دارای رتبه علمی – پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

تعیین ژن های انتروتوکسین نوع A-E باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

تینا دادگر
دکتری میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی علوم و تحقیقات ،گروه میکروبیولوژی، فارس، ایران

عزت الله قائمی
استاد میکروب شناسی ،دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات عفونی ، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

نیما بهادر
استادیار میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی علوم و تحقیقات ،گروه میکروبیولوژی ،فارس، ایران

عباسعلی ایمانی فولادی
دانشیار باکتری شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی کاربردی ، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...((عج)) ،تهران، ایران

فریده کمره ئی
کارشناسی ارشد میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

نویسنده مسئول:تینا دادگر

پست‌الکترونیک:dadgar_teena@yahoo.com

تلفن:۰۹۱۱۱۷۷۵۹۹۰

آدرس: دانشگاه آزاد اسلامی ،واحد علوم و تحقیقات، گروه میکروبیولوژی ،فارس، ایران

دریافت:۹۱/۹/۹
ویرایش پایانی:۹۱/۱۱/۱۰
پذیرش:۹۱/۱۱/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: *حاملین سالم شاغل در بیمارستان از دلایل اصلی انتشار عفونت استافیلوکوکی در بیماران محسوب می‌شوند. این باکتری با ترشح سموم مختلف از جمله انتروتوکسین شرایط تهاجم به میزبان را فراهم می آورد. شناسائی ویژگی ها و تفاوت های استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده از کارکنان بیمارستان ها به عنوان حاملین سالم و انواع جدا شده از بیماران بر مبنای دارا بودن ژن انتروتوکسین (Sea, Seb, Sec,s Sed و See) از اهداف این مطالعه می باشد.*

روش بررسی: *از ۱۲۰ مورد از افراد بیمار و۸۰ مورد از حاملین سالم شاغل در مراکز درمانی گرگان استافیلوکوکوس اورئوس جدا برای مطالعه انتخاب شد. جدایه‌ها از لحاظ حضور ژن انتروتوکسین تایپ‌های A-E (sea-see) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی بررسی شدند.*

یافته ها: *استافیلوکوکوس اورئوس های مورد آزمون در این مطالعه(۸۷/۵٪) دارای حداقل یکی از ژن‌های انتروتوکسین sea-see بوده و فراوان‌ترین آن ژن انتروتوکسین sea(۱۲۴ مورد) بود. توزیع فراوانی این جدایه‌ها در نمونه‌های جدا شده از حاملین به طور معنی‌داری بیشتر از جدایه‌های بدست آمده از بیماران است.*

نتیجه گیری: *درصد بالایی از استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از نمونه‌های بالینی دارای ژن‌های انتروتوکسین می‌باشند که اهمیت توجه به انسان را به عنوان منبع اصلی و حامل استافیلوکوکی به دلیل ارتباط معنی‌داری که بین توکسین زا بودن جدایه ها و منبع جداسازی آنها از حاملین و بیماران وجود دارد مشخص می کند .*

واژه های کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس، انتروتوکسین، بیمار، حامل*

آدرس مقاله:
دادگر ت، قائمی ع، بهادر ن، ایمانی فولادی ع، کمره ئی ف" تعیین ژن های انتروتوکسین نوع A-E باکتری استافیلوکوکوس اورئوس " مجله علوم آزمایشگاهی، ویژه نامه ۱۳۹۲ دوره هفتم(شماره۵) : ۱-۸

