Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 14:48 IRST on Friday December 6th 2019

شیوع سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین مولد انتروتوکسین A و B

صفیه عباسی[1*]
ساسان طاعی[2]
بهنام زمانزاد[3]

۱- گروه میکروب‌شناسی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۲- گروه میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.
۳- گروه میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

*نویسنده مسئول: شهرکرد، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، گروه میکروب‌شناسی و ایمنی‌شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی تلفن: ۳۳٤٦۷۳۲ - ۰۳۸۱
E-mail: safiyehabbasi@rocketmail.com

چکیده

دریافت: ۱۳۹٤/۰٤/۰۱ پذیرش: ۱۳۹٤/۰۹/۲۲ آنلاین: ۱۳۹٤/۱۱/۲۸

زمینه و هدف: انتروتوکسین‌های A و B از جمله فاکتورهای بیماری‌زایی مهم *استافیلوکوکوس اورئوس* هستند که همگی سوپر آنتی‌ژن بوده و از جمله عوامل ناراحتی‌های گوارشی هستند. این مطالعه به‌منظور شیوع فراوانی ژن‌های مولد انتروتوکسین در سویه‌های بالینی *استافیلوکوکوس اورئوس* (SEA, SEB) جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های آموزشی شهرکرد انجام گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی- مقطعی، تعداد ۱۱۰ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* از بیماران بستری طی مدت هشت ماه از اردیبهشت ۱۳۹۳تا دی ۱۳۹۳ جمع‌آوری و نمونه‌ها در ابتدا با استفاده از روش‌های استاندارد بیوشیمیایی و آزمایشگاهی تعیین هویت شده و حداقل غلظت مهارکننده آن‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک اگزاسیلین به‌روش Broth micro dilution تعیین گردید. نمونه‌ها پس از کشت و تأیید آزمون‌های بیوشیمیایی توسط تکنیک Polymerase chain reaction (PCR) ارزیابی شدند.

یافته‌ها: تعداد ۱۱۰ نمونه آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شد که از این تعداد دو مورد (۱/۸٪) آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس حاوی هر دو ژن انتروتوکسین A و B بودند، همچنین، دو مورد (۱٪/۸) از نمونه‌های آلوده دارای انتروتوکسین B و ۲٦ مورد از نمونه بالینی حاوی ژن انتروتوکسین A (۲۳/٦٪) شناسایی گردید.

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های ما پیشنهاد می‌شود که شناسایی ژن‌های انتروتوکسین *استافیلوکوکوس اورئوس* از طریق PCR که یک روش اختصاصی، حساس، سریع و ارزان می‌باشد جایگزین روش‌های سنتی گردد.

کلمات کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین، ژن SEA، ژن SEB.

مقدمه

گونه‌های جنس استافیلوکوکوس یکی از شایع‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی در دنیا هستند.[1و2] در میان استافیلوکوکوس‌ها، *استافیلوکوکوس اورئوس* مهاجم‌ترین گونه بوده و به‌عنوان مسبب بیماری‌های مختلفی در انسان و حیوانات شناخته شده است.[1و2] بیشتر سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جداشده از بیمارانی با علایم سندرم شوک سمی (Toxic Shock Syndrome Toxin, TSS) توکسینی به‌نام توکسین سندرم شوک سمی-۱ (TSST-1) تولید می‌کنند که یک سوپرآنتی‌ژن می‌باشد.[3و4] انتروتوکسین‌های استافیلوکوکوسی متعلق به خانواده‌ای از اگزوتوکسین‌های استافیلوکوکوسی و استرپتوکوکوس با بیش از بیست عضو هستند که از نظر عملکردی با یکدیگر مرتبط و دارای همسانی و شباهت توالی هستند. نشان داده شده که این پروتیین‌های باکتریایی، تب‌زا بوده و عامل ایجاد بیماری‌های انسانی شاخصی مانند مسمومیت‌های غذایی و سندرم شوک سمی به‌شمار می‌روند. این سموم بیش‌تر توسط گونه *استافیلوکوکوس اورئوس* تولید می‌شود، در حالی‌که مشخص شده است که سایر گونه‌های استافیلوکوکوس نیز می‌توانند در تولید آن‌ها نقش داشته باشند.[5] توانایی ایزوله‌های *استافیلوکوکوس*

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 14:48 IRST on Friday December 6th 2019

اورئوس در ایجاد بیماری به تولید چندین نوع مختلف توکسین خارج سلولی بستگی دارد. انتروتوکسین‌های استافیلوکوکوسی سوپرآنتی‌ژن‌ها بوده و دارای قابلیت تحریک جمعیت‌های بزرگی از لنفوسیت‌های T هستند و منجر به تولید سایتوکین‌ها می‌گردند.[۶-۹] دست‌کم بیست سوپرآنتی‌ژن استافیلوکوکوس، تاکنون شناسایی و تشریح شده‌اند، که مشتمل بر انتروتوکسین‌های A-V و TSST-1 هستند. پروتیین‌های انتروتوکسین‌ها دارای مقاومت قابل‌توجهی در برابر حرارت و اسید هستند. بنابراین، این سموم به آسانی و با حرارت دادن ملایم غذاهای آلوده به‌طور کامل از بین نمی‌روند.[۹] ژن رمزکننده انتروتوکسین A استافیلوکوکوس (SEA) توسط یک باکتری فاژ معتدل حمل می‌شود.[۱۰و۱۱] ژن SEA متشکل از ۷۷۱ جفت باز بوده و رمزکننده پیش‌ساز انتروتوکسین متشکل از ۲۵۷ اسیدآمینه است.[۱۱] تاکنون بیشتر پژوهش‌هایی که بر روی توکسین‌های مسئول سندرم شوک سمی استافیلوکوکی در شهرکرد انجام شده است، بر روی منابع غذایی و حیوانی صورت گرفته[۱۱] و نیاز به اطلاعات بالینی در نمونه‌های انسانی در این زمینه احساس می‌شود. شناسایی سویه‌های توکسین‌زای *استافیلوکوکوس اورئوس* با استفاده از روش‌های ایمونولوژی مانند ایمونودیفیوژن، آگلوتیناسیون، رادیوایمونواسی و الایزا زمان‌بر، دشوار و فاقد ویژگی لازم است.[۱۲و۱۳] این مطالعه با هدف بررسی فراوانی ژن‌های انتروتوکسین‌های SEB و SEA مولد سندرم شوک سمی *استافیلوکوکوس اورئوس* در بیماران بستری در بیمارستان‌های آموزشی درمانی شهرکرد انجام گردید.

روش بررسی

در این پژوهش توصیفی، تعداد ۱۱۰ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* از بیماران بستری در بیمارستان‌های هاجر و کاشانی شهرکرد طی مدت هشت ماه از اردیبهشت ۱۳۹۳ تا دی ۱۳۹۳ جمع‌آوری و با استفاده از روش‌های استاندارد بیوشیمیایی و آزمایشگاهی تعیین هویت شدند.

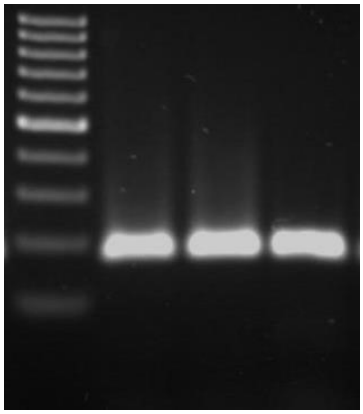
جداسازی و تعیین هویت: در مجموع ۱۱۰ ایزوله از بیماران بستری در بیمارستان‌های آموزشی شهرکرد جمع‌آوری و در ابتدا با استفاده از آزمون‌های استاندارد آزمایشگاهی، کلیه ایزوله‌ها توسط آزمون‌های کواگولاز لام و لوله‌ای، DNase و آزمون تخمیر مانیتول[۱۴] تعیین هویت شدند. سپس حداقل غلظت مهارکننده آنتی‌بیوتیک اگزاسیلین به‌روش Broth micro dilution بر اساس دستورکار و استانداردهای موجود در Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) مشخص گردید.[۱۵] سپس استخراج DNA ژنومی به‌شرح زیر انجام شد. تمامی ایزوله‌ها در ۰/۵ ml محیط Luria broth به‌مدت یک شبانه‌روز در ۳۷ °C در شیکر انکوباتور کشت داده شد. سپس تمامی نمونه‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد و به رسوب به‌دست‌آمده ۱۸۵ µl بافر TE (20 mM Tris chloride, 2 mM EDTA pH 8.0) و ۱۵ µl لیزواستافین نوترکیب (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) اضافه شد. در ادامه به‌مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ °C قرار داده شدند. پس از آن DNA ژنومی تمامی نمونه‌ها با استفاده از کیت Bioneer (Bioneer genomic DNA kit extraction) براساس دستورکار آن استخراج گردید.

جهت تایید غلظت مناسب DNA استخراجی، تمامی نمونه‌ها توسط NanoDrop 8000 UV-Vis Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA) در نسبت ۲۸۰/۲۶۰ A اندازه‌گیری شد.[۱۶] جهت بررسی وجود ژن SEA رمزکننده انتروتوکسین A در میان سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین از آزمون Polymerase Chain Reaction (PCR) با استفاده از جفت پرایمر اختصاصی ژن SEA که توسط Zouharova و همکاران طراحی گردیده، استفاده شد.[۱۷] در نهایت داده‌ها با SPSS software, version 20 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) پردازش و با Chi-square test تجزیه و تحلیل شد. P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

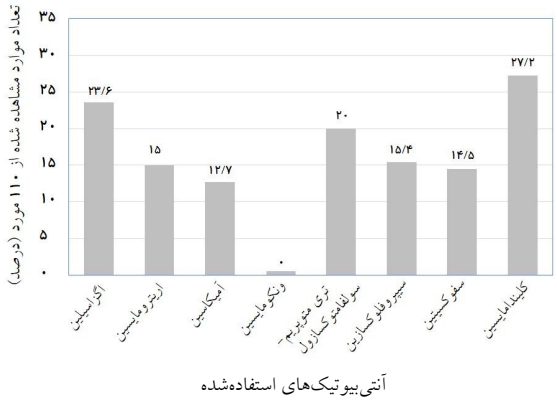
از ۱۱۰ نمونه بررسی شده، ۷۰ نفر مرد (۶۳٪/۶) و ۴۰ نفر زن (۳۳/۶٪) بودند. بیشترین افراد مورد مطالعه مربوط به گروه سنی ۳۰ سال بودند. در بررسی انجام‌شده تفاوت آماری معناداری در میزان شیوع سویه‌های دارای ژنوتیپ مقاومت به ونکومایسین در نمونه‌های بالینی مورد بررسی و فراوانی آن در بخش‌های بیماران بستری وجود نداشت (P= ۰/۴). توزیع فراوانی بیماران مبتلا در بخش‌های مختلف بیمارستان‌های آموزشی درمانی شهرکرد به‌ترتیب بیشترین نمونه‌ها به‌ترتیب از بخش مراقبت‌های ویژه ICU (۲۲/۷٪) عفونی (۱۵/۴٪) قلب (۱۴/۵٪) اطفال و نوزادان (۱۳/۶٪) جراحی (۹/۲٪) زنان (۹/۲٪) مجزا گردید. تست آنتی‌بیوگرام برای تمامی سویه‌های *استافیلوکوکوس*

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 14:48 IRST on Friday December 6th 2019



شکل ۱: آزمون PCR جهت شناسایی ژن SEA در میان سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین. ۱: کنترل مثبت. ۲ و ۳: نمونه‌های مربوط به سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین واجد ژن SEA

مارکر وزنی ۱۰۰۰bp، باند مورد انتظار ۱۸۱ bp مربوط به ژن SEA مشاهده گردید.



نمودار ۱: درصد مقاومت سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی

اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان‌های آموزشی شهرکرد انجام گرفت و الگوی مقاومتی سویه‌های مجزا شده به هفت نوع دیسک آنتی‌بیوتیکی شامل آمیکاسین، سفوکسیتین، تری متوپریم سولفومتوکسازول، ونکومایسین، اگزاسیلین، سیپروفلوکساسین، اریترومایسین، کلیندامایسین به‌روش دیسک دیفیوژن مورد بررسی قرار گرفت. میزان مقاومت آن‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی در نمودار ۱ مشاهده می‌شود. پس از انتخاب ۲۶ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین به‌روش دیسک دیفیوژن، (Minimum inhibitory concentration, MIC) سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک اگزاسیلین مشخص گردید.

بر این اساس مشخص گردید که MIC در پنج سویه (۴/۵٪) برابر یا بیش از ۵۱۲ µg/ml، در ۱۲ سویه (۱۰٪) برابر یا بیش از ۲۵۶ µg/ml و در ۹ سویه (۸/۱٪) برابر یا بیش از ۶۹ µg/ml بود. همچنین نتایج حاصل از آزمون تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد که ۲۶ سویه به‌روش دیسک دیفیوژن نسبت به اگزاسیلین مقاوم هستند. نتایج حاصل از آزمون PCR موجود در شکل ۱ برای جستجوی ژن SEA نشان داد که تمامی ۲۶ سویه (۲۳/۶٪) *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین نیز واجد ژن SEA بوده و همچنین از میان تمامی نمونه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* تنها دو سویه (۱/۸٪) واجد ژن SEB بود.

بحث

در پژوهش کنونی از میان ۱۱۰ نمونه‌ی بالینی به‌دست‌آمده از بیمارستان‌های آموزشی درمانی شهرکرد ۲۶ سویه (۲۳/۶٪) مقاوم به اگزاسیلین گزارش گردید، که تمامی سویه‌های مقاوم به اگزاسیلین واجد ژن SEA و تنها دو سویه واجد ژن SEB بود. بیشتر بررسی‌هایی که بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* تولیدکننده توکسین‌های SEA و SEB در شهرکرد انجام گرفته است بیشتر بر روی ایزوله‌های حیوانی و منابع غذایی بوده است.

در این مطالعه برای اولین بار به بررسی حضور توکسین‌های SEA و SEB در بیماران آلوده به عفونت‌های استافیلوکوکوس مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های آموزشی درمانی شهرکرد پرداخته است. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش، تمامی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین نسبت به کلرامفنیکل، لینزولید و ونکومایسین حساسیت کامل داشتند که این یافته مشابه با مطالعه‌ای است که در شیراز در سال ۲۰۱۱ انجام گرفت بود.[۱۸] در میان سویه‌های بالینی هیچ‌گونه مقاومتی نسبت به سینرسید، لینزولید و ونکومایسین مشاهده نشد و تمامی سویه‌ها نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها حساس بودند. در این بررسی در مجموع ۲۳/۶٪ از سویه‌ها از مقاومت بسیار بالایی نسبت به اگزاسیلین برخوردار بودند. در مورد میزان MIC اگزاسیلین سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین گزارشات مختلفی در دست است. در پژوهش‌های

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 14:48 IRST on Friday December 6th 2019

مختلفی که در شهر تهران انجام گرفت مشخص شد، بیشتر سویه‌ها از مقاومت بالایی نسبت به اگزاسیلین برخوردار بودند.

Ekrami و همکاران نشان دادند که ۹۳٪ از سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین دارای MIC برابر یا بیش از ۵۱۲ µg/ml بودند.[۱۹] در پژوهش Javan و همکاران، ۹۵/۵٪ سویه‌ها MIC برابر یا بیش از ۵۱۲ µg/ml داشتند.[۲۰] وجود سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین در این مطالعه (۲۳/۶٪) و همچنین در مطالعات پیشین ناشی از تجویز بی‌رویه و مصرف خودسرانه دارو است که در صورت عدم اجرای برنامه‌های مناسب در جهت نظارت بیش‌تر بر تجویز و مصرف دارو، عواقب بسیار ناگواری مانند افزایش هزینه‌های درمان، نیاز به نسل‌های جدیدتر آنتی‌بیوتیک با قیمت‌های بالاتر و عوارض بیش‌تر را به‌همراه خواهد داشت. *استافیلوکوکوس اورئوس* قادر به تولید طیف وسیعی از پروتیین‌ها ازجمله انتروتوکسین است که می‌تواند باعث ناراحتی‌های گوارشی و مسمومیت‌های غذایی در افراد شود. شیوع مسمومیت با انتروتوکسین A استافیلوکوکوسی بیش‌تر از سایر انتروتوکسین‌ها است.[۲۱]

انواع روش‌های مختلفی که برای شناسایی انتروتوکسین‌های باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* استفاده می‌شود عبارتند از: آگلاتیناسیون لاتکس، الایزا، ایمونودیفوژن و رادیو ایمنواسی که در همه این روش‌ها نیاز به فراهم شدن شرایطی برای بیان شدن ژن انتروتوکسین استافیلوکوکوسی است. در حالی‌که ممکن است باکتری در شرایط خاص با وجود داشتن ژن تولیدکننده سم، قادر به تولید آن نباشد و نتایج به‌دست‌آمده در روش‌های بیان‌شده را منفی کند. یکی از معایب روش‌های بالا این است که این روش‌ها افزون بر صرف زمان جهت ایجاد شرایط مناسب برای تولید سم توسط باکتری و وجود واکنش‌های متقاطع، امکان ایجاد پاسخ‌های کاذب وجود دارد.[۲۲] اما در روش مولکولی که با شناسایی ژن رمزکننده سم انجام می‌شود، می‌توان پیش از تولید سم توسط باکتری، ژن‌های رمزکننده انتروتوکسین‌های استافیلوکوکوسی را شناسایی و دسته‌بندی نمود. این روش‌ها علاوه بر داشتن سرعت بالا، از حساسیت و اختصاصیت بالایی نیز برخوردار هستند.[۲۳]

در این پژوهش تنها در ۷/۶٪ سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین واجد ژن SEB و تمامی ایزوله‌ها واجد ژن SEA بودند. در مطالعه Barati و همکاران، ۹۸ نمونه مربوط به بیماران، ناقلین سالم و نمونه‌های محیطی، مشخص گردید که تنها ۷٪ از سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* واجد ژن SEA بودند.[۲۴] در مطالعه Saadati و همکاران بر روی ۱۵۰ سویه به‌دست‌آمده از ناقلین بینی ۴۳/۱٪ انجام گرفت، سویه‌ها از نظر ژن‌های SEA، sec و seq مثبت بوده و ۲۵/۳٪ واجد ژن SEA، ۹/۵٪ واجد ژن sec، ۴/۸٪ واجد ژن seq بودند.[۲۵] همچنین در یک مطالعه در بررسی ۱۲۸ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* جداسازی شده از بیماران فراوانی ژن SEA ۴۶/۹٪ بود.[۲۶] همچنین در مطالعه Klotz و همکاران، از ۹۳ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از مدفوع بیماران، ۱۳٪ واجد ژن SEA بودند.[۲۷]

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تفاوت بسیار زیادی از نظر شیوع ژن مربوط به انتروتوکسین A در میان سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین نسبت به سایر پژوهش‌های مشابه وجود دارد. از میان ۲۶ سویه مورد مطالعه تنها در دو سویه (۷٪/۶) ژن SEB و تمامی ایزوله‌ها دارای ژن SEA بودند. از آنجا که انتروتوکسین A شایع‌ترین عامل ایجاد مسمومیت‌های غذایی و ناراحتی‌های گوارشی ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌شمار می‌رود، بنابراین شیوع بیان این ژن در سویه‌های مورد مطالعه در بیمارستان‌ها می‌تواند یک هشدار و خطر جدی برای بهداشت جامعه باشد.

از فواید غیرقابل انکار این مطالعه می‌توان به شناسایی ژن عامل ایجاد مسمومیت غذایی استافیلوکوکی حتی پیش از تولید سم اشاره کرد. بنابراین، با استفاده از روش PCR می‌توان کانون‌های خطر را به سرعت شناسایی و از بروز مسمومیت احتمالی جلوگیری به‌عمل آورد. با توجه به اهمیت بالینی و پتانسیل بالای این ارگانیسم‌های مولد توکسین و لزوم توجه بیشتر به آن‌ها با به‌کارگیری راهکارهای مناسب درمانی و ابزارهای مناسب کنترل عفونت ضروری است.

سپاسگزاری: این مطالعه بخشی از طرح تحقیقاتی دانشجویی کارشناسی ارشد با عنوان "بررسی فراوانی ژن‌های ویرولانس etA, etB در *استافیلوکوکوس اورئوس*‌های مقاوم به متی‌سیلین کسب‌شده از جامعه در بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های آموزشی درمانی شهرکرد به‌روش PCR" با شماره ۲۵۵۰-۷۷-۰۱-۱۳۹۴ می‌باشد که از فروردین ۱۳۹۳ تا بهمن ۱۳۹۳ در بخش میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام گردید. از حمایت‌های مالی و معنوی این مرکز قدردانی می‌گردد.

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 14:48 IRST on Friday December 6th 2019

References

1. DeLeo FR, Chambers HF. Reemergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era. *J Clin Invest* 2009;119(9):2464-74.
2. van Belkum A. Staphylococcal colonization and infection: homeostasis versus disbalance of human (innate) immunity and bacterial virulence. *Curr Opin Infect Dis* 2006;19(4):339-44.
3. Pinchuk IV, Beswick EJ, Saada JI, Suarez G, Winston J, Mifflin RC, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 production by intestinal myofibroblasts in response to staphylococcal enterotoxin a: relevance to staphylococcal enterotoxigenic disease. *J Immunol* 2007;178(12):8097-106.
4. Balaban N, Rasooly A. Staphylococcal enterotoxins. *Int J Food Microbiol* 2000;61(1):1-10.
5. Choi YW, Kotzin B, Herron L, Callahan J, Marrack P, Kappler J. Interaction of Staphylococcus aureus toxin "superantigens" with human T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86(22):8941-5.
6. Al-Daccak R, Mehindate K, Damdoumi F, Etongué-Mayer P, Nilsson H, Antonsson P, et al. Staphylococcal enterotoxin D is a promiscuous superantigen offering multiple modes of interactions with the MHC class II receptors. *J Immunol* 1998;160(1):225-32.
7. Alouf JE, Müller-Alouf H. Staphylococcal and streptococcal superantigens: molecular, biological and clinical aspects. *Int J Med Microbiol* 2003;292(7-8):429-40.
8. Schlievert PM, Bohach GA, Ohlendorf DH, Stauffacher CV, Leung DY, Murray DL, et al. Molecular structure of staphylococcus and streptococcus superantigens. *J Clin Immunol* 1995;15(6 Suppl):4S-10S.
9. Le Loir Y, Baron F, Gautier M. Staphylococcus aureus and food poisoning. *Genet Mol Res* 2003;2(1):63-76.
10. Borst DW, Betley MJ. Promoter analysis of the staphylococcal enterotoxin A gene. *J Biol Chem* 1994;269(3):1883-8.
11. Imani-Fooladi AA, Riazipour M, Sattari M. Molecular and serological detection of Enterotoxigenic Staphylococcus aureus from traditionally dairy products. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2010;11(4):19-26. [Persian]
12. Betley MJ, Mekalanos JJ. Nucleotide sequence of the type A staphylococcal enterotoxin gene. *J Bacteriol* 1988;170(1):34-41.
13. Kateete DP, Kimani CN, Katabazi FA, Okeng A, Okee MS, Nanteza A, et al. Identification of Staphylococcus aureus: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2010;9:23.
14. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). Performance Standards for Aantimicrobial Susceptibility Testing. 16th Informational Supplement. Wayne, PA: CLSI, 2006.
15. Clinical and Laboratory Standard Institute C. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A7. Wayne, Pa. 2006.
16. Mehrotra M, Wang G, Johnson WM. Multiplex PCR for detection of genes for Staphylococcus aureus enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. *J Clin Microbiol* 2000;38(3):1032-5.
17. Zouharova M, Rysanek D. Multiplex PCR and RPLA Identification of Staphylococcus aureus enterotoxigenic strains from bulk tank milk. *Zoonoses Public Health* 2008;55(6):313-9.
18. Japoni A, Jamalidoust M, Farshad S, Ziyaeyan M, Alborzi A, Japoni S, et al. Characterization of SCCmec types and antibacterial susceptibility patterns of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Southern Iran. *Jpn J Infect Dis* 2011;64(1):28-33.
19. Ekrami A, Samarbafzadeh A, Alavi M, Kalantar E, Hamzeloi F. Prevalence of methicillin resistant Staphylococcus species isolated from burn patients in a burn center, Ahvaz, Iran. *Jundishapur J Microbiol* 2011;3(2):84-91.
20. Javan E, Falahati HR, Saifi M, Talebi M, Pourshafie MR. Study of mecA gene among high level oxacillin resistance Staphylococcus aureus strains isolated from Tehran hospitals. *Iran J Infect Dis Trop Med* 2010;15(12):17-22.
21. Bystroń J, Molenda J, Bania J, Kosek-Paszkowska K, Czerw M. Occurrence of enterotoxigenic strains of Staphylococcus aureus in raw poultry meat. *Pol J Vet Sci* 2005;8(1):37-40.
22. Park CE, Akhtar M, Rayman MK. Simple solutions to false-positive staphylococcal enterotoxin assays with seafood tested with an enzyme-linked immunosorbent assay kit (TECRA). *Appl Environ Microbiol* 1993;59(7):2210-3.
23. Garcia-Garcia AB, Blesa S, Martinez-Hervas S, Mansego ML, Gonzalez-Albert V, Ascaso JF, et al. Semiquantitative multiplex PCR: a useful tool for large rearrangement screening and characterization. *Hum Mutat* 2006;27(8):822-8.
24. Barati B, Saadati M, Bahmani M Kh. Isolation and detection of enterotoxigenic staphylococcus aureus type a by multiplex PCR. *J Mil Med* 2006;8(2):119-28.
25. Saadati M, Barati B, Doroudian M, Shirzad H, Hashemi M, Hosseini SM, et al. Detection of Sea, Seb, Sec, Seq genes in staphylococcus aureus isolated from nasal carriers in Tehran province, Iran; by multiplex PCR. *J Paramed Sci* 2011;2(2):34-40.
26. Pourmand MR, Memariani M, Hoseini M, Bagherzadeh Yazdchi S. High prevalence of SEA gene among clinical isolates of Staphylococcus aureus in Tehran. *Acta Med Iran* 2009;47(5):357-61.
27. Klotz M, Opper S, Heeg K, Zimmermann S. Detection of Staphylococcus aureus enterotoxins A to D by real-time fluorescence PCR assay. *J Clin Microbiol* 2003;41(10):4683-7.

TUMJ monthly Tehran University Medical Journal
Tehran University Medical Journal, February 2016; Vol. 73, No. 11: 778-783 Original Article

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 14:48 IRST on Friday December 6th 2019

The prevalence of methicillin-resistant *Staph. aureus* strains producing enterotoxin A and B

Safiyeh Abbasi M.Sc.[1*]
Sassan Taei M.Sc.[2]
Behnam Zamanzad M.D.[3]

1- Department of Medical Microbiology, Student's Research Committee, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.
2- Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran.
3- Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.

[*] Corresponding author: Department of Microbiology, Immunology, Student's Research Committee, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.
Tel: +98 381 3346732
E-mail: safiyehabbasi@rocketmail.com

Abstract

Received: 22 Jun. 2015 Accepted: 13 Dec. 2015 Available online: 17 Feb. 2016

Background: *Staphylococcus aureus* is a gram positive coccus which is able to cause different kinds of infection in certain condition. The function of this bacteria is to provide the conditions for the invasion of it to the host with the secretion of different sorts of toxins such as *Staphylococcus aureus* enterotoxin, including important virulence factors that super antigens are all factors digestive inconvenience. Staphylococcus aureus enterotoxin-secreting toxins such conditions provides invasion of host genes. There are different types of SE, but type A enterotoxin (SEA) and type B enterotoxin (SEB) are the most important types. Therefore, in this study, the prevalence of *Staphylococcus aureus* toxin-producing enterotoxin genes (SEB, SEA) in clinical strains isolated from patients in teaching hospitals of Shahrekord city, Iran, were studied.

Methods: This cross-sectional and descriptive study, which was conducted from May 2014 to December 2014. A hundred and ten isolates of *Staphylococcus aureus* from patients collected over a period of 8 months and were first identified using standard biochemical methods and laboratory. Using standard methods and laboratory tests were identified and compared with the antibiotic oxacillin minimum inhibitory concentration were determined by broth micro dilution, and then they were assessed by polymerase chain reaction (PCR) technique.

Results: The results indicated that, 110 samples of dairy products infected by *Staphylococcus aureus* were detected. Two cases (1.8%) of these infected samples were carrying both enterotoxin A and enterotoxin B genes. The frequencies of enterotoxin A genes were twenty-six cases (23/6%) and The frequencies of enterotoxin B genes were two cases (1/8%), respectively.

Conclusion: The detection of enterotoxin A and enterotoxin B genes, shows the most important role they have in bringing about superinfection. The detection of enterotoxin A and B genes, shows the most important role they have in bringing about superinfection. Enterotoxins SEA and SEB are heat stable; therefore heating has no effect on dairy products contaminated by enterotoxins and gastritis may occur in a short period of time. As PCR is a rapid, sensitive, specific and inexpensive method, we suggest that it can be replaced to traditionally assays for detecting *Staphylococcus aureus* enterotoxin.

Keywords: methicillin-resistant *staphylococcus aureus*, staphylococcal enterotoxin A, staphylococcal enterotoxin B.