامت ۴ میلی‌متر ریخته شده بود، به صورت سفره‌ای توسط سواب استریل کشت داده شد. سویه‌های مقاوم به متی‌سلین با استفاده از دیسک سفوکسیتین ۳۰ میکروگرمی (Mast، انگلستان) تعیین شدند. در این مطالعه، از سویه‌ی / استافیلوکوک / اورئوس ATCC25923 به عنوان کنترل منفی و از سویه‌ی / استافیلوکوک / اورئوس ATCC43300 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (۱۷ و ۱۶).

برای انجام استخراج DNA ژنومیک از کیت استخراج شرکت سینا ژن ایران بر اساس پروتکل شرکت سازنده انجام شد. جهت آماده‌سازی باکتری مورد مطالعه، در ابتدا کلنی‌های تازه کشت داده شده بر روی محیط بی رنگ مولر هیتون آگار در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی لیتری حاوی سرم فیزیولوژی به خوبی حل شد و در دور ۴۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد از به دست آمدن رسوب کلنی‌های تشکیل شده، با استفاده از آنزیم و بافرهای موجود در داخل کیت، ادامه کار پی گرفته شد. DNA به دست آمده در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد برای انجام آزمون‌های مولکولی، ذخیره گردید (۱۸).

با استفاده از روش PCR و دستگاه ترموسایکلر اپندورف (Mastercycler 5333، آمریکا) ژن‌های *agrA* و *P2* مورد شناسایی قرار گرفتند. برای این کار، از پرایمرهای موجود در جدول ۱ استفاده گردید. برای تکثیر این ژن‌ها دمای واسرشت اولیه ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ سیکل برای مراحل واسرشت ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال ۵۹ درجه به مدت ۴۵ ثانیه و طویل‌سازی

اولیه به مدت ۱ دقیقه تعیین گردید. طویل‌سازی نهایی نیز ۸ دقیقه منظور شد.

جهت مطالعات کیفی ایزوله‌های بالینی که دارای مشخصات خاص از نظر پروفایل الگوی مقاومت، فراوانی همه‌ی ژن‌های مورد مطالعه و نوع نمونه بالینی، جهت بررسی‌های کمی انتخاب شدند. به منظور تعیین میزان بیان ژن‌های مورد مطالعه (جدول ۱)، از تکنیک Real-Time PCR و معرف سایرگرین استفاده شد. پرایمرهای رفت و برگشت هر یک با غلظت ۵ ماکرومولار و cDNA مورد به دست آمده با غلظت ۱۰۰ نانوگرم مورد استفاده قرار گرفت. جهت استخراج RNA از محلول ReboEx (Biotech، اسپانیا) و جهت سنتز cDNA از کیت RT dART NG (Eurx، آمریکا) صورت گرفت. غلظت اولیه RNA بر اساس پروتکل درج شده در کیت جهت سنتز cDNA ۵۰۰ نانوگرم در نظر گرفته شد. مراحل واکنش Real Time PCR به صورت ۱۰ دقیقه واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۴۰ سیکل برای واسرشت ثانویه به مدت ۳۰ ثانیه در ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۹۰ ثانیه اتصال پرایمر در دمای ۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه (ABI Step OnePlus، آمریکا) صورت پذیرفت. مرحله‌ی طویل‌سازی واکنش نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه تعیین شد. محاسبه‌ی بیان ژن‌ها بر اساس فرمول $1 + \Delta CT$ و مطالعات Pfaffl method انجام پذیرفت که در این بررسی یک ژن رفرانس و یک یا چند ژن هدف وجود دارد. در باکتری *استافیلوکوک اورئوس* به‌منظور لحاظ کردن شرایط یکسان از نظر CT‌های به دست آمده، از یکی از ژن‌های محافظت شده این باکتری استفاده می‌شود. در این بررسی نیز از ژن *gmk* که یکی از ژن‌های محافظت شده می‌باشد، به‌عنوان ژن رفرانس برای تعیین میزان بیان ژن‌های مورد مطالعه استفاده شد (۱۹). نتایج حاصل از Relative Quantitation و $\Delta\Delta t_c$ با استفاده از نرم‌افزار

RG-REST نسخه ۲۰۰۸ تجزیه و تحلیل شدند. از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون آماری کای-دو برای مقایسه یافته‌های کیفی و تست مثبت مستقل برای مقایسه یافته‌های کمی مورد استفاده قرار گرفتند (در این مطالعه مقدار $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد).