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس بر روی غشاهای مخاطی و پوست پستانداران، مواد غذایی مختلف و محیط اطراف یافت می شود و عامل ایجاد پنومونی بعد ازعفونت های ویروسی، ورم پستان گاو، التهاب وریدها، منتژیت، عفونت دستگاه ادراری، التهاب موضعی استخوان ها، اندوکاردیت، ضایعات سطحی پوست و غیره می باشد(۱). از مهم ترین سموم تولید شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس سم انتروتوکسین است. انتروتوکسین های استافیلوکوکی از نوع A تا V می باشند(۳،۲). این انتروتوکسین ها از لحاظ ساختار و فعالیت بیولوژیکی مشابه هم بوده ولی خصوصیات آنتی ژنی آنها با یکدیگر متفاوت است . بیش از۹۵ درصد از انتروتوکسین های این باکتری که ایجاد مسمومیت غذایی می کنند، جزء گروه A-E هستند و گروه A و D نیز از مهم ترین انتروتوکسین های ایجاد کننده مسمومیت غذایی استافیلوکوکی می باشند. انتروتوکسین B نیز به علت قابلیت جذب از طریق استنشاق و کاربردهای بیوتروریستی آن دارای اهمیت است(۴-۶). مهم ترین خصوصیات انتروتوکسین استافیلوکوکی، توانایی ایجاد استفراغ در پریمات ها، مقاومت به حرارت، هضم پپسین، و خاصیت ابر آنتی ژنیسیته است(۷). سم تولید شده توسط این باکتری در انسان ایجاد مسمومیت می نماید که تقریباً ۵ درصد مسمومیت های غذایی ناشی از انتروتوکسین های تولید شده توسط این باکتری می باشد .این در حالی است که گزارش مسمومیت های ناشی از این انتروتوکسین به دلایل شناسایی انواع جدید رو به افزایش است(۷-۹). روش های متداول استفاده شده برای بررسی ژن های انتروتوکسین استافیلوکوکی مانند الایزا، لاتکس آگلوتیناسیون، لاتکس ایمونواسی، رادیو ایمونواسی، ایمونوکروماتوگرافی و غیره می باشد که در همه این روش ها نیاز به فراهم شدن شرایطی برای بیان ژن انتروتوکسین استافیلوکوکی است تا بتوان نسبت به شناسایی این سموم اقدام کرد. در تکنیک¬های ملکولی PCR و Multiplex PCR نیازی به آنتی ژن نبوده و حتی درصورت نبودن توکسین یا میزان کم توکسین، ژن¬ها قابل ردیابی می باشند. به همین دلیل نسبت به استفاده از روش¬ها ایمونولوژیکی، استفاده از روش های ملکولی از جمله PCR برای یافتن باکتری دارای ژن کد کننده سم مناسب¬تر است)۱۰و۳). با توجه به اهمیت این انتروتوکسین ها و نقش آنها در بهداشت و سلامت جامعه این مطالعه با هدف جداسازی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و شناسایی جدایه های واجد ژن کد کننده انتروتوکسین های A-Eدر نمونه های کلینیکی در شهرستان گرگان با استفاده تکنیک ملکولی انجام شده است .

روش بررسی

۲۰۰ نمونه از استافیلوکوکوس هایی که طی سال‌های ۱۳۸۹- ۱۳۹۰ از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌های آموزشی دانشگاه علوم پزشکی گرگان (پنج آذر، طالقانی و دزیانی) و مراکز آزمایشگاه خصوصی ، همچنین نمونه بینی از کارکنان شاغل در بیمارستان‌های دانشگاهی در شهرستان گرگان با استفاده از آزمایش های فنوتیپی (واکنش گرم،تست کاتالاز ،تخمیر مانیتول ، کواگولاز ،Dnase) شناسایی و جداسازی شده بود مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از پرایمر اختصاصی گونه (گلوتامات سنتتاز) جدایه ها مورد تائید قرار گرفتند(۱۱). جهت استخراج DNA باکتری در این پژوهش از روش فنول-کلروفرم استفاده شد(۱۲). برای تائید گونه استافیلوکوکوس اورئوس از مخلوط PCR شامل ۲/۵ mM،$MgCl_2$ ۰/۴ mM، dNTP ۱unit taq DNApolymeras و $10\ pmol\ \mu l^{-1}$ از هر پرایمر، µl ۵ از محصول استخراج DNA در حجم نهایی µl ۲۵ استفاده شد(جدول۱)(۱۳). محصول PCR در ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد و با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی و با دستگاه UV ترانس لومیناتور مشاهده گردید (طول آمپلیکون bp ۱۰۸). یکی از عوامل اصلی در تشخیص ملکولی داشتن کنترل مثبت است که در این تحقیق نیز برای شناسایی ژن انتروتوکسین C در واکنش PCR از جدایه ای به نام N315 و برای انتروتوکسین A از جدایهHN2 استفاده شد. همچنین به عنوان کنترل مثبت از

