

## تشخیص ژن‌های سندرم شوک سمی و آگرفولیاتیو در سویه‌های استافیلوکوک اورئوس جدا شده از اشخاص ناقل، مقاوم و حساس به متی‌سیلین

### چکیده

دریافت: ۱۳۹۴/۰۴/۱۶ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۶/۰۷ آنالین: ۱۳۹۴/۰۷/۱۶

**زمینه و هدف:** استافیلوکوکوس اورئوس فاکتورهای مختلف شامل توکسین سندرم شوک سمی (*TSST-1*) و آگرفولیاتیو (*ET*) را تولید می‌کند که در کلونیزه شدن و ایجاد بیماری نقش دارند. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی ژن‌های *TSST-1* و *ET* در ایزوله‌های کلینیکی استافیلوکوکوس اورئوس بود.

**روش بررسی:** این مطالعه به صورت مقطعی بر روی ۱۰۰ سویه استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (*MRSA*) و ۱۰۰ سویه استافیلوکوک اورئوس حساس به متی‌سیلین (*MSSA*) جدا شده از نمونه‌های بالینی بیماران بستری، سرپایی و ناقلین بیمارستان‌های آموزشی شهر همدان از مهر ۱۳۹۲ تا مرداد ۱۳۹۳ انجام گرفت. گونه‌های شناسایی شده به روش بیوشیمیایی با استفاده از تکنیک مولکولی Polymerase chain reaction (*PCR*) نیز تایید شدند. الگوی حساسیت دارویی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن انجام شد. وجود ژن‌های *TSST-1* و *ET* با روش *PCR* مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** بیشترین حساسیت و مقاومت سویه‌های *MRSA*، *MSSA* و سویه‌های ناقلین در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها به ترتیب شامل کلیندامایسین و سپیروفلوکسازین، کلیندامایسین و تتراسایکلین، اریترومایسین و جنتامایسین مشاهده شد. به‌طور کلی (۱۳٪) ۲۶ سویه از ۲۰۰ دارای ژن توکسین سندرم شوک سمی و آگرفولیاتیو بودند. فراوانی مربوط به ژن *TSST-1* (۱۱٪) ۲۲ و فراوانی ژن *ETD* (۲٪) ۴ می‌باشد. با توجه به نتایج آماری ارتباطی بین سویه‌های *MRSA* و *MSSA* با ژن‌های *TSST-1* و *ETD* دیده نشد (به ترتیب با  $P=0/058$  و  $P=0/36$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان می‌دهد که میزان شیوع استافیلوکوکوس اورئوس حامل *TSST-1* در شهر همدان موضوع نگران کننده‌ای است. گردش این ایزوله‌ها در افراد جامعه به ویژه افراد مسن و افراد دچار نقص سیستم ایمنی در کشور و در افراد سالم که گاه تا ۶۰-۵۰٪ می‌رسد، دارای اهمیت می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** مطالعه مقطعی، استافیلوکوکوس اورئوس، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، توکسین سندرم شوک سمی (*TSST-1*)، توکسین آگرفولیاتیو (*ET*).

محمد رضا عربستانی<sup>۱</sup>  
سحر راستیانی<sup>۱</sup>  
سید فضل‌الله موسوی<sup>۲</sup>  
صفیه غافل<sup>۱</sup>، محمد یوسف علیخانی<sup>۱\*</sup>

۱- گروه میکروپزشناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.  
۲- گروه میکروپزشناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران.

\* نویسنده مسئول: همدان، دانشگاه علوم پزشکی همدان، دانشکده پزشکی، گروه میکروپزشناسی، ایران.  
تلفن: ۰۸۱-۳۸۳۸۰۱۳۰  
E-mail: alikhani43@yahoo.com

### مقدمه

می‌شود و می‌تواند بیماری‌های مختلفی در انسان و حیوان ایجاد کنند.<sup>۱</sup> مجاری قدامی بینی، اغلب جایگاه کلونیزه شدن استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد و این کلونیزه شدن، باعث افزایش خطر ابتلا به عفونت‌های استافیلوکوکی در زمان ضعف و آسیب سیستم دفاعی میزبان می‌شود. در سال‌های اخیر بروز عفونت‌های

گونه‌های جنس استافیلوکوک اورئوس یکی از شایعترین عوامل عفونت‌های کسب شده در سطح جامعه و بیمارستان در سراسر دنیا می‌باشند که به‌طور معمول در سطح پوست و سطوح مخاطی دیده

است. <sup>۹-۷</sup> ETA، ۲۶۹۵۰ دالتون وزن و دارای ۲۰۶ آمینو اسید و ETB، ۲۷۲۷ دالتون وزن و ۲۴۶ آمینو اسید دارد. علاوه بر این دو تیپ دیگر از آگروفلیاتو شامل C(ETC) و D(ETD) نیز در استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی شده است که ETC با ۲۷ کیلو دالتون وزن و حساس در برابر حرارت است و ETD در سویه‌ی N315 و ty114 شناسایی شده است.<sup>۱۱</sup>

روش‌های مختلفی برای شناسایی سم این باکتری از جمله لانتکس آگلانتیناسیون،<sup>۱۲</sup> ایمونوکروماتوگرافی<sup>۱۴</sup> و لانتکس ایمونواسی<sup>۱۵</sup> وجود دارد که در همه این روش‌ها نیاز به فراهم شدن شرایطی برای بیان ژن‌های انتروتوکسین استافیلوکوک می‌باشد تا بتوان نسبت به شناسایی این سموم اقدام نمود. لازم به یادآوری است که در این روش‌ها وجود سم مورد بررسی قرار می‌گیرد. این در حالی است که باکتری در شرایط خاص با وجود داشتن ژن تولیدکننده سم قادر به بیان آن نباشد و نتایج به‌دست آمده در روش‌های یادشده منفی گردد. از این رو با به‌کارگیری روش‌های مولکولی می‌توان سوش‌هایی را که به میزان کم سم تولید می‌کنند شناسایی نمود.<sup>۱۶</sup> فاکتورهای ویروالانس زیادی در استافیلوکوکوس اورئوس، TSST، SE، ET در تهاجم به میزبان و آسیب رساندن به پوست، مخاط‌ها، عفونت‌های گاستروانتریت و تهاجم به مکانیسم دفاعی میزبان نقش دارند.<sup>۹</sup>

برای تعیین نقشه ژنتیکی، توکسین‌های سویه‌های استافیلوکوک اورئوس لازم است تا ارتباط ژنتیکی و اپیدمیولوژی استافیلوکوک اورئوس را درک کرد. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی ژن‌های توکسین سندرم شوک سمی (TSST-1) و آگروفلیاتو (ET) در ایزوله‌های کلینیکی استافیلوکوک اورئوس‌های مقاوم و حساس به متی‌سیلین جدا شده با روش مولکولی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (Polymerase Chain Reaction) بود.

## روش بررسی

جمع‌آوری نمونه‌ها، این مطالعه به صورت مقطعی در ۱۰۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و ۱۰۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی‌سیلین به‌دست آمده از نمونه‌های بالینی بیماران سرپایی و بستری در بیمارستان‌های آموزشی

استافیلوکوکوسی به دلیل افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، افزایش بیماران با ضعف سیستم ایمنی و استفاده بیش از حد از وسایل پزشکی مانند کاتترها رو به افزایش است.<sup>۲</sup> استافیلوکوکوس اورئوس فاکتورهای ویروالانس متعددی از جمله آگروپروتین‌های مختلف شامل توکسین سندرم شوک 1 (Toxic shock syndrome toxin 1) (TSST-1) و آگروفلیاتو (ET) را تولید می‌کند که در کلونیزه شدن و ایجاد بیماری در میزبان‌های مختلف نقش دارند. توکسین‌های TSST-1 و I جزو سوپر آنتی‌ژن‌های توکسین پیروژنیک Pyrogenic toxin super antigens (PTSAgs) می‌باشند که می‌توانند تاثیرات بسیار مهمی بر روی میزبان خود ایجاد کنند و می‌توانند سیستم ایمنی را به‌طور غیراختصاصی در غلظت‌های کم تحریک کنند.<sup>۳</sup>

سندرم شوک توکسیک یک بیماری سیستمیک است که اولین بار توسط Todd و همکارانش معرفی شد.<sup>۴</sup> این سندرم توسط سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس دارای ژن TSST-1 ایجاد می‌شود. توکسین TSST-1 یک پروتیین با ژن ملکولی تقریباً ۲۴۰۰۰ دالتون و دارای سه تیپ A، B و C به‌عنوان عامل اصلی سندرم شوک توکسیک در نظر گرفته شد که ۷۵٪ تمام مواد سندرم شوک توکسین را ایجاد می‌کند. این توکسین تقریباً توسط تمام سویه‌های اورئوس مربوط به دوره‌ی قاعدگی و تعداد زیادی از سویه‌های غیروابسته به قاعدگی سنتز می‌شود. همچنین این پروتیین در ایزوله‌های جدا شده از افراد سالم نیز دیده شده است.<sup>۵</sup>