یافته‌ها

در این بررسی، پراکنش ایزوله‌های بالینی به دست آمده در نمونه‌های بالینی مختلف به صورت زیر مشاهده شد، به طوری که از میان ۳۱۵ ایزوله بالینی/استافیلوکوک اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی، ۴۵ ایزوله (۱۴/۲۹ درصد) از زخم، ۵۲ ایزوله (۱۶/۰۵ درصد) از خون، ۱۲۱ ایزوله (۳۸/۴۱ درصد) از ادرار، ۳۹ ایزوله (۱۲/۳۸ درصد) از ترشه، ۳۶ ایزوله (۱۱/۴۲ درصد) از کاتتر، ۱۰ ایزوله (۳/۱۷ درصد) از سوپ و ۱۲ ایزوله (۳/۸ درصد) از بیماران سرپایی جدا سازی شد (جدول ۲). همچنین ۱۲۵ سویه (۳۹/۶۸ درصد) مقاوم به متی‌سیلین و ۱۹۰ ایزوله (۶۰/۳۱ درصد) حساس به متی‌سیلین به دست آمد. به طوری که سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین که توسط روش دیسک دیفیوژن مورد ارزیابی قرار گرفتند دارای قطر هاله عدم رشد کمتر از ۲۱ میلی‌متر بودند و سویه‌های حساس دارای قطر هاله عدم رشد بیشتر از ۲۱ میلی‌متر بودند. از مجموع ۳۱۶ ایزوله بالینی/استافیلوکوک اورئوس مورد مطالعه، ۱۲۵ ایزوله (۳۹/۶۸ درصد) دارای ژن *mecA* و ۱۹۰ ایزوله (۶۰/۳۱ درصد) از نظر حضور این ژن منفی بودند. از ۱۲۵ سویه/استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، در آزمون کیفی، ۱۰۰ سویه (۸۳/۳۳ درصد) دارای ژن پروموتور *P2* و همه ایزوله‌ها دارای ژن *agrA* بودند. علاوه بر این از ۱۹۰ سویه حساس به متی‌سیلین، ۸۴ ایزوله (۴۴/۲۱ درصد) دارای ژن *P2* و ۱۶۹ ایزوله (۸۸/۹۴ درصد) دارای ژن *agrA* بودند.

A11, A8, A3 و A2 دارای کاهش بیان ژن بودند. سویه‌های حساس به متی‌سیلین با کد شناسایی A1S, A2S, A3S, A8S, A11S, A12S, A13S, A14S از نظر بیان ژن‌های *P11* و *agrA* دارای کاهش چشم‌گیری نسبت به سایر ایزوله‌های مورد مطالعه بودند (نمودار ۱ و ۲).

با وارد کردن همه‌ی ایزوله‌های مورد مطالعه که از نظر کیفی مثبت شده بودند، مواردی که دارای CTهای بالای ۳۵ و کمتر از ۱۰ بودند از مطالعه حذف شدند و ۱۵ ایزوله بالینی که دارای کمترین خطای جهت تعیین میزان بیان ژن‌های مورد مطالعه بودند، انتخاب شدند (نمودار ۱ و ۲). از این‌رو، ایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین با کد شناسایی A13, A15

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در واکنش Real Time PCR

ژن های مورد مطالعه	توالی نوکلئوتیدی	طول محصولات	منبع
<i>agrA</i>	AAGCATGACCCAGTTGGTAACA ATCCATCGCTGCAACTTTGTAGA	۹۰	(۱۷)
<i>mecA</i>	AAAGAACCTCTGCTCAACAAGT TGTTATTTAACCCAATCATTGCTGTT	۸۸	(۱۸)
<i>P2</i>	TATGAATAAATGCGCTGATGATATACCACG TTTTAAAGTTGATAGACCTAAACCACGACC	۱۰۳	(۱۹)
<i>gmk</i>	ATCGTTTTATCGGGACCATC TCATTAACCTACAACGTAATCGTA	۴۸۸	(۱۹)

جدول ۲: فراوانی ژن‌های مورد مطالعه در سویه‌های مقاوم استافیلوکوک اورئوس

ژن مورد مطالعه	تعداد در نمونه‌های بالینی مختلف						تعداد کل ژن ها
	خون	ادرار	زخم	بینی	تراشه	کاتاتر	سرپایی
<i>agrA</i>	۱۴	۳۱	۴۷	۵	۷	۱۲	۹
<i>P2</i>	۲	۲۹	۴۲	۱۳	۹	۵	—
<i>mecA</i>	۲۹	۴۰	۱۸	۴	۱۲	۱۶	۴

بیشتری معنی‌داری را نشان دادند و در مقابل سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین بیان کننده افزایش معنی‌داری از نظر افزایش ژن‌های مورد مطالعه بودند ($P=0/002$). این در حالی بود که در نمونه‌هایی که ژن *P2* با افزایش میزان بیان مواجه بود، ژن *agrA* نیز با افزایش میزان بیان ژنی روبه‌رو بود. علاوه بر

با در نظر گرفتن مقادیر به دست آمده از بیان ژن‌های *P2* و *agrA* در سویه‌های حساس و مقاوم استافیلوکوک اورئوس نشان داده شد که بیان این دو ژن در سویه‌های حساس و مقاوم ارتباط معنی‌داری وجود دارد. به این صورت که میزان بیان ژن‌های *P11* و *agrA* در سویه‌های حساس کاهش

این، در ایزوله‌ای *استافیلوکوک اورئوس* جداشده از خون و زخم ژن *agrA* دارای بیشترین فعالیت بود و در مقابل ژن *P2* در نمونه‌های ادرار و زخم به میزان بیشتری بیان شد. در این بین، ارتباط معنی‌داری بین حضور میزان بیان ژن‌های مورد مطالعه و نوع نمونه بالینی مشاهده نشد (جدول ۳). در سویه‌های حساس و مقاوم، الگوی بیان ژن کاملاً متفاوت بود،

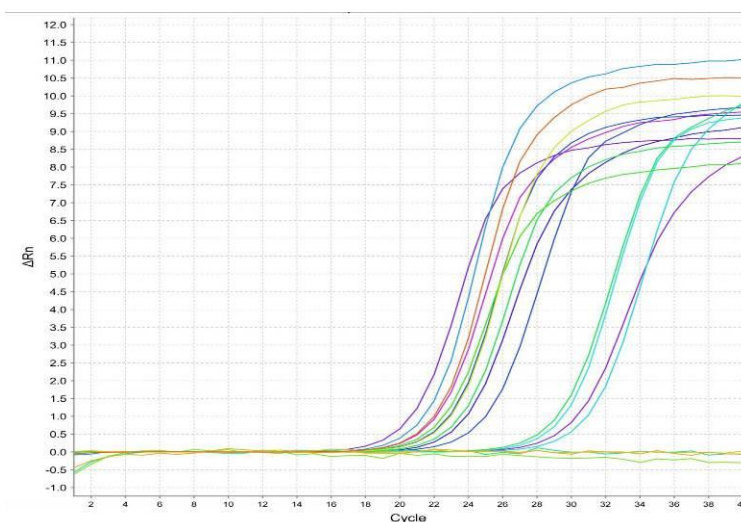
به طوری که در سویه‌های حساس بیان ژن *P2* به مقدار کمتری مشاهده شد و در سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین این میزان روند افزایشی داشت. ژن *agrA* در سویه‌های حساس و مقاوم به متی‌سیلین دارای تفاوت معنی‌داری نبود (جدول ۳ و ۴).

جدول ۳: مقادیر CT به دست آمده از ژن‌های *agrA* و *P2* و *gmk* در ایزوله‌های بالینی *استافیلوکوک اورئوس* مقاوم میزان بیان با توجه به فرومول $2^{-\Delta\Delta CT}$ در جدول لحاظ شده است