Archive of SID

www.SID.ir

ژن‌های انتروتوکسین B جدایه COL و ژن انتروتوکسین D جدایهFMI2 و ژن انتروتوکسین E جدایهNRS3 مورد استفاده قرار گرفت و کنترل منفی در واکنش PCR فاقد DNA بود. جهت اثبات اختصاصی بودن پرایمرها از سویه‌های *S. saprophyticus* ، *S. epidermidis* و *E. coli* به عنوان کنترل فاقد ژن Sea, b, c, d, e استفاده شد و صحت عملکرد پرایمرها با انجام تعیین توالی محصول PCR اثبات شد.

واکنش PCR در بافر 10X برای شناسایی هر یک از ژن های انتروتوکسین sea-see در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر، شامل ۱ میکرولیتر DNA الگو، ۲/۵mM MgCl2، 1x buffer PCR، از هر پرایمر ۱۰ pmol µl-1، و ۱ unit از آنزیم taq DNApolymeras، ۲/۵ mM ازمخلوط dNTP شرکتGenet Bio می‌باشد) و ۱۶/۵ میکرولیتر آب مقطر استفاده شد. (۱۴-۱۶) در پایان الکتروفورز با ولتاژ ۸۰ ولت به مدت ۶۰ دقیقه انجام شد.

جدول۱ - برنامه ترموسایکلر PCR برای شناسایی گونه اورئوس در استافیلوکوکوس ها

برنامه	مرحله	دما	زمان
۱	واسرشت شدن اولیه	۹۶ درجه سلسیوس	۳ دقیقه
۲	واسرشت شدن	۹۵ درجه سلسیوس	۱ ثانیه
	۴۰ سیکل		
۲	چسبیدن	۶۰ درجه سلسیوس	۳۰ ثانیه
۲	تکثیر	۷۲ درجه سلسیوس	۳۰ ثانیه
۳	تکثیر نهایی	۷۲ درجه سلسیوس	۵ دقیقه

جدول۲ – توالی پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی ژن انتروتوکسین های استافیلوکوکوس اورئوس

نام ژن	توالی پرایمر	تعداد باز	وزن آمپلیکون	رفرنس
Sea	Forward: TTGGAAACGGTTAAAACGAA	۲۰	۱۲۰bp	(۱۴)
	Reverse: GAACCTTCCCATCAAAAACA	۲۰		
Seb	Forward: TCGCATCAAACTGACAAACG	۲۰	۴۷۸bp	(۱۵)
	Reverse: GCAGGTACTCTATAAGTGCC	۲۰		
Sec	Forward: GGAGGAATAACAAAACATGAAGG	۲۱	۴۵۹bp	(۱۴)
	Reverse: AAAGGCAAGCACCGAAGTAC	۲۱		
Sed	Forward: TTGTACATATGGAGGTGTCAC	۲۱	۳۸۹bp	(۱۶)
	Reverse: TATGAAGGTGCTCTGTGGATA	۲۱		
See	Forward: TGGTAGCGAGAAAAGCGAAG	۲۱	۵۰۱bp	(۱۶)
	Reverse: GTAAATAATGCCTTGCCTGAA	۲۱		

جدول۳- برنامه ترموسایکلر PCR برای شناسایی ژن های انتروتوکسینsea-see استافیلوکوکوس اورئوس

برنامه	دما	مرحله	زمان
۱	۹۴ درجه سلسیوس	واسرشت شدن اولیه	۳ دقیقه
۲	۹۴ درجه سلسیوس	واسرشت شدن	۱دقیقه
	۳۵ سیکل		
۲	۵۵ درجه سلسیوس	چسبیدن	۱دقیقه
۲	۷۲ درجه سلسیوس	تکثیر	۱دقیقه
۳	۷۲ درجه سلسیوس	تکثیر نهایی	۵ دقیقه

* برای ژن انتروتوکسین *sec* دمای اتصال ،۵۰ درجه سلسیوس وژن انتروتوکسین *sea* برابر ۵۹ درجه سلسیوس می باشد

www.SID.ir

یافته ها

این مطالعه بر روی ۸۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس بدست آمده از نمونه بینی حاملین سالم و همچنین ۱۲۰ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران انجام شد که ۲۸ نمونه مربوط به زخم، ۲۴ مورد جدا شده از خون، ۴۲ نمونه جدا شده از ادرار و ۲۶ مورد نیز به سایر منابع جداسازی (خلط، مایع مفصلی و سایر بیماران) مربوط بود. از ۲۰۰ جدایه مورد آزمون جهت حضور ژن‌های انتروتوکسین *a, b, c, d* و *e* در ۲۵ جدایه هیچکدام از ژن‌ها مشاهده نشد فراوانی جدایه‌های سم-زا در بیماران ۱۰۱ مورد (۸۴/۲٪) و در حاملین ۷۴ مورد (۹۲/۵٪) بود. ارتباط معنی‌داری بین جدایه سم‌زا استافیلوکوکوس اورئوس و منبع جداسازی آن از بیماران یا حاملین وجود دارد ($p< ۰/۰۵$) (جدول۴ و ۵) در بین نمونه‌های جدا شده از بیماران، اگرچه تفاوت آماری معنی‌داری بین عفونت های مختلف و وجود جدایه‌های سم‌زا مشاهده نشد. توزیع ژن های انتروتوکسین به طور جداگانه در عفونت‌های مختلف نیز نشان داد که فراوانی ژن see که در عفونت های ادراری بیشتر مشاهده می شود، ارتباط معنی‌داری با نوع عفوت دارد ($p< ۰/۰۵$) اما در مورد سایر عفونت ها ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد (جدول۵).

توزیع نوع‌های مختلف انتروتوکسین در بین بیماران و حاملین بیانگر آن است که حضور یک ژن انتروتوکسین و همزمانی دو ژن انتروتوکسین بیشتر در بیماران و همزمانی ۳و ۴ژن انتروتوکسین بیشتر در حاملین و همزمانی ۵ ژن هم که مربوط به نمونه حامل است و ارتباط بین توزیع همزمانی ژن های انتروتوکسین و افراد حامل و بیمار معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

جدول٤- توزیع فراوانی ژن انتروتوکسین در استافیلوکوکوس اورئوس بر اساس منبع جداسازی از افراد حامل و بیمار