ژن TSST کروموزومی است و از نظر بالینی با گروه توکسین‌های انتروتوکسین ارتباط دارد اما از نظر ایمونولوژی و ساختاری شباهت کمی در ساختمان اسیدهای آمینه آنها با انتروتوکسین‌ها و آگروتوکسین‌های تب‌زای خارجی دیده می‌شود. علاوه بر TSST-1 توکسین‌های zec نیز می‌توانند باعث ایجاد علائم سندرم شوک سمی شوند.<sup>۸-۶</sup>

برخی از سویه‌های اورئوس یک یا دو توکسین آگروفلیاتو متفاوت از نظر ایمونولوژیکی تولید می‌کنند. توکسین آگروفلیاتو (ETA) یا ETB با بیماری‌های زردزخم (Impetiginous) و سندرم فلسی شدن پوست (Scalded skin syndrome) در ارتباط است.<sup>۴-۶</sup> اگرچه ETA و ETB از نظر ژنتیکی و فعالیت بیولوژیکی مشابه هم هستند، اما ژن کدکننده‌ی ETA کروموزومی و مقاوم در برابر حرارت در حالی که ژن B پلاسمید پیوسته شده و حساس در برابر حرارت

شهر همدان طی سال‌های ۹۳-۱۳۹۲ انجام گرفت. جداسازی و شناسایی سویه‌ها: شناسایی جنس استافیلوکوک بر اساس رنگ آمیزی گرم، واکنش کاتالاز، تخمیر مانیتول، تست‌های بیوشیمیایی (کاتالاز مثبت، کواگولاز و DNase) و انکوبه کردن در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۴ ساعت استفاده شد.<sup>۱۷</sup> در مرحله بعد به منظور تایید گونه‌های استافیلوکوک/اورئوس با هدف ژن *Nuc* اختصاصی استافیلوکوک/اورئوس انجام شد.<sup>۱۸</sup>

## یافته‌ها

توزیع فراوانی سویه‌های استافیلوکوک در بخش‌های مختلف بیمارستان‌های آموزشی شهر همدان نشان داد که بیش‌ترین میزان شیوع سویه‌های استافیلوکوک در بخش عفونی ۵۱ (۲۵/۵٪) و کم‌ترین میزان شیوع سویه‌های استافیلوکوک در بخش تنفسی ۸ (۴٪) و در بقیه بخش‌های ICU ۲۴ (۱۷٪)، دیالیز ۲۸ (۱۴٪)، جراحی ۲۹ (۱۴/۵٪) و سوپ بینی ۵۰ (۲۵٪) بیمارستان‌های آموزشی این شهر بود. سویه‌های استافیلوکوک دارای بیش‌ترین فراوانی نسبی در نمونه خون بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های آموزشی شهر همدان بودند (۲۹٪) و ترشحات عفونی دارای کم‌ترین فراوانی نسبی سویه‌های استافیلوکوک بودند (۲٪).

در تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش انتشار دیسک، از ۹ آنتی‌بیوتیک استفاده شده و میزان مقاومت ۱۰۰ سویه MRSA و ۱۰۰ سویه MSSA مورد بررسی نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها مشخص گردید. جهت کنترل کیفی دیسک‌ها و محیط کشت Muller Hinton از سویه کنترلی ATCC 25423 استفاده شد و هاله‌های عدم رشد با جدول CLSI مطابقت داده شد. نتایج به‌دست آمده از آنتی‌بیوگرام سویه‌ها مطابق با دستورکار Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ارائه شد (جدول ۱).

به‌طور کلی ۲۶ (۱۳٪) سویه از ۲۰۰ سویه استافیلوکوکوس/اورئوس جدا شده از نمونه‌های جدا شده دارای ژن توکسین سندرم شوک سمی و اگزفولیاتیو بودند. فراوانی مربوط به ژن *TSST*، (۱۱٪) و فراوانی ژن *ETD* (۲٪) ۴، می‌باشد. در هیچکدام از نمونه‌ها ژن *ETA* جدا نگردید. از این تعداد ۱۴ سویه (۵۳/۸۴٪) در نمونه‌های MRSA و ۱۲ سویه (۴۶/۱۵٪) در نمونه‌های MSSA مشاهده گردیدند.

بیشترین فراوانی توکسین‌ها به ترتیب در خون (۵۰٪) ۱۳، ادرار (۲۳/۱٪) ۶ و زخم (۱۵/۳۹٪) ۴ گزارش گردید و در سویه‌های جدا

استخراج DNA: استخراج تمامی سویه‌ها به کمک لیزوزیم و کیت مناسب BioFlux Co., Japan انجام گرفت. واکنش PCR ژن‌های موردنظر *eta dsst nuc* و *etd* با حجم نهایی  $20\ \mu\text{l}$  شامل  $2\ \mu\text{l}$  DNA الگو،  $1\ \mu\text{l}$  از هر پرایمر،  $10\ \mu\text{l}$  مستر میکس،  $6\ \mu\text{l}$  آب دو بار تقطیر با استفاده از Thermal Cycler (Mastercycler, Eppendorf AG, Hamburg, Germany) انجام گرفت.

شرایط بهینه PCR برای هر دو ژن به شرح زیر بود: دناتوراسیون اولیه در دمای  $94^{\circ}\text{C}$  به مدت پنج دقیقه، دناتوراسیون ثانویه در دمای  $94^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ ثانیه، آنلینگ در  $55^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵۵ ثانیه و طویل شدن اولیه در  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۶۰ ثانیه که این چرخه‌ها ۳۵ بار تکرار شد و طویل شدن ثانویه در  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. از ژل آگارز ۱٪ و سایز مارکر ۱۰۰ bp (Fermentas, Germany) و برای الکتروفورز محصولات PCR جهت شناسایی ژن *nuc* با طول قطعه  $279\ \text{bp}$  *eta* با طول قطعه  $190\ \text{bp}$ ، ژن *etd* با طول قطعه  $358\ \text{bp}$  و ژن *TSSST* با طول قطعه  $180\ \text{bp}$  استفاده شد.<sup>۱۹</sup> در این مطالعه از آب دو بار تقطیر به جای DNA سویه کنترل منفی استفاده گردید.

تعیین حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی: تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ۱۰۰ سویه MRSA و ۱۰۰ سویه MSSA با تهیه سوسپانسیون میکروبی با کدورت ۰/۵ مک‌فارلند به روش انتشار دیسک (Disk diffusion) و با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی در محیط Muller Hinton agar انجام شد. دیسک‌های مورد استفاده در این مطالعه شامل: ونکوماپسین ( $30\ \mu\text{g}$ )، تیکوپلانین ( $30\ \mu\text{g}$ )، اریتروماپسین ( $15\ \mu\text{g}$ )، تتراسایکلین ( $30\ \mu\text{g}$ )، سیپروفلوکساسین ( $5\ \mu\text{g}$ )، کلینداماسین ( $2\ \mu\text{g}$ )، کوتریموکسازول ( $25\ \mu\text{g}$ )، ریفاماسین ( $5\ \mu\text{g}$ ) و جنتامایسین ( $10\ \mu\text{g}$ )

جدول ۱: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین و حساس به متی‌سیلین

آنتی‌بیوتیک‌ها	مقاوم به متی‌سیلین تعداد(درصد)*	حساس به متی‌سیلین تعداد(درصد)**	P***
اریترومايسين	۹۲(۹۲)	۶۸(۶۸)	۰/۰۰۰۱
تتراسایکلین	۹۱(۹۱)	۵۲(۵۲)	۰/۰۰۰۱
جنتامایسین	۹۰(۹۰)	۲۵(۲۵)	۰/۰۰۹
کلیندامایسین	۸۰(۸۰)	۴۶(۴۶)	۰/۰۰۱
سیپروفلوکساسین	۹۵(۹۵)	۶۶(۶۶)	۰/۰۰۰۱
ریفامپین	۸۵(۸۵)	۴۵(۴۵)	۰/۰۰۰۱
تریمتوپریم / سولفامتوکسازول	۸۵(۸۵)	۶۶(۶۶)	۰/۰۰۰۱
سفوکتین	۱۰۰(۱۰۰)	۰	۰/۰۰۰۱
ونکومايسين	۰	۰	۰

\* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* \*\* Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*\*\*\* آزمون آماری: Chi-square و مقادیر معنادار  $P \leq 0.05$ .

جدول ۲: نتایج آنالیز K-2 برای تعیین همبستگی و ارتباط بین گروه‌های MRSA و MSSA با توکسین‌ها

ژن	مقاوم به متی‌سیلین تعداد(٪)=۱۰۰	حساس به متی‌سیلین تعداد(٪)=۱۰۰	مجموع	P*
TSST	۱۰(۱۰)	۱۲(۱۲)	۲۲(۱۱)	۰/۰۵۸
ETD	۲(۲)	۲(۲)	۴(۲)	۰/۳۶۰
مجموع	۱۲(۱۲)	۱۴(۱۴)	۲۶(۱۳)	۰/۰۶۸

\* با توجه به نتایج آماری ارتباطی بین سویه‌های MRSA و MSSA با ژن‌های TSST و ETD به ترتیب با  $P=0.058$  و  $P=0.36$  دیده نشد.

## بحث

این مطالعه اولین بررسی مقایسه‌ای در مورد میزان شیوع ژن سندرم شوک توکسیک (TSST) و توکسین اگزفولیاتیو (ET) در سویه‌های مقاوم و حساس به متی‌سیلین در سطح بیمارستان‌های شهر همدان از نمونه‌های بالینی و ناقلین بود. در مطالعه حاضر شیوع سویه‌های MRSA در میان نمونه‌های بالینی را ۵۰٪ نشان داد که با مطالعه Alfatemi و همکاران که شیوع ۴۲/۳٪ گزارش کردند همخوانی دارد.<sup>۲۰</sup> بیشترین فراوانی از بیمارستان بهشتی با ۴۲٪ و به دنبال آن بیمارستان بعثت، سینا و فاطمیه به ترتیب ۳۰٪، ۲۳٪ و ۵٪ به

شده از گلو، ژن توکسین مشاهده نگردید (جدول ۲).  
با توجه به وجود معنادار بودن  $P \leq 0.05$  از نظر آماری بین شیوع ژن TSST با آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین  $P=0.01$  و اریترومايسين  $P=0.02$  ارتباط وجود دارد، بدین معنی که به احتمال بیان ژن سندرم شوک سمی در افزایش مقاومت نسبت به این دو آنتی‌بیوتیک نقش دارد. با توجه به آنالیز Chi-square و مقایسه شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این مطالعه بین مقاومت به اریترومايسين و تتراسایکلین با ژن TSST ارتباط معناداری به ترتیب  $P=0.02$  و  $P=0.01$  مشاهده شد. بدین معنی که بیان ژن TSST در افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌تواند موثر باشد.

Muller Hinton بدون نمک باشد. در مطالعه حاضر از ۲۰۰ سویه جدا شده، ۲۲ سویه (۱۱٪) حامل ژن TSST و ۱۲ سویه‌ی آن مقاوم به متی‌سیلین بودند که مشابه مطالعه Parsonnet و همکاران که شیوع ژن TSST را ۹٪ گزارش کردند، می‌باشد.<sup>۲۴</sup> Mehrotra و همکاران در کانادا با مطالعه بر روی ۱۰۷ نمونه بالینی، شیوع ژن TSST را ۲۴/۳٪ گزارش کردند و در مطالعه آنها هیچکدام از نمونه‌ها از نظر داشتن ژن ETA مثبت نبودند که مشابه مطالعه کنونی می‌باشد.<sup>۲۰</sup>

مطالعاتی که در سایر شهرهای ایران درباره شیوع ژن ETA از جمله شیراز و ایلام بر روی نمونه‌های بالینی صورت گرفته است، شیوع بسیار کمی به ترتیب ۰/۰۶۸٪ و ۱٪ گزارش شده است.<sup>۲۵،۲۰</sup> نتایج حاصله نشان داد که میزان شیوع استافیلوکوکوس اورئوس حامل TST در شهر همدان موضوع نگران کننده‌ای است. گردش این ایزوله‌ها در افراد جامعه به ویژه افراد مسن و افراد دچار نقص سیستم ایمنی در کشور ما که جمعیت کمی را به خود اختصاص نمی‌دهند دارای اهمیت است. این موضوع با در نظر گرفتن میزان بالای کلونیزاسیون این باکتری در افراد سالم که گاه تا ۶۰-۵۰٪ در ناحیه‌ی نازوفارنکس و ۳۰-۵٪ در پوست و مو با کلونیزاسیون دائمی ۲۰-۱۰٪ می‌رسد<sup>۲۶،۲۴</sup> اهمیت بیشتری می‌یابد، به همین دلیل مانیتورینگ این ایزوله‌ها در بیمارستان‌ها می‌تواند در کنترل موارد خطرناک از افراد در معرض خطر موثر باشد. چه بسا که تا امروز تدابیر و چاره اندیشی در این گستره محدود به کشورهایی بوده است که به گزارش‌های گذشته و حال خود آگاهی دارند.

بدین ترتیب نتایج به دست آمده از نقاط دیگر دنیا نمی‌تواند به‌طور موثری زمینه وضعیت سلامت و بهداشت عمومی کشور ایران را آشکار کند و بدون شک جهت نیل به این اهداف نیاز به مطالعات بیشتر به ویژه در زمینه اپیدمیولوژی و شناخت سویه‌های غالب با تکنیک‌های احساس تایپینگ ژنوتیپی و فنوتیپی در کشور حساس می‌شود.

در مطالعه حاضر سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین در بین ایزوله‌های جدا شده مقاومت بیشتری نسبت به سویه‌های حساس به متی‌سیلین در برابر آنتی‌بیوتیک‌های معمول که در درمان مورد استفاده قرار می‌گیرند، نشان می‌دهند. از آنجایی که تمام سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین و حساس به متی‌سیلین جدا شده از نمونه‌های بالینی، مقاوم به چند دارو هستند، اهمیت شناسایی سویه‌های مقاوم به چند دارو

دست آمد. در مطالعه کنونی از ۱۰۰ سویه MRSA (۴۶٪) ۴۶ ایزوله متعلق به زنان و ۵۴ ایزوله مردان بود ولی از نظر آماری بین شیوع سویه‌های MRSA در بین زنان و مردان ارتباط آماری معناداری مشاهده نشد، که این نتایج با مشاهدات Khan مشابه می‌باشد.<sup>۲۱</sup> بیشترین شیوع MRSA از نمونه‌های خون و ادرار جدا شد که با مطالعه Shokoohi و همکاران که در ۱۸۰ ایزوله به عنوان استافیلوکوک شناسایی شد و بیشترین سویه‌ها را از خون و ادرار جدا کردند، مشابه می‌باشد.<sup>۲۲</sup>

در مطالعه کنونی بیشتر سویه‌ها دارای مقاومت چند دارویی بودند که بیشتر سویه‌های MRSA به تتراسایکلین ۹۱٪ و جنتامایسین ۹۰٪ سیپروفلوکساسین ۹۵٪، ریفامپین ۸۵٪، اریترومایسین ۹۲٪ و کوتریموکسازول ۸۵٪ مقاوم بودند، اما در سویه‌های MSSA نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها به ترتیب ۵۲٪ و ۲۵٪، ۶۶٪، ۴۵٪، ۶۸٪ و ۶۶٪ به دست آمد. در این مطالعه بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین و حساس به متی‌سیلین از نظر آماری ارتباط معناداری وجود دارد به این معنا که در سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین، مقاومت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نیز بالا می‌باشد.

امروزه شیوع مقاومت چند دارویی در سویه‌های حساس و مقاوم به متی‌سیلین، انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب در درمان عفونت‌های مختلف را با مشکل روبه‌رو کرده است. بر اساس مطالعه حاضر ونکومایسین در سویه‌های MRSA و MSSA و سفوکسیتین در سویه‌های MSSA به‌عنوان داروی مناسب در درمان مورد استفاده قرار بگیرند.

در مطالعه حاضر شیوع ژن TSST در بین سویه‌های MRSA ۱۲٪ و در بین سویه‌های MSSA ۱۰٪ گزارش شد که بیشتر آنها از نمونه خون ۵۰٪ و ادرار ۲۲/۷۲٪ جدا شد. شیوع ژن توکسین اگزفولیاتیو d (ETd) در هر کدام از سویه‌های MRSA و MSSA ۲٪ به دست آمد. که در سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین هر دو نمونه از زخم و در سویه حساس به متی‌سیلین از خون و زخم جدا گردید، ولی در هیچکدام از نمونه ژن ETA شناسایی نشد که با مطالعه Wu همخوانی دارد.<sup>۱۹</sup> در مطالعه Teyhoo بر روی ۱۰۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی، شیوع ژن TSST را ۲۰٪ گزارش کرد و ۱۵ سویه (۷۵٪) مقاوم به متی‌سیلین بودند<sup>۳۳</sup> که مقاومت بالا نسبت به متی‌سیلین در سویه‌های توکسیژنیک ممکن است به دلیل استفاده از محیط

شماره ۹۲۰۵۰۱۱۴۵۳ دانشگاه علوم پزشکی همدان پرداخت شده است. بدین وسیله از معاونت آموزشی و تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی همدان تشکر و قدردانی می شود.

مشخص می گردد، بنابراین انجام تست آنتی بیوگرام پیش از تجویز ضروری می باشد.