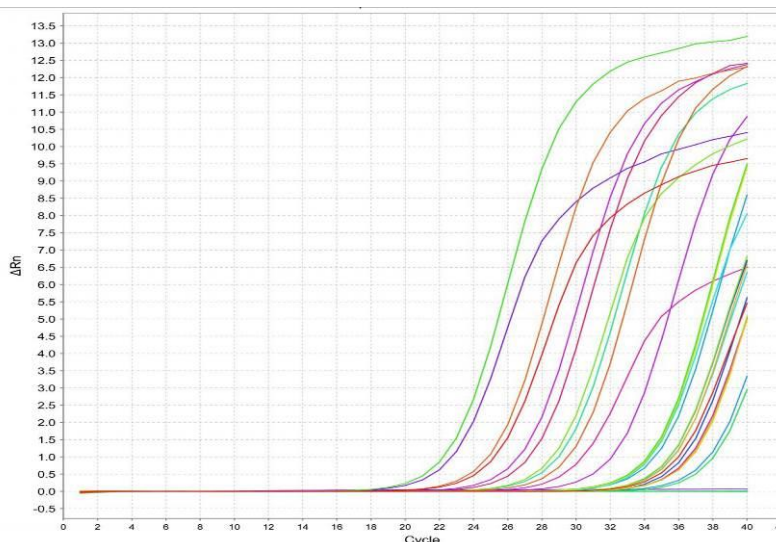
PCR efficiency	<i>agrA</i> gene	<i>P2</i> gene	reference gene	$2^{-\Delta\Delta CT}$	
	۱/۳۰۱۰	۱/۱۴۴۰	۱/۰۹۰۰		
Ct values	Ct <i>agrA</i>	Ct <i>P2</i>	Ct <i>gmk</i>	fold induction <i>agrA</i>	fold induction <i>P2</i>
Control	۱۸/۱۹	۲۵/۸۹	۲۵/۰۴	۱	۱
A1	۱۲/۳۸	۱۷/۶۵	۳۴/۰۹	۴/۲۱۳۷۲۸۱۹۴	۱/۱۳۹۷۷۵۷۳۳
A2	۱۲/۶	۲۹/۹۴	۳۰/۸۷	۳/۱۱۴۰۴۷۴۷۸	۰/۶۱۰۴۰۸۹۵۴
A3	۱۲/۷۳	۱۵/۵۶	۲۲/۴۹	۱/۴۹۰۳۶۵۶۵۶	۰/۹۶۹۱۱۹۷۴۴
A4	۱۲/۶۱	۲۲/۱۶	۲۹/۰۷	۲/۶۶۳۵۷۷۵۹۶	۱/۶۳۲۳۱۸۰۳۵
A5	۱۲/۵۵	۲۸/۱۲	۳۴/۰۹	۴/۱۳۳۳۲۴۰۴۲	۲/۰۰۲۸۹۰۱۷۱
A6	۱۳/۰۶	۳۱/۲۲	۳۰/۹۸	۲/۹۸۴۰۲۰۸۵۵	۱/۳۶۰۶۶۹۱۲۲
A7	۱۲/۹۱	۲۱/۴۲	۳۰/۷۸	۲/۹۸۳۳۱۶۰۰۴	۱/۹۴۵۸۰۶۲۵۸
A8	۱۲/۴۹	۲۰/۹	۲۱/۷۸	۱/۴۴۰۵۶۳۲۹۸	۰/۹۱۳۹۰۵۳۰۷
A9	۱۲/۹۶	۲۶/۹۲	۲۹/۰۱	۲/۵۴۶۷۹۱۸۷۳	۱/۳۵۳۵۳۴۰۴۲
A10	۱۲/۷۳	۲۲/۱۴	۲۸/۰۴	۲/۴۰۴۴۱۷۵۹۶	۱/۴۹۴۸۱۶۲۰۵
A11	۱۲/۹۱	۲۵/۱۳	۱۹/۲۶	۱/۱۰۵۴۶۷۵۵۷	۰/۶۲۵۶۰۸۵۲۵
A12	۱۶/۲۲	۱۹/۴۴	۲۳/۵۸	۱/۱۰۲۳۴۳۱۷۵	۱/۱۲۸۵۶۷۶۴۴
A13	۱۲/۷۸	۳۱/۷۲	۲۱/۹۹	۱/۴۱۹۴۴۵۳۷۴	۰/۶۱۵۱۴۹۳۰۷
A14	۱۵/۰۱	۲۵/۱۲	۲۷/۳۳	۱/۷۴۶۷۰۶۷۲۵	۱/۲۵۴۵۸۶۶۲۱
A15	۱۲/۵۱	۲۰/۰۹	۲۴/۹۷	۰/۳۳۷۶۰۴۷۵۵	۰/۲۲۱۴۲۱۷۹۲

جدول ۴: مقادیر CT به دست آمده از ژن‌های $agrA$ و $P2$ و gmk در ایزوله‌های بالینی استافیلوکوک اورئوس حساس میزان بیان با توجه به فرومول $2^{-\Delta\Delta CT}$ در جدول لحاظ شده است.

PCR efficiency	<i>agrA</i> gene	<i>P2</i> gene	reference gene			2 ^{-ΔΔCT}
	1/3010	1/1440	1/900			
Ct values	Ct <i>agrA</i>	Ct <i>P2</i>	Ct <i>gmk</i>	fold induction <i>agrA</i>	fold induction <i>P2</i>	
Control	18/19	25/89	25/04	1	1	
A1S	19/44	22/1	34/09	1/893159118	961347098	
A2S	18/12	31/13	30/87	1/6658172445	0/583241467	
A3S	20/33	19	22/49	0/6298148155	0/84961067	
A4S	19/72	26/15	29/07	1/189940407	1/401227798	
A5S	17/61	25/77	34/09	2/329465375	2/19130925	
A6S	21/12	30/93	30/98	197028778	1/375849841	
A7S	20/2	25/49	30/78	1/305869783	1/665230348	
A8S	19/77	24/19	21/78	0/631284521	0/805816299	
A9S	18/69	28/72	29/01	1/330375338	1/263459128	
A10S	19/47	28/11	28/04	1/12016094	1/189578149	
A11S	15/78	26/49	19/26	0/798528234	0/593889317	
A12S	21/16	23/17	23/58	0/629766835	0/978479421	
A13S	20/75	30/9	21/99	0/575244604	0/634753769	
A14S	16/44	26/06	27/33	1/485382216	1/210269356	
A15S	18/88	22/05	24/97	0/174017335	0/205425281	



نمودار ۱: نمودار تکثیر موفقیت آمیز ژن‌های PII و $agrA$ در ایزوله‌های بالینی استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین



نمودار ۲: نمودار تکثیر موفقیت آمیز ژن‌های *PII* و *agrA* در ایزوله‌های بالینی استافیلوکوک اورئوس حساس به متی‌سیلین

