

مقایسه شیوع ژن‌های کد کننده پروتئین‌های متصل شونده به کلاژن (*cna*) و فیبرونکتین (*fnb*) در جدایه‌های استافیلو کوکوس آرئوس بدست آمده از مواد غذایی و موارد درمانگاهی

مسعود قربانپور^{۱*}، خدیجه شیخی عزیزاده^۲، علی فضل آراء^۳، سعد گورانی نژاد^۴، مسعود رضا صیفی‌آباد شاپوری^۱، داریوش غربی^۱

(۱) گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز- ایران

(۲) دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز- ایران

(۳) گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز- ایران

(۴) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز- ایران

(دریافت مقاله: ۱۱ اسفند ماه ۱۳۹۴، پذیرش نهایی: ۱۸ اردیبهشت ماه ۱۳۹۵)

چکیده

زمینه مطالعه: استافیلو کوکوس آرئوس (*S. aureus*) ژن‌های حدت متنوعی دارد که در بروز عفونت‌های ناشی از این عامل نقش دارند. **هدف:** هدف از این تحقیق، بررسی فراوانی ژن‌های مربوط به عوامل چسبان پروتئین متصل شونده به کلاژن (*cna*) و پروتئین متصل شونده به فیبرونکتین (*fnb*) در جدایه‌های استافیلو کوکوس آرئوس حاصل از مواد غذایی و عفونت‌های درمانگاهی بود. **روش کار:** در محدوده زمانی سال‌های ۱۳۹۲-۱۳۸۹، تعداد ۳۸ جدایه استافیلو کوکوس آرئوس از نمونه‌های درمانگاهی و ۳۲ جدایه نیز از نمونه‌های مواد غذایی جداسازی و جمع‌آوری گردید. تمام جدایه‌ها با روش‌های بیوشیمیایی شناسایی شده و مورد استخراج DNA قرار گرفتند. صحت استخراج DNA با تکثیر ژن *aroA* به وسیله PCR در هر یک از جدایه‌ها مورد تأیید قرار گرفت و سپس حضور ژن‌های *cna* و *fnb* در DNA هر یک از جدایه‌ها با PCR به کمک پرایمرهای اختصاصی این ژن‌ها ردیابی شد. **نتایج:** نتایج نشان داد از میان ۳۸ جدایه بدست آمده از نمونه‌های درمانگاهی تعداد ۱۵ (۳۹/۵٪) و ۳۲ (۸۴/۲٪) جدایه و از میان ۳۲ جدایه با منشأ مواد غذایی تعداد ۱۰ (۳۱/۲٪) و ۱۶ (۵۰٪) جدایه به ترتیب واجد ژن‌های *cna* و *fnb* بودند. تعداد ۱۳ جدایه درمانگاهی (۳۴/۲۱٪) و ۶ جدایه با منشأ مواد غذایی (۱۸/۷٪)، واجد هر دو ژن چسبان *cna* و *fnb* بودند و تعداد ۴ جدایه درمانگاهی (۱۰/۵٪) و ۱۲ جدایه با منشأ مواد غذایی (۳۷/۵٪) فاقد هر دو ژن بودند. **نتیجه‌گیری نهایی:** با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان گفت، اگرچه این عوامل چسبان در همه جدایه‌های درمانگاهی استافیلو کوکوس آرئوس بیان نمی‌شوند، اما شیوع آن‌ها بالا بوده و ممکن است، استفاده از فراورده این دو ژن در واکسن‌های ضد این عامل در جلوگیری از عفونت‌های حاصل از این باکتری مؤثر واقع شود.

واژه‌های کلیدی: عوامل حدت، *cna*، *fnb*، استافیلو کوکوس آرئوس

مقدمه

استافیلو کوکوس آرئوس در اغلب موارد به‌عنوان یک باکتری مهم در بروز مسمومیت‌های غذایی و عفونت‌های درمانگاهی مطرح بوده است. این باکتری به‌صورت گسترده‌ای بر روی پوست و مخاط انسان و حیوانات حضور داشته (۱۴، ۲) و سبب آلودگی مواد غذایی می‌شود. عفونت‌های درمانگاهی ناشی از این باکتری نیز متعدد بوده و خسارت‌های اقتصادی فراوانی را باعث می‌شود (۱۷).