سپاسگزاری: هزینه مطالعه این پایان نامه از محل اعتبارات طرح

## References

1. Imani Fooladi A, Tavakoli H, Naderi A. Detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolates in domestic dairy products. *Iran J Microbiol* 2010;2(3):137-42.
2. Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE. Staphylococcal enterotoxins. *Toxins (Basel)* 2010;2(8):2177-97.
3. El-Ghodban A, Ghenghesh KS, Márialiget K, Esahli H, Tawil A. PCR detection of toxic shock syndrome toxin of *Staphylococcus aureus* from Tripoli, Libya. *J Med Microbiol* 2006;55(Pt 2):179-82.
4. Todd J, Fishaut M, Kapral F, Welch T. Toxic-shock syndrome associated with phage-group-I *Staphylococci*. *Lancet* 1978;2(8100):1116-8.
5. Sindhu N, Sharma A, Jain V. Coagulase gene based molecular detection of *Staphylococcus aureus* directly from mastitic milk samples of Murrah buffalo. *Buffalo Bull* 2010;29(1):52-9.
6. Blomster-Hautamaa DA, Kreiswirth BN, Kornblum JS, Novick RP, Schlievert PM. The nucleotide and partial amino acid sequence of toxic shock syndrome toxin-1. *J Biol Chem* 1986;261(33):15783-6.
7. Iandolo JJ. Genetic analysis of extracellular toxins of *Staphylococcus aureus*. *Annu Rev Microbiol* 1989;43:375-402.
8. Marrack P, Kappler J. The staphylococcal enterotoxins and their relatives. *Science* 1990;248(4956):705-11.
9. Lee CY, Schmidt JJ, Johnson-Winegar AD, Spero L, Iandolo JJ. Sequence determination and comparison of the exfoliative toxin A and toxin B genes from *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 1987;169(9):3904-9.
10. Prévost G, Couppié P, Monteil H. Staphylococcal epidermolysins. *Curr Opin Infect Dis* 2003;16(2):71-6.
11. Yamaguchi T, Nishifuji K, Sasaki M, Fudaba Y, Aepfelbacher M, Takata T, et al. Identification of the *Staphylococcus aureus* etd pathogenicity island which encodes a novel exfoliative toxin, ETD, and EDIN-B. *Infect Immun* 2002;70(10):5835-45.
12. Khreich N, Lamourette P, Boutal H, Devilliers K, Créminon C, Volland H. Detection of *Staphylococcus enterotoxin B* using fluorescent immunoliposomes as label for immunochromatographic testing. *Anal Biochem* 2008;377(2):182-8.
13. Medina MB. Development of a fluorescent latex microparticle immunoassay for the detection of staphylococcal enterotoxin B (SEB). *J Agric Food Chem* 2006;54(14):4937-42.
14. Omoe K, Ishikawa M, Shimoda Y, Hu D-L, Ueda S, Shinagawa K. Detection of seg, seh, and sei genes in *Staphylococcus aureus* Isolates and Determination of the Enterotoxin Productivities of *S. aureus* Isolates Harboring seg, seh, or sei Genes. *J Clin Microbiol* 2002;40(3):857-62.
15. Letertre C, Perelle S, Dilasser F, Fach P. Detection and genotyping by real-time PCR of the staphylococcal enterotoxin genes sea to sej. *Mol Cell Probes* 2003;17(4):139-47.
16. Wang S-J, Chow L-W, Wu M-J. Multiplex PCR for the simultaneous detection of the SEA, SEB, SEC, SED and SEE genes of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus*. *J Food Drug Analysis* 2002;10(3):164-9.
17. Bignardi GE, Woodford N, Chapman A, Johnson AP, Speller DC. Detection of the mec-A gene and phenotypic detection of resistance in *Staphylococcus aureus* isolates with borderline or low-level methicillin resistance. *J Antimicrob Chemother* 1996;37(1):53-63.
18. Zhang K, Sparling J, Chow BL, Elsayed S, Hussain Z, Church DL, et al. New quadriplex PCR assay for detection of methicillin and mupirocin resistance and simultaneous discrimination of *Staphylococcus aureus* from coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol* 2004;42(11):4947-55.
19. Wu D, Li X, Yang Y, Zheng Y, Wang C, Deng L, et al. Superantigen gene profiles and presence of exfoliative toxin genes in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Chinese children. *J Med Microbiol* 2011;60(Pt 1):35-45.
20. Hoseini Alfatemí SM, Motamedifar M, Hadi N, Sedigh Ebrahim Saraie H. Analysis of virulence genes among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains. *Jundishapur J Microbiol* 2014;7(6):e10741.
21. Khan S, Rasheed F, Zahra R. Genetic Polymorphism of agr Locus and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus* at two hospitals in Pakistan. *Pak J Med Sci* 2014;30(1):172-6.
22. Shokoohi Sh, Aminzadeh Z, Sharafi K, Ashrafi M. Prevalence of antibiotic resistance pattern in HA-MRSA. *Iran J Med Microbiol* 2007;2(1):59. [Persian]
23. Teyhoo M, Mobin H, Mozafari NA, Moadab SR, Sedigh Bayan KH, Mones Rast SH. The Prevalence of Toxin Shock Syndrome oxin (TSST-1) Producing Clinical Isolates of *Staphylococcus Aureus* Strains Isolated from Shohada Hospital in Tabriz, Iran. *Med Lab J Golestan Univ Med Sci* 2011;5(1):38-44.
24. Parsonnet J, Goering RV, Hansmann MA, Jones MB, Ohtagaki K, Davis CC, et al. Prevalence of toxic shock syndrome toxin 1 (TSST-1)-producing strains of *Staphylococcus aureus* and antibody to TSST-1 among healthy Japanese women. *J Clin Microbiol* 2008;46(8):2731-8.
25. Asadollahi P, Delpisheh A, Maleki MH, Jalilian FA, Alikhani MY, Asadollahi K, et al. Enterotoxin and Exfoliative Toxin Genes Among Methicillin-Resistant. 2014.
26. Deurenberg RH, Nieuwenhuis RF, Driessen C, London N, Stassen FR, van Tiel FH, et al. The prevalence of the *Staphylococcus aureus* tst gene among community- and hospital-acquired strains and isolates from Wegener's Granulomatosis patients. *FEMS Microbiol Lett*. 2005;245(1):185-9.



## Identification of toxic shock syndrome and exfoliative toxin genes of *Staphylococcus aureus* in carrier persons, resistant and susceptible methicillin

Mohammad Reza Arabestani  
Ph.D.<sup>1</sup>  
Sahar Rastiany M.Sc. student<sup>1</sup>  
Seyed Fazlullah Mousavi  
Ph.D.<sup>2</sup>  
Safiyeh Ghafel M.Sc.<sup>1</sup>  
Mohammad Yousef Alikhani  
Ph.D.<sup>1\*</sup>

1- Department of Microbiology,  
Hamadan University of Medical  
Sciences, Hamadan, Iran.

2- Department of Microbiology,  
Pasteur Institute of Iran, Tehran,  
Iran.

\* Corresponding author: Department of  
Microbiology, Hamadan University of  
Medical Sciences, Shahid Fahmideh St.,  
Hamadan, Iran.  
Tel: +98- 81-38380130  
E-mail: alikhani43@yahoo.com

### Abstract

Received: 07 Jul. 2015 Accepted: 29 Aug. 2015 Available online: 08 Oct. 2015

**Background:** *Staphylococcus aureus* is one of the most common pathogens causing community-acquired infections and a major concern for public health, and the other hand antibiotic resistance is also of great concern for public health authorities also *Staphylococcus aureus* produce a lot of virulence factors such as variety of exoproteins included toxic shock syndrome and exfoliative toxin which causes colonization and different infections in their host. The aims of current study were to evaluate the prevalence of Toxic shock syndrome toxin 1 (TSST-1) and ETs genes in isolated *S. aureus* strains using polymerase chain reaction (PCR) assay.

**Methods:** This cross-sectional study was performed on 100 methicillin-resistant staphylococcal aureus (MRSA) and 100 methicillin-sensitive staphylococcal aureus (MSSA) isolated from clinical specimens of inpatients, outpatients hospitals and nasal carriers in Hamadan University from October 2013 to August 2014. Identified species by biochemical methods were confirmed by the PCR method. Antibiotic resistance was performed by disk diffusion and the presence of TSST-1 and ETs genes was investigated using PCR.

**Results:** Of the 100 isolates MRSA examined, the most frequent resistance was observed to ciprofloxacin (95%), followed by tetracycline (91%), erythromycin (92%), Gentamicin (90%), Rifampin (85%), trimethoprim-sulfamethoxazole (85%), clindamycin (80%) and ceftioxin (100%). Of the 100 isolates MSSA examined, the most frequent resistance was observed to erythromycin (68%), ciprofloxacin (66%), followed by tetracycline (52%), gentamicin (25%), clindamycin (46%), rifampin (45%), trimethoprim-sulfamethoxazole (66%) and ceftioxin (0%). Prevalence of TSST-1 and ETs genes were determined 13% (n=26) isolates, totally. Also the prevalence of TSST-1 was 11% (n=22) and ETs genes was 2% (n=4) isolates and none of the investigated isolates carried eta gene.

**Conclusion:** The increasingly prevalence of MRSA and emerging its antibiotic resistance in clinical isolates can be considered a serious problem for public health. Detection of the high rate prevalence of TSST genes in current study is considered as a serious problem and existing and circle of these strains in according to colonization in community especially old people and immunocompromised patients is very serious.

**Keywords:** cross-sectional studies, exfoliative toxin genes, *Staphylococcal aureus*, toxic shock syndrome toxin.