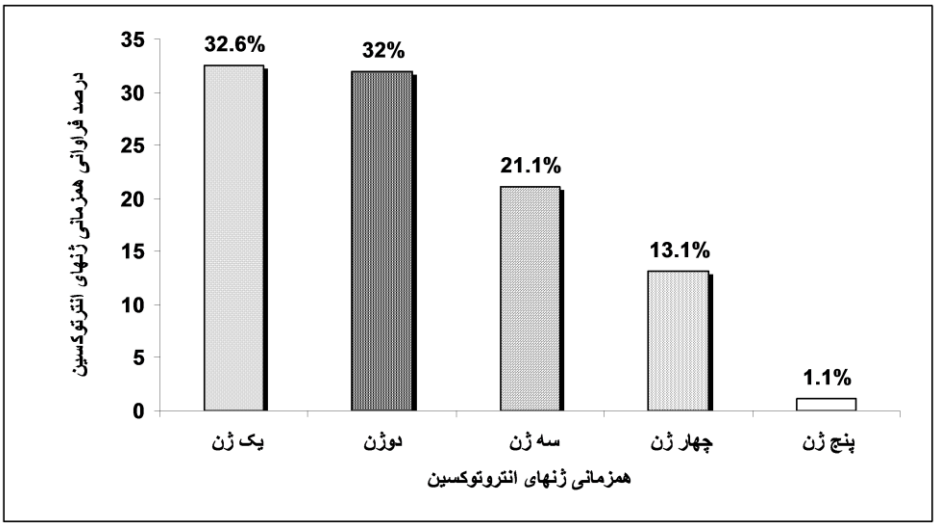
منبع جدا سازی باکتری / ژن انتروتوکسین	حامل سالم	بیمار	جمع	*p*
sea	۵۷ (٪۷۱/۳)	٦۷ (٪۵۵/۸)	۱۲٤ (٪٦۲)	**0.02**
seb	۳۵ (٪٤۳/۸)	۳۰ (٪۲۵)	٦٦ (٪۳۲/۵)	**0.006**
sec	٤۷ (٪۵۸/۸)	۳۲ (٪۲٦/۷)	۷۹ (٪۳۹/۵)	**<0.0001**
sed	۳٤ (٪٤۲/۵)	۲۱ (٪۱۷/۵)	۵۵ (٪۲۷/۵)	**<0.0001**
see	۳۲ (٪٤۰)	۲۷ (٪۲۲/۵)	۵۹ (٪۲۹/۵)	**0.008**

جدول ۵- توزیع فراوانی ژن انتروتوکسین در استافیلوکوکوس اورئوس بر اساس نمونه‌های جدا شده از بیماران

نمونه / ژن انتروتوکسین	ادرار	زخم	خون	*سایر	جمع	*P*
sea	۲٤ (٪۵۷/۱)	۱۳ (٪٤٦/٤)	۱٤ (٪۵۸/۳)	۱٦ (٪٦۱/۵)	٦۷ (٪۵۵/۸)	**0.6**
seb	۱۳ (٪۳۱)	٤ (٪۱٤/۳)	۵ (٪۲۰/۸)	۸ (٪۳۰/۸)	۳۰ (٪۲۵)	**0.3**
sec	۱۰ (٪۲۳/۸)	۸ (٪۲۸/٦)	۸ (٪۳۳/۳)	٦ (٪۲۳/۱)	۳۲ (٪۲٦/۷)	**0.8**
sed	۸ (٪۱۹)	۳ (٪۱۰/۷)	٦ (٪۲۵)	۵ (٪۱۹/۲)	۲۲ (٪۱۸/۳)	**0.6**
see	۱٦ (٪۳۸/۱)	٤ (٪۱٤/۳)	۵ (٪۲۰/۸)	۲ (٪۷/۷)	۲۷ (٪۲۲/۵)	**0.01**

www.SID.ir

همچنین در مطالعه حاضر از ۱۷۵ جدایه انتروتوکسین زا استافیلوکوکوس اورئوس در ۵۷ مورد تنها یک ژن از ۵ ژن انتروتوکسین مورد مطالعه مشاهده گردید و در بقیه موارد هم زمانی دو تا پنج ژن انتروتوکسین مشاهده شد



نمودار ۱-درصد فراوانی همزمانی ژن‌های انتروتوکسین در استافیلوکوکوس‌های انتروتوکسین زا

بحث

امروزه گفته می‌شود که باکتری ها از عوامل مهم FBD(Food born desease) می‌باشند. پس از گونه‌های سالمونلا که در بین باکتری ها بیشترین عامل ایجاد کننده-FBD می‌باشند استافیلوکوکوس اورئوس بیشترین میزان تولید FBD را بر عهده دارد. قدرت بیماری زایی در این باکتری ها به قابلیت تولید سم بستگی دارد(۱۷). مطالعات متعددی سعی در جداسازی این عامل از مواد غذایی و موارد بالینی داشته اند. با این وجود بسیاری از مطالعات جهت شناسایی ژن های انتروتوکسین استافیلوکوکوس اورئوس در مواد غذایی انجام شده است و مطالعات کمتری در شناسایی این عامل در موارد کلینیکی وجود دارد. این مطالعه نیز به بررسی انواع ژن های تولید کننده انتروتوکسین A-E در استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده از نمونه های بالینی (افراد حامل و بیمار) پرداخته است که از ۲۰۰ جدایه مورد بررسی ۸۷/۵ درصد آنها انتروتوکسین زا بودند که این نتیجه بیانگر اهمیت بالای این باکتری در تولید انتروتوکسین ها به عنوان یک عامل بالقوه در ایجاد مسمومیت غذایی در منطقه می‌باشد. همچنین در این مطالعه تمام ژن‌هـای انتروتوکسین A-E در نمونه‌های بالینی یافت شدند و بیشترین فراوانی مربوط به ژن *sea* و سپس *seb, sec, see*, و در نهایت *sed* است. در مورد میزان یا تنوع حضور ژن‌های انتروتوکسین در مطالعات محققین گوناگون نیز نتایج مختلفی گزارش شده است. در واقع درصد جدایه های دارای ژن انتروتوکسین بر اساس منبعی که از آن جداسازی می شود تفاوت های چشمگیری را نشان می‌دهد. در تحقیقی که بر روی ۵۰ نمونه زخم بیماران در تهران انجام پذیرفت در ۳۷ مورد از آنها ژن‌های انتروتوکسین وجود داشت (۷۴٪) که کمتر از کل متوسط در این تحقیق است (۱۸). مطالعه‌ای در ردیابی ژن‌های انتروتوکسین A و B بر روی ۵۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس بدست آمده از نمونه‌های بالینی مختلف (زخم، خون، ادرار، استفراغ، بینی وگوش) در مراکز درمانی کرمان و رفسنجان نشان داد که تمامی ۵۰ جدایه انتروتوکسین زا می‌باشند (۱۹). بیشترین گاستروانتریت توسط نوع SEA, SEB ایجاد می‌شود که SEA شیوع بیشتری دارد (۲۰). که یافته های مطالعه حاضر نیز هم خوانی دارد. SEB نه تنها از راه گوارش بلکه از

www.SID.ir

طریق تنفسی (آئروسل ها) هم منتقل می‌شود و در بیوتروریسم نیز مطرح می‌باشد (۲۱)، به همین دلیل این دو نوع انتروتوکسین از اهمیت بالاتری برخوردار می‌باشند. در مطالعه حاضر، حاملین (۹۲/۵٪) بیش از بیماران (۸۴/۲٪) دارای جدایه‌های انتروتوکسین زا بودند و حضور همه انتروتوکسین‌ها در حاملین بیش از بیماران بوده است. در حالی که در مطالعه براتی و همکاران در تهران، از ۹۸ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس هیچکدام ازافراد سالم حامل این باکتری دارای این ژن نبودند، ولی در جدایه‌های بدست آمده از بیماران ۵ مورد ژن را داشتند (۱۹/۸٪) که عمده آنها از زخم و عفونت ادراری جدا شده بود(۲۲) که با مطالعه حاضر که اغلب جدایه‌های انتروتوکسین زا استافیلوکوکوس اورئوس از نمونه ادراری بودند مطابقت دارد. مقایسه‌ای در بررسی حضور ژن‌های انتروتوکسین بین استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از خون بیماران (۷۰ مورد) و ناقلین بینی(۹۵ مورد) در بیمارستانی در کره انجام شد که فراوانی انتروتوکسین در جدایه‌های جدا شده از خون به طور قابل ملاحظه‌ای متفاوت از نمونه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شـده از ناقلین گزارش گردید. به طوریکه ژن انتروتوکسین *see* و به دنبال آن *sei* و*sec* در نمونه خون بیماران شیوع بیشتری داشته در حالیکه ژن‌های انتروتوکسین *sea* و *seb* به طور مشخص در ناقلین بیشتر مشاهده گردید. (۲۳).

نتیجه گیری

ارتباط معنی‌داری بین حامل بودن و توکسین زا بودن جدایه ها وجود داردو حضور جدایه‌های انتروتوکسین زا که وابسته به حاملین می‌باشد نگران کننده است زیرا می‌تواند با قرا گرفتن این افراد در پروسه‌های مختلف سبب انتقال آلودگی به مواد غذایی و ایجاد مسمومیت غذایی گردد.

تشکر و قدردانی

بخشی از این تحقیق با حمایت مالی معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان انجام شده است که از آنها صمیمانه تشکر می شود. همچنین از کارشناسان محترم آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان که در انجام این تحقیق همکاری صمیمانه ای داشته اند تشکر و قدردانی می گردد.

Refrences

1.Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. *Exotoxin of staphylococcus aureus.* Clin Microbiol Rev. 2000; 13(1): 16-34.

2.Balaban N, Rasooly A. *Staphylococcal enterotoxins*. Int J Food Microbiol. 2000; 61(1): 1-10.

3.Orwin PM, Fitzgerald JR, Leung DY, Gutierrez JA, Bohach GA, Schlievert PM. *Characterization of staphylococcus aureus enterotoxin l.* Infect Immune. 2003; 71(5): 2916- 9.

4.Ertas N, Gonulalan Z, Yildirim Y, Kum E. *Detection of Staphylococcus aureus Enterotoxins in Sheep Cheese and Dairy Desserts by Multiplex PCR Technique*. Int J Food Microbiol. 2010; 142(1-2): 74-7.

5.Le Loir Y, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus and Food Poisoning*. Genet Mol Res. 2003; 2(1): 63-76.

6.Akineden O, Hassan AA, Schneider E, Usleber E. *Enterotoxigenic Properties of Staphylococcus aureus Isolated from Goats' Milk Cheese*. Int J Food Microbiol. 2008; 124(2): 211-216.

7.Hawryluk T, Hirshfield I. *A Superantigen bioassay to detect staphylococcal enterotoxin A*. J Food Prot. 2002; 65(7): 1183-7.

8.Omoe K, Ishikawa M, Shimoda Y, Hu DL, Ueda S, Shinagawa K. *Detection of seg she 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.

9.Hawryluk T, Hirshfield I. *Superantigen bioassay to detect staphylococcal enterotoxin A*. J Food Prot. 2002; 65(7): 1183-7.

10. Wang SJ, Chow LW, Wu MJ. *Multiplex PCR for the Simultaneous Detection of the Sea, Seb, Sec, Sed and See Genes of Enterotoxigenic Staphylococcus aureus*. J Food Drug Anal. 2002; 10(3): 164-169.

11. Baron EJ, Fingegold SM. Diagnostic microbiology. 18thed. St Louis, Baltimore, Philadelphia.Toronto, Mosby.1990; 1441-1450.

12.Vaez H, Tabaraei A, Moradi A, Ghaemi EA. *Evaluation of methicillin resistance Staphylococcus aureus isolated from patients in Golestan province-North of Iran.* African Journal of Microbiology Research. 2011; 5(4): 432-436.

13.Hallin M, Friedrich AW, Struelens MJ. *Spa Typing for Epidemiological Surveillanceof Staphylococcus aureus*. Methods Mol Biol. 2009; 551: 189-202.

14.Choopani A. *Identification of enterotoxin B gene in Staphylococcus aureus isolated from wounds of patients by PCR method*. Dissertation. Baghiatallah University of Medical Sciences. 2010; 61-55.

15.Saori, M. *Study of SEA and SEC genes frequency in Staphylococcus aureus isolated from clinical patients and its relation to antibiotic resistance*. Dissertation. IAU of Zanjan branch. 2011; 1-21.

Archive of SID

www.SID.ir

16.Ghorbani, Tazhandrh, S. *Study of enterotoxin D and E genes in methicillin-resistant Staphylococcus aureus*.Dissertation. IAU of Zanjan branch. 2011; P 63-67.

17.Anvari SH, Sattari M, Forozandehe Moghadam M, Najar Peeraye SH, Imani Fooladi AA. *Detection of Staphylococcus aureus Enterotoxins A to E from Clinical Sample by PCR*. Research Journal of Biological Scie

nces. 2008; 3(8): 826-829.

18.Salari Sharif A, Sattari M, Moradi M, Shahrokhabad R. *Detection of Staphylococcus aureus Entrotoxin Genes A & B in Clinical Samples of the Patients Referring to the Medical Centers of Kerman and Rafsanjan Cities by PCR Technique.* J. Rafsenjan University of Medical Sciences. 2012; 11(2): 128-136.

19.Klots M, Opper S, Heeg K, Zimmermann S. *Detection of Staphylococcus aureus enterotoxins A to D by real-time fluorescence PCR assay*. J Clinl Microbiol. 2003; 41(10): 4683-4687.

20.Imani Fooladi A, Sattari M, Ranjbar R. *Biological effects of type B Staphylococcal enterotoxin.* Kowsar Med J. 2004; 9(2): 12-21.

21.Barati B, Saadati M, Bahmani MKh. *Isolation and detection of enterotoxigenic Staphylococcus aureus type A by multiplex PCR.* Mil Med J. 2006; 8(2): 119-28.

22. Janwithayanuchit I, Ngam-ululert S, Paungmoung P, Rangsipanurant W. *Epidemiological study of Methicilin–Resistant Staphylococcus aureus by coagulase gene polymorphism.* Science Asia. 2006; 32: 127-132.

Archive of SID

www.SID.ir

Supplement Issue 2014, Vol 7, No 5

Original Article

Detection of Staphylococcus Aureus Enterotoxin Genes A-E

Dadgar, T. (PhD)
PhD of Microbiology, Department of Science and Research, Islamic Azad University, Fars, Iran.

Ghaemi, EA. (PhD)
Professor of Microbioligy, Infectious Diseases Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

Bahador, N. (PhD)
Assistant Professor of Microbiology, Department of Science and Research, Islamic Azad University, Fars, Iran

Imani Fooladi, AA. (PhD)
Associate Professor of Bacteriology, Applied Microbiology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences

Kamareie, F. (MSc)
MSc of Microbiology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

Corresponding Author: Dadgar, T.
Email: dadgar_teena@yahoo.com

Received: 29 Nov 2012
Revised: 29 Jan 2013
Accepted: 30 Jan 2013

Abstract

Background and Objective: The main cause of spreading staphylococcal infections among patients is the healthy carriers working in hospitals. With the secretion of different sorts of toxins such as entrotoxin, this bacteria can provide the conditions for attacking on the host. The main objective of this study is identification of the characteristics and differences in the *Staphylococcus aureus* isolated from healthy carriers and from the patients on the basis of enterotoxin genes (*sea-see*).

Material and Methods: One hundred and twenty of the patients and 80 of healthy carriers worked in health centers of Gorgan, north of Iran, were investigated for *S. aureus* isolate. The isolates were evaluated by PCR for Enterotoxin Genes A-E (SEA to SEE).

Results: Enterotoxin genes (SEA to SEE) was found in 87.5% of the total isolates and the most frequent one was enterotoxin gene sea (N= 124). The prevalence of these isolates in healthy carriers was significantly higher than those of the patients.

Conclusion: Based on the results**,** the high percentage of *S. aureus* isolated from clinical samples contains enterotoxin genes. Therefore, Human as the source and carrier of *S. aureus* is paramount importance, which is due to significant relationship between being toxigenic strains and the source of isolation.

Key words: *Staphylococcus Aureus*; Enterotoxin; Patient; Carrier

This paper should be cited as: Dadgar T, Ghaemi EA, Bahador N, Imani Fooladi AA, Kamareie F. [Detection of Staphylococcus Aureus Enterotoxin Genes A-E]. MLJ. 2014; 7(Supl.5):1-8 [Article in Persian]