استافیلو کوکوس آرئوس عوامل حدت زیادی دارد که موجب استقرار در بدن میزبان، تهاجم به پوست آسیب‌دیده و مخاط، انتشار در بدن و فرار از مکانیسم‌های دفاعی میزبان می‌شوند. عوامل حدت در ایجاد عفونت و بیماری، همچنین در پایداری و انتشار باکتری نقش بسزایی دارند (۶). از جمله عوامل حدت این باکتری مولکول‌های چسبانی است که باعث استقرار این عامل در بدن و سپس تهاجم به بافت‌های مختلف می‌گردند (۱۵، ۱۰). از میان مولکول‌های چسبان این باکتری، پروتئین متصل شونده به کلاژن (*Cna*) و پروتئین‌های متصل شونده به فیبرونکتین (*Fnb*)

می‌باشند که *Fnb* انواع A و B دارد (۸، ۶). مطالعات گوناگون نشان داده‌اند که عوامل چسبان متصل شونده به کلاژن و متصل شونده به فیبرونکتین در فاز تهاجمی باکتری فوق نقش دارند (۲۰، ۱۳، ۸، ۷، ۱) و ممکن است استفاده از این پروتئین‌ها یا ژن‌های آن‌ها در پیشگیری از عفونت ناشی از استافیلو کوکوس آرئوس مؤثر واقع شود (۱۹).

به دلیل اهمیت بیماری‌های ایجاد شده توسط استافیلو کوکوس آرئوس و ضرورت معرفی راه‌های جدید جهت کنترل این عفونت‌ها، بررسی فراوانی ژن‌های *cna* و *fnb* در تعداد ۷۰ جدایه استافیلو کوکوس آرئوس مدنظر قرار گرفت تا در صورت وفور قابل توجه این عوامل حدت در جدایه‌های فوق، قدم‌های بعدی در خصوص استفاده از این پروتئین‌ها یا ژن‌های آن‌ها در پیشگیری از عفونت‌های متعدد استافیلو کوکوس آرئوس در دام‌ها برداشته شود.

مواد و روش کار

در فاصله سال‌های ۱۳۸۹ تا ۱۳۹۲ تعداد ۳۸ جدایه استافیلو کوکوس



اولیه در دمای ۹۴°C به ترتیب به مدت ۵ دقیقه و ۳۰ چرخه شامل دناتوره کردن و اتصال پرایمرها به ترتیب در دماهای ۹۴°C و ۵۷°C، هر یک به مدت ۳۰ ثانیه، امتداد در دمای ۷۲°C به مدت ۴۵ ثانیه و امتداد نهایی در دمای ۷۳°C به مدت ۵ دقیقه بود.

مقدار ۱۰ μl از محصول PCR با ۲ μl بافر بارگذاری مخلوط و در ژل آگاروز ۱٪ حاوی Safe stain در کنار مارکر bp ۱۰۰ با جریان برق ۹۰ ولت به مدت ۴۵ دقیقه الکتروفورز گردید. پس از پایان الکتروفورز جهت مشاهده باندهای تفکیک شده، ژل در دستگاه ترانس ایلومیناتور قرار داده شد و باند DNA تکثیر یافته و طول آن مورد بررسی قرار گرفت. برای هر یک از ژن‌های فوق یک نمونه از محصول تکثیر یافته شده جهت تعیین سکانس به شرکت تکاپوزیست ارسال شد و توالی بازهای ژن‌های تکثیر یافته مورد بلاست قرار گرفت.