بحث

نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که میزان بیان ژن‌های *PII* و *agrA* می‌تواند با توجه به حساسیت یا مقاومت باکتری مورد مطالعه متفاوت باشد. این در حالی بود که بیان ژن *PII* در سویه‌های حساس کمتر و در سویه‌های مقاوم مقادیر بیشتری را به خود اختصاص داد. همچنین، سویه‌های استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین از نظر فعالیت ژن *agrA* دارای فعالیت بیشتری بودند. در صورتی که از نظر اهمیت *RNAII* و پروموتور فعال کننده آن یعنی *PII*، ذکر این نکات الزامی است. *RNAII* با کمک گرفتن از پروموتور *P2* در چرخه *agr*، کنترل قسمت‌های مختلف لوکوس *agr* شامل *agrA*، *agrB*، *agrC*، *agrD* برعهده دارد (۶). در این مجموعه از لوکوس *agr*، بخش *agrD* با کد کردن پپتیدهای خاصی بنام autoinducing peptide (API) سبب تولید سیگنال‌های خارج سلولی در QS می‌شود (۷). نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر نشان داد که نمونه‌های A15، A13، A11، A8، A3 و A2 دارای کاهش فعالیت ژن *PII* بوده و سایر نمونه‌های با افزایش بیان ژن همراه بودند. کاهش بیان ژن *RNAII* به صورت غیرمستقیم سبب

افزایش بیان ژن‌های وابسته به تولید توکسین می‌شود. اثر این ژن و پروموتور همراه آن بر تولید برخی از توکسین‌ها نیز می‌تواند سبب تغییر در ترشح این توکسین‌ها شود. یکی از این توکسین‌های مهم توکسین ۱ سندرم شوک توکسیک می‌باشد که به طور مستقیم و غیرمستقیم از ژن *PII* اثر می‌پذیرند. البته این امر همیشگی نیست و می‌تواند تحت شرایطی تغییر وضعیت دهد. در یک مطالعه مروری که وانگ و همکاران در سال ۲۰۱۶ در آمریکا داشتند، مشخص شد که حضور و فعالیت پروموتور *P2* و به دنبال آن *RNAII* می‌تواند سبب افزایش فعالیت‌های وابسته به کروم سنسینگ شود. فعالیت‌هایی که سبب تشکیل بیوفیلم و در برخی موارد تشکیل لایه‌ی لعابی می‌شود را می‌تواند تحت اثر قرار دهد. همچنین در این مطالعه بیان شد که حضور این ژن به عنوان یک عامل تحریک‌کننده در بیان *agrA* مطرح می‌باشد. در نتایج حاصل از این پژوهش که در نمونه‌های دارای ژن‌های *agr* صورت گرفته بود، مشاهده شد که سویه‌های دارای بیان بیشتری از نظر *RNAII*، به صورت کیفی حامل همه‌ی ژن‌های تنظیمی *agr* بودند، که از این نظر این موارد با نتایج به دست آمده توسط وانگ و همکاران همسو است (۲۰).

وابسته به آن در میزان بیان برخی ژن‌های تنظیمی می‌باشد. فعالیت ژن‌های تنظیم‌کننده در سویه‌های مختلف ممکن است متفاوت باشد. در مطالعاتی که رادرفورد و همکاران در سال ۲۰۱۲ در کشور آمریکا به عمل آوردند، نشان دادند که حضور برخی ژن‌های فعال‌کننده و تنظیم‌کننده در همه‌ی سویه‌های استافیلوکوک به یک ترتیب نظام‌مند انجام می‌گیرد (۲۴). به این صورت که برای تشکیل کروم سنسینگ در باکتری استافیلوکوک/اورئوس باید *P2* و *agrA* به طور مستقیم وارد عمل شوند. یکی از نتایجی که در این مطالعه به دست آمد ارتباط این دو ژن در مقیاس بیان با یکدیگر بود، به نحوی که فعالیت این دو ژن در سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین بیشتر از سویه‌های حساس به متی‌سیلین بود. این نتایج به نتایجی که در مطالعات ویدما و همکاران در سال ۲۰۱۴ در اسپانیا صورت گرفت، مشخص شد که بین حضور و فعالیت لوکوس ژنی *agr* و مقاومت آنتی بیوتیکی ارتباط مستقیمی وجود دارد و این احتمال می‌رود که قدرت مقاومت باکتری با توجه به میزان فعالیت ژن‌های وابسته به *agr* خصوصاً ژن‌های تنظیمی مانند *agrA* نقش تعیین‌کننده‌ای در این بین داشته باشد (۲۵). در اطلاعات به دست آمده از نتایج ما، این امر نشان داده شد که حضور و فعالیت ژن‌های دخیل در تنظیم کروم سنسینگ، می‌تواند با میزان مقاومت به متی‌سیلین ارتباط داشته باشد، به‌طوری که فعالیت این ژن‌ها در سویه‌های مقاوم سیر افزایشی را نشان داد و در سویه‌های حساس نسبت به سویه‌های مقاوم، سیر کاهشی داشت. در بررسی‌های انجام شده توسط مک کارتی و همکاران در سال ۲۰۱۵ در کشور ایرلند، نشان دادند که فعالیت عوامل بیماری‌زایی که تحت کنترل پرموتور *P2* هستند و به نوعی در بیماری‌زایی نقش کلیدی دارند، فعالیت آن در سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین بیشتر می‌باشد (۲۶). چیونگ و همکاران در سال ۲۰۱۱ در کشور آمریکا نشان دادند که می‌تواند ارتباطی بین حضور و فعالیت ژن‌های تنظیمی لوکوس *agr* مانند *agrA* و بروز مقاومت دارویی در

ارتباط پرموتورهای *P2* و *P3* در کنار لوکوس‌های ژنی *agr* پیوسته از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بودند. ژن *RNAIII* که توسط سیستم وابسته به *agr* مهار می‌شود، سبب القای و تقویت تولید همولیزین و توکسین‌های استافیلوکوکی می‌شود (۲۱). در مطالعه‌ای مروری که لی و همکاران در سال ۲۰۱۶ بر روی مسیرهای تنظیمی *RNAII* و *RNAIII* و نقش آن در پدیده‌های کروم سنسینگ و کد شدن عوامل بیماری‌زا داشتند، مشخص شد که حضور ژن *RNAII* در کنار ژن *RNAIII* برخی مواردی که با فعالیت افزایشی همراه باشد سبب سرکوب ۱۰۰ درصدی برخی ژن‌های دخیل در تنظیم عوامل بیماری‌زایی باکتری می‌شود. در این بین دو مسیر متفاوت رقم می‌خورد که یک مسیر وابسته به *agr* و یک مسیر مستقل از *agr* می‌باشد. در مسیرهای وابسته به *agr* که نقش ژن *RNAIII* هنوز در هاله‌ای از ابهام می‌باشد، به طور احتمالی می‌تواند سبب فعال شدن لوکوس ژنی *agr* به خصوص *agrC* شود (۲۲). در این صورت میزان فعالیت کروم سنسینگ باکتری افزایش می‌یابد. اما بعد از بالا رفتن میزان حضور باکتری‌های دیگر و تضمین شدن بقای باکتری، باکتری وارد مسیر مستقل از *agr* شده و در مسیری قرار می‌گیرد که تولید توکسین‌ها و همولیزین‌های خود را به شدت افزایش می‌دهد. این امر بیشتر در ایزوله‌هایی دیده می‌شود که از نمونه‌های خون و زخم به دست آمده‌اند. در یکی از شاخص‌ترین نمونه‌های مورد مطالعه (A7) که میزان بیان ژن‌های وابسته به مسیرهای وابسته و غیروابسته به *P2* دارای ارتباطی پیچیده می‌باشند، عفونت خونی در میان بوده است که این سویه باعث آن شده است. جدا شدن این سویه از نمونه‌ی خون، موید این مطلب می‌باشد که سویه‌های به دست آمده از خون فعالیتی چند برابری و الگوی به مراتب پیچیده‌تری را می‌توانند داشته باشند (۲۳).

از این رو، نتایج این مطالعه نیز تاییدکننده‌ی نقش مهم نوع نمونه‌ی بالینی در کنار مقاومت آنتی بیوتیکی

استافیلوکوک اورئوس باشد (۲۷). علاوه بر هم‌خوانی نتایج ذکر شده با نتایج به دست آمده در مطالعه‌ی حاضر، سویه‌های حساس و سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین دارای تظاهرات متفاوتی با توجه به نوع نمونه‌های بالینی بودند. در مورد ژن P2 افزایش بیان در نمونه‌های کشت ادرار و کشت زخم، دارای افزایش بیشتری بود. توجیه چنین مسئله‌ای را می‌توان به فعالیت باکتری‌های عامل عفونت‌های خارجی پوستی دانست که برای داشتن بالاترین و قوی‌ترین حضور و مقاومت در برابر عوامل محیطی و افزایش میزان حجم باکتری، کروم سنسینگ به میزان بیشتری مشاهده شد. برخی مطالعات صورت گرفته نیز وجود چنین ارتباطی را محتمل دانسته اند (۱۴). همچنین در نمونه‌های ادراری که دفع باکتری از طریق جریان ادراری ممکن است. این امر نشان دهنده‌ی یک سیر منطقی در بین سویه‌های مقاوم *استافیلوکوک اورئوس* می‌باشد که تفاوت آن را می‌توان در بافت‌های هدف مختلف دید. از نتایج به دست آمده می‌توان این امر را محتمل دانست که حضور و فعالیت ژن‌های پیش‌ساز عوامل بیماری‌زا از جمله کروم سنسینگ، در بافت‌های متفاوت مشاهده کرد.

نتیجه گیری

نقش و فعالیت کلیدی برخی ژن‌های دخیل در بیماری‌زایی باکتری *استافیلوکوک اورئوس* می‌تواند شرایط زندگی و بیماری‌زایی باکتری را به طور کامل تحت اثر قرار

دهد. حضور و فعالیت ژن‌های PII و ژن‌های وابسته به لوکوس agr که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت، علاوه بر داشتن سهم عمده در بیماری‌زایی، در برخی شرایط خاص می‌توانند بر حسب نوع مقاومت آنتی بیوتیکی نیز دچار تغییر شوند. به طوری که با بررسی سویه‌های حساس به آنتی بیوتیک خصوصاً سویه‌های *استافیلوکوک حساس* به متی‌سیلین می‌توان وجود یک مسیر منطقی برای حضور مقاومت آنتی بیوتیکی و پدیده QS را بررسی کرد. مطالعه‌ی حاضر به دلیل محدودیت‌های زمانی و حجم نمونه و همچنین عدم بررسی گسترده‌ی همه ژن‌های دخیل در واکنش‌های آبشاری روشن و یا خاموش شدن برخی ژن‌های ساختاری، اشاره‌ای گذرا به اثر برخی ژن‌های ساختاری داشت. از این به دلیل اهمیت این موضوع و نو بودن پرداخت به ژن‌های ساختاری و تنظیم‌کننده در *استافیلوکوک اورئوس*، پیشنهاد می‌شود که مطالعات تکمیلی بیشتری در این بخش صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح دانشجویی در سال ۱۳۹۵ با کداخلاق IR.UMSHA.REC.1395.325 که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی همدان به انجام رسیده است. نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از این معاونت محترم ابراز می‌دارد.

References

1- Vermote A, Brackman G, Risseuw MD, et al. Hamamelitannin analogues that modulate quorum sensing as potentiators of antibiotics against *Staphylococcus aureus*. *Angewandte Chemie*. 2016; 55: 6551-5.

2- Zarei Koosha R, Mahmoodzadeh Hosseini H, Mehdizadeh Aghdam E, Ghorbani Tajandareh S, Imani Fooladi AA. Distribution of tsst-1 and mecA genes in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens. *Jundishapur J Microbiol*. 2016; 9: 29-57.

- 3- Sharifi A, Mohammadzadeh A, Mahmoodi P, Sasanian N. Inhibitory effect of thymus daenensis essential oil on staphylococcus aureus nora efflux pump. *J Zanzan Univ Med Sci*. 2016; 24: 67-77.
- 4- Khan BA, Yeh AJ, Cheung GY, Otto M. Investigational therapies targeting quorum-sensing for the treatment of *Staphylococcus aureus* infections. *Expert Opin Investig Drugs*. 2015; 24: 689-704.
- 5- Elmore BO, Triplett KD, Hall PR. Apolipoprotein B48, the structural component of chylomicrons, is sufficient to antagonize *staphylococcus aureus* quorum-sensing. *PloS one*. 2015; 10: 125-27.
- 6- Srivastava SK, Rajasree K, Fasim A, Arakere G, Gopal B. Influence of the AgrC-AgrA complex on the response time of *Staphylococcus aureus* quorum sensing. *J Bacteriol*. 2014; 196: 2876-88.
- 7- Painter KL, Krishna A, Wigneshweraraj S, Edwards AM. What role does the quorum-sensing accessory gene regulator system play during *Staphylococcus aureus* bacteremia? *Trends Microbiol*. 2014; 22: 676-85.
- 8- Yarwood JM, Bartels DJ, Volper EM, Greenberg EP. Quorum sensing in *Staphylococcus aureus* biofilms. *J Bacteriol*. 2004; 186: 1838-50.
- 9- Geisinger E, George EA, Chen J, Muir TW, Novick RP. Identification of ligand specificity determinants in AgrC, the *Staphylococcus aureus* quorum-sensing receptor. *J Biol Chem*. 2008; 283: 8930-8.
- 10- Rudkin JK, Edwards AM, Bowden MG, et al. Methicillin resistance reduces the virulence of healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by interfering with the agr quorum sensing system. *J Infect Dis*. 2012; 205: 798-806.
- 11- Melamed Yerushalmi S, Buck ME, Lynn DM, Lemcoff NG, Meijler MM. Multivalent alteration of quorum sensing in *Staphylococcus aureus*. *Chem Commun (Camb)*. 2013; 49: 5177-9.
- 12- O'Rourke JP, Daly SM, Triplett KD, Peabody D, Chackerian B, Hall PR. Development of a mimotope vaccine targeting the *Staphylococcus aureus* quorum sensing pathway. *PloS one*. 2014; 9: 1111-98.
- 13- Rassouli G, Alebouyeh M, Amini B, Rassouli A, Zali M. Contamination status of food handlers, utensils and foodstuffs with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in a hospital kitchen. *J Zanzan Univ Med Sci*. 2015; 23: 24-35.
- 14- Atwood DN, Beenken KE, Loughran AJ, et al. XerC contributes to diverse forms of *staphylococcus aureus* infection via agr-dependent and agr-independent pathways. *Infect Immun*. 2016; 84: 1214-25.
- 15- Bokaeian M, Adabi J, Zeyni B, Tahmasebi H. The presence of aac (6') Ie / aph (2''), aph (3') - IIIa1, ant (4') - Ia1 genes and determining methicillin resistance in *Staphylococcus Epidermidis* and *Staphylococcus Saprophyticus* strains isolated from clinical specimens. *Arak Univ Med Sci*. 2017; 19: 11-25.
- 16- CLSI. M100-S25 performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-fifth informational supplement; 2015.

- 17- Arabestani MR, Rastiany S, Mousavi SF, Ghafel S, Alikhani MY. Identification of toxic shock syndrom and exfoliative toxin genes of *Staphylococcus aureus* in carrier persons, resistant and susceptible methicillin. *Tehran Univ Med Sci J*. 2015; 73: 554-60.
- 18- Bokaeian M, Tahmasebi H. Molecular identification of responsible resistance to aminoglycosides genes in clinical samples of *Staphylococcus aureus*. *J Babol Univ Med Sci*. 2017; 19: 100-119.
- 19- Pfaffl WM. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res*. 2001; 29: 45-55.
- 20- Wang B, Muir TW. Regulation of virulence in *Staphylococcus aureus*: molecular mechanisms and remaining puzzles. *Cell Chem Biol*. 2016; 23: 214-224.
- 21- Paulander W, Nissen Varming A, Baek KT, Haaber J, Frees D, Ingmer H. Antibiotic-mediated selection of quorum-sensing-negative *Staphylococcus aureus*. *mBio*. 2013; 3: e00459-12.
- 22- Le KY, Otto M. Quorum-sensing regulation in staphylococci—an overview. *Frontiers Microbiol*. 2015; 6: 160-175.
- 23- Bronesky D, Wu Z, Marzi S, et al. *Staphylococcus aureus* RNAIII and its regulon link quorum sensing, stress responses, metabolic adaptation, and regulation of virulence gene expression. *Annu Rev Microbiol*. 2016; 70: 299-316.
- 24- Rutherford ST, Bassler BL. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012; 2: 124-27.
- 25- Viedma E, Sanz F, Orellana MA, et al. Relationship between agr dysfunction and reduced vancomycin susceptibility in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* causing bacteraemia. *J Antimicrob Chemother*. 2014; 69: 51-8.
- 26- McCarthy H, Rudkin JK, Black NS, Gallagher L, O'Neill E, O'Gara JP. Methicillin resistance and the biofilm phenotype in *Staphylococcus aureus*. *Frontiers Cell Infect Microbiol*. 2015; 5: 350-66.
- 27- Cheung GYC, Wang R, Khan BA, Sturdevant DE, Otto M. Role of the accessory gene regulator agr in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pathogenesis. *Infect Immun*. 2011; 79: 1927-35.

The Relationship between Promoter-Dependent Quorum Sensing Induced Genes and Methicillin Resistance in Clinical Strains of *Staphylococcus aureus*

Dehbashi S¹, Tahmasebi H¹, Zeyni B¹, Arabestani MR^{1,2}

¹Dept. of Microbiology, Faculty of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

²Sutent Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Corresponding Author: Arabestani MR, Dept. of Microbiology, Faculty of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

E-mail: mohammad.arabestani@gmail.com

Received: 17 May 2017 **Accepted:** 19 Sep 2017

Background and Objective: Quorum sensing (QS) phenomenon, promoters involved in this pathway and the effect of these promoters on the expression of some structural genes, such as *agrA* and *P_{II}*, could reveal the proper activity and gene expression of antibiotic resistance in *S. aureus*. The aim of this study was defining the relationship between promoter-dependent Quorum Sensing induced genes and methicillin resistance in clinical strains of *S. aureus*.

Materials and Methods: In this analytical study, 315 isolates of *S. aureus* were collected. Resistant and susceptible strains were evaluated for the presence of promoter-dependent quorum sensing induced genes qualitatively and quantitatively. Calculating the gene expression of *agrA* and *P_{II}* was carried out by Real-Time PCR. Statistical analysis (descriptive and analytical) was done using SPSS version 16 software and the data analysis of gene expression was carried out by REST 2008 V3.

Results: Among 125 strains of *S. aureus* resistant to methicillin, 100 isolates (83/33%) had the promoter *P₂* gene and all isolates had the *agrA* gene and of 190 strains susceptible to methicillin, 84 isolates (44/21%) had the *P₂* gene and 169 isolated (88/94%) had the *agrA* gene. *P₂* and *AgrA* gene expression was greater in the resistant isolates in comparison to susceptible isolates.

Conclusion: In accordance with the results of this study, the association between quorum sensing /gene induction and drug resistance is a matter of importance.

Keywords: Quorum sensing, Drug resistance, *Staphylococcus aureus*, Gene expression