نتایج به دست آمده از آزمون PCR با استفاده از نرم افزار آماری spss و آزمون مربع کای مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقدار $p < 0/05$ مبنای اختلاف آماری داده‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

حضور ژن *aroA* در تمامی جدایه‌های مورد مطالعه تأیید گردید و محصول PCR این ژن در نمونه‌های شاهد مثبت و نمونه‌های مورد مطالعه بانندی واضح با اندازه مورد نظر (۱۲۸۳ bp) را تولید کردند (تصویر ۱). در ردیابی ژن‌های *fnb* و *cna* از نمونه‌های درمانگاهی به ترتیب در تعداد ۳۲ (۸۴/۲٪) و ۱۵ (۳۹/۵٪) و در جدایه‌های حاصل از مواد غذایی به ترتیب در ۱۶ (۵۰/۱٪) و ۱۰ (۳۱/۲٪) جدایه باند مورد نظر ژن‌های فوق مشاهده شد (تصویر ۲، ۳). تعداد ۴ جدایه درمانگاهی (۱۰/۵٪) و ۱۲ جدایه با منشأ مواد غذایی (۳۷/۵٪) فاقد هر دو ژن چسبان *fnb* و *cna* بودند. در بین ۳۳ جدایه با منشأ مواد غذایی و ۳۸ جدایه درمانگاهی به ترتیب ۶ (۱۷/۷٪) و ۱۳ (۳۴/۲۱٪) جدایه هر دو ژن‌های مورد مطالعه را داشتند. آنالیز بلاست توالی بازهای ژن‌های تکثیر یافته، نشان داد ژن‌های تکثیر یافته مربوط به *cna* و *fnb* بوده‌اند. بین توالی به دست آمده از واکنش PCR یکی از جدایه‌ها با دیگر توالی‌های *cna* موجود در بانک ژن ۹۸ تا ۱۰۰٪ و در خصوص ژن *fnb*، ۹۶ تا ۱۰۰٪ شباهت وجود داشت.

آزمون مربع کای نشان داد با بیش از ۹۸٪ اطمینان، فراوانی ژن‌های

آرئوس از نمونه‌های درمانگاهی (التهاب پستان، آبسه و غیره) و ۳۲ جدایه نیز از نمونه‌های مواد غذایی (شیر، سمبوسه، همبرگر و غیره) جداسازی و جمع‌آوری گردید. باکتری‌های جدا شده با استفاده از روش‌های متداول فنوتیپی شامل مورفولوژی کلنی روی آگار خون و مانیتول سالت آگار، نوع همولیز، واکنش گرم، آزمایش‌های کواگولاز داخل لوله‌ای، کاتالاز، DNase، تخمیر مالتوز و تولید اوره آز شناسایی شدند (۱۲). در این تحقیق DNA استافیلوکوک‌ها، با استفاده از کیت استخراج DNA باکتری (تکاپوزیست، ایران) استخراج گردید. محصول استخراج در ۴۰ μl آب مقطر دو بار تقطیر استریل حل و در ۲۰°C تا زمان استفاده نگهداری شد. استخراج صحیح DNA با تکثیر ژن *aroA* با پرایمرهای اختصاصی (۱۱) در هر یک از DNA‌های استخراج شده مورد تأیید قرار گرفت و سپس حضور ژن‌های *fnb* و *cna* در DNA هر یک از جدایه‌ها با PCR به کمک پرایمرهای اختصاصی طراحی شده برای این ژن‌ها ردیابی شد. توالی پرایمرهای اختصاصی مورد استفاده جهت ردیابی ژن‌های *aroA*، *fnb* و *cna* با روش PCR در جدول ۱ نشان داده شده است. پرایمرهای اختصاصی ژن‌های *fnb* و *cna* با استفاده از نرم افزار Primer3 و ردیف نوکلئوتیدی ناحیه A ژن چسبان *cna* به شماره دسترسی AB266874/1 که از بانک ژن استخراج شد؛ و ژن کد کننده ناحیه D۴-D۳ Du (ناحیه باند شونده به لیگاند) پروتئین متصل شونده به فیبرونکتین که از بانک ژن به شماره دسترسی J۰۴۱۵۱/1 استخراج شد، طراحی گردید و از طریق شرکت سیناکلون سفارش ساخت داده شدند.

واکنش PCR با استفاده از ۲۵ μl مخلوط واکنش انجام شد. ترکیب مواد مورد استفاده برای PCR به‌طور جداگانه برای هر کدام از ژن‌های *aroA*، *fnb* و *cna* حاوی ۱۲/۵ μl از مسترمیکس ۲X (سیناژن، ایران)، ۱ μl از هر کدام از پرایمرهای ۱۰ μmol پیشین و معکوس *aroA*، *fnb* یا *cna* (سیناکلون، ایران)، ۷/۵ μl آب مقطر دو بار تقطیر استریل و ۳ μl از DNA الگو بود.

برنامه حرارتی PCR برای ژن *aroA* شامل دناتوره کردن اولیه در دمای ۹۴°C به مدت ۲ دقیقه و ۴۰ چرخه شامل دناتوره کردن، اتصال پرایمرها و امتداد به ترتیب در دماهای ۹۴ (۱ دقیقه)، ۵۸ (۱ دقیقه) و ۷۳°C (۱/۵ دقیقه) و امتداد نهایی در دمای ۷۳°C به مدت ۱۰ دقیقه بود.

برنامه حرارتی PCR برای ژن‌های *fnb* و *cna* شامل دناتوره کردن

جدول ۱. توالی پرایمرهای به کاررفته در PCR جهت جستجوی ژن‌های *aroA*، *fnb* و *cna* در *S. aureus*.

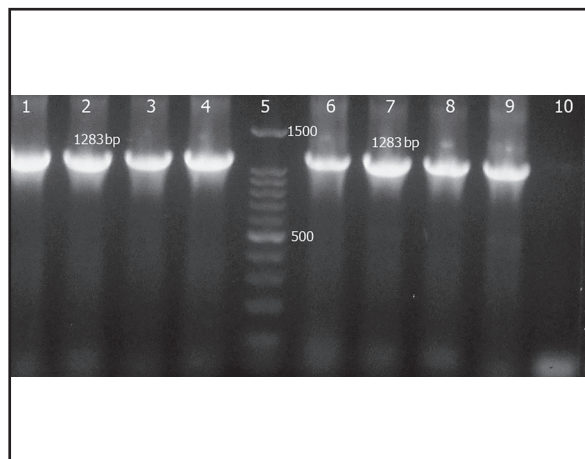
| منبع | اندازه بر حسب bp | توالی اختصاصی | ژن |
|------------------------|------------------|--|-------------|
| Marcos و همکاران، ۱۹۹۹ | ۱۲۸۳ | Forward: ۵' - AAGGGCGAAATAGAAGTGCCGGGC- ۳' Reverse: ۳' - CACAAGCAACTGCAAGCAT - ۵' | <i>aroA</i> |
| این مطالعه | ۸۲۰ | Forward: ۵' - TACCATACTGCTGTGGATAGYGAA ۳-' Reverse: ۳'-TTAGCTTACTTTTGGGAAGTGTATCTTCTTC - ۵' | <i>fnb</i> |
| این مطالعه | ۱۵۰۰ | Forward: ۵' - TGGCAGGATATTTTCATCA ۳-' Reverse: ۳'-TAGATTGGTTTTTCAGTATTAG - ۵' | <i>cna</i> |



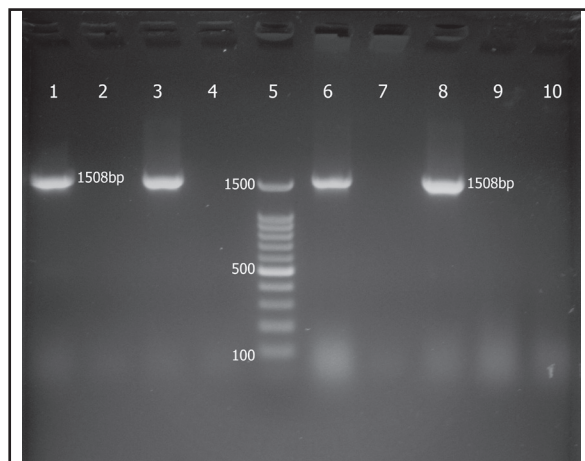
در جدایه های با منشأ درمانگاهی بیشتر از جدایه های با منشأ مواد غذایی است ($p < 0/02$)، اما بین این دودسته از جدایه ها از نظر فراوانی ژن *cna* تفاوتی وجود نداشت ($p = 0/32$). آزمون مربع کای هم چنین دال بر فراوانی بیشتر جدایه های فاقد هر دو ژن در جدایه های استافیلو کوکوس آرئوس با منشأ مواد غذایی بود ($p = 0/008$)، اما بین جدایه های واجد هر دو ژن در جدایه های استافیلو کوکوس آرئوس با منشأ مواد غذایی و موارد درمانگاهی اختلاف آماری وجود نداشت ($p = 0/119$).

بحث

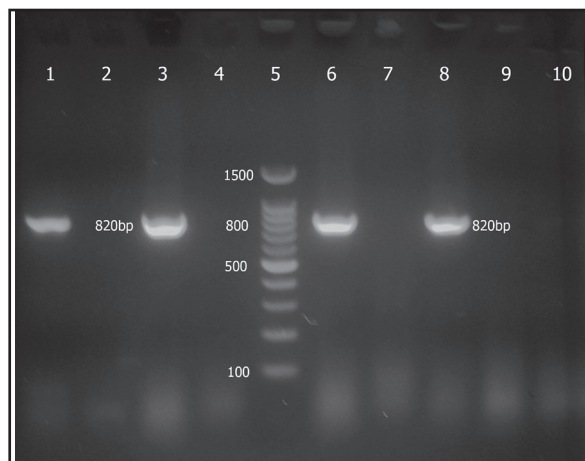
استافیلو کوکوس آرئوس به عنوان یک باکتری مهم در بروز مسمومیت های غذایی و عفونت های درمانگاهی مطرح بوده است. این باکتری به صورت گسترده ای بر روی پوست و مخاطات انسان و حیوانات حضور داشته و سبب آلودگی مواد غذایی می شود (۱۴، ۲). در مجموع، مطالعات مختلف داخل و خارج از کشور (۱۷، ۵) نشان می دهد که ورم پستان های ناشی از این عامل قابل توجه بوده و این باکتری خسارت های اقتصادی فراوانی را باعث می شود و لازم است، روش های مؤثرتری جهت پیشگیری از این عفونت معرفی گردند. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی نقش دو پروتئین چسبان *Fnb* و *Cna* در بیماریزایی جدایه های استافیلو کوکوس آرئوس حاصل از عفونت های درمانگاهی دام صورت گرفت. در تحقیق حاضر، انجام PCR بر روی ۳۲ جدایه استافیلو کوکوس آرئوس با منشأ مواد غذایی نشان داد که ۱۶ جدایه واجد ژن *fnb* و ۱۰ جدایه واجد ژن *cna* می باشند، همچنین انجام PCR بر روی ۳۸ جدایه استافیلو کوکوس آرئوس حاصل از موارد درمانگاهی، دال بر حضور به ترتیب ۳۲ و ۱۵ جدایه واجد *fnb* و *cna* بود، یعنی فراوانی ژن *fnb* بیشتر از *cna* بود. در مطالعات مشابه انجام شده در ایران (۹، ۳) و سایر کشورها (۱۶، ۴، ۲، ۱) میزان حضور این دو عامل حدت در جدایه های درمانگاهی استافیلو کوکوس آرئوس متفاوت گزارش شده است، که شاید تفاوت، مربوط به منشأ جدایه ها، تفاوت جغرافیایی مناطق مورد بررسی، تفاوت در نوع پرایمر و غیره باشد. در مطالعه ای *Kiavari* و همکاران در سال ۲۰۱۲، حضور ژن های مربوط به عوامل حدت *cna* و *fnb* در جدایه های استافیلو کوکوس آرئوس مهاجم بیشتر از جدایه های با منشأ بینی گزارش شده است. در مطالعه فوق در بیش از ۸۰٪ جدایه های درمانگاهی ژن *cna* شناسایی شده است در حالی که تنها در ۱۷/۹٪ جدایه های حاصل از کشت بینی این ژن وجود داشته است، ولی ژن *fnb* در بیش از ۶۵٪ جدایه های درمانگاهی و بیش از ۵۴٪ جدایه های حاصل از کشت بینی مشاهده شده است (۹). برخلاف نتایج ایشان در مطالعه حاضر فراوانی ژن *fnb* بیشتر مشاهده شد؛ البته در مطالعه فوق نیز در مجموع جدایه ها (درمانگاهی و جدانشده از بینی) فراوانی ژن *fnb* حدود ۱/۵ برابر ژن *cna* بوده است. *Dastmalchi Saei* و همکاران در سال ۲۰۱۳ نیز گزارش کرده اند که از ۴۵ جدایه به دست آمده از ورم پستان گوسفند به



تصویر ۱. الکتروفورز محصول PCR ژن *aroA* جدایه های استافیلو کوکوس آرئوس ستون های ۹ و ۱۰ به ترتیب کنترل مثبت و منفی، ستون های ۱، ۲، ۳، ۴، ۶، ۷ و ۸ جدایه های مثبت از نظر ژن *aroA* و ستون ۵ نردبان ژنی ۱۰۰bp (Fermentas).



تصویر ۲. الکتروفورز محصول PCR جستجوی ژن *fnb* چند جدایه استافیلو کوکوس آرئوس. ستون های ۱ و ۲ به ترتیب کنترل مثبت و منفی، ستون های ۳، ۶ و ۸ جدایه های مثبت از نظر ژن *fnb*، ستون های ۴، ۷، ۹ و ۱۰ جدایه های منفی و ستون ۵ نردبان ژنی ۱۰۰bp (Fermentas).



تصویر ۳. الکتروفورز محصول PCR ژن *cna* چند جدایه استافیلو کوکوس آرئوس. ستون های ۱ و ۲ به ترتیب کنترل مثبت و منفی، ستون های ۳، ۶ و ۸ جدایه های مثبت از نظر ژن *cna*، ستون های ۴، ۷، ۹ و ۱۰ جدایه های منفی و ستون ۵ نردبان ژنی ۱۰۰bp (Fermentas).



References

1. Aricola, C.R., Campoccia, D., Gamberini, S., Baldassari, L., Montanaro, L. (2005) Prevalence of *cna*, *fnbA* and *fnbB* adhesion genes among *Staphylococcus aureus* isolated to different types of implant. FEMS Microbiol Lett. 246: 81-86.
2. Bhatti, M., Ray, P., Singh, R., Jain, S., Sharma, M. (2013) Presence of virulence determinants amongst *Staphylococcus aureus* isolates from nasal colonization, superficial & invasive infections. Indian J Med Res. 138: 143-146.
3. Dastmalchi Saei, H., Aghdasi, S., Mohammadzadeh, H. (2013) Frequency analysis of adhesin genes *cna*, *fnb A* and *fnb B* in *Staphylococcus aureus* isolates from sheep mastitis. Iranian Vet J. (In Persian) 9: 19-29.
4. Duran, N., Dogramaci, Y., Ozar, B., Demir, C., Kalaci, A. (2010) Detection of adhesin genes and slime production among Staphylococci in orthopaedic surgical wounds. African J Microbiol Res. 4: 708-715.
5. Hosseinzadeh, S., Dastmalchi Saei, H. (2014) Staphylococcal species associated with bovine mastitis in the north west of Iran: emerging of coagulase-negative staphylococci. Int J Vet Sci Med. 2: 27-34.
6. Ingham, K.C., Brew, S., Vaz, D., Sauder, D.N., McGavin, M.J. (2004) Interaction of *Staphylococcus aureus* fibronectin-binding protein with fibronectin affinity, stoichiometry, and modular requirements. J Biol Chem. 279: 42945-42953.
7. Johansson, A. (2001) Collagen and fibronectin binding in experimental staphylococcal osteomyelitis. Clin Orthop Relate Res. 382: 241-246.
8. Johansson, K.C., Signas, H., Muller, P., Lindberg, M. (1991) Two different genes encode fibronectin binding proteins in *Staphylococcus aureus*: The complete nucleotide sequence and characterization of the second gene. Eur J Biochem. 202: 1041-1048.
9. Kiavari, A., Hasani, A., Mobayen, H., Aghazadeh, M., Hasani, A., Varshouchi, M., Ahangarza-deh Rezaei, M., Dehghani, L. (2012) Detection of genes that encoding the collagen (*cna*) and fibronectin (*fnb*) binding protein of *Staphylococ-*

ترتیب ۴۳، ۳۹ و ۳۵ جدایه ژن‌های *cna*، *fnbA* و *fnbB* را واجد بوده‌اند (۳). Peacock و همکاران در سال ۲۰۰۲ نیز گزارش کرده‌اند که ژن *fnbA* با فراوانی ۹۸٪ در بین جدایه‌های مهاجم فراوان‌تر از ژن *cna* با فراوانی ۵۲٪ است (۱۶). Aricola و همکاران در سال ۲۰۰۵، حضور ژن *fnb* را در ۹۸٪ جدایه‌ها و ژن *cna* را در ۴۶٪ جدایه‌های درمانگاهی مرتبط با عفونت‌های ارتوپدی گزارش کرده‌اند (۱). Duran و همکاران در سال ۲۰۱۰ در مطالعه خود بر روی جدایه‌های حاصل از زخم‌های جراحی اعلام کرده‌اند که ۶۹ جدایه از ۸۸ جدایه ژن *cna* و ۸۶ جدایه از آن‌ها ژن *fnbA* را داشته‌اند (۴). Mongodin و همکاران نشان داده‌اند، ۹۷٪ از ۳۲ جدایه کلینیکی *S. aureus* که از ترشحات مجاری هوایی بیماران دارای فیبروز سیستمیک و پنومونی بیمارستانی جدا شده بودند، ژن *fnb* را بیان می‌کنند (۱۳). در مطالعه انجام شده بر روی ۹۴ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس (مشمول بر ۳۵ مورد حاصل از عفونت‌های مهاجم و ۳۴ نمونه از عفونت‌های سطحی بیماران، و ۲۵ نمونه از سوآب بینی افراد سالم)، میزان ۶۲/۹٪ از سویه‌های مهاجم درمانگاهی از نظر *Cna* مثبت بوده‌اند (۲). برخی از مطالعات ذکر شده (۱۶، ۹، ۴، ۱) از نظر فراوانی ژن *fnb* تا حدودی با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارند، چون در مطالعه حاضر نیز در ۸۴/۲٪ جدایه‌های درمانگاهی و ۵۰٪ جدایه‌های مواد غذایی ژن فوق یافت شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان گفت که شیوع عوامل چسبان در جدایه‌های با منشأ مواد غذایی بالا بوده و با توجه به اثبات نقش این ژن‌ها در بیماری‌زایی استافیلوکوکوس اورئوس می‌توان نتیجه گرفت که ممکن است، این جدایه‌ها علاوه بر مسمومیت‌های غذایی در عفونت‌های درمانگاهی نیز نقش داشته باشند؛ همچنین با عنایت به نتایج تحقیق حاضر، و نیز مطالعات مشابه یاد شده فرآورده‌های ژن‌های مذکور می‌توانند کاندید مناسبی برای ساخت واکسن برای مقابله با بیماری‌ها و خسارت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس باشند، البته با توجه به فراوانی بیشتر ژن *fnb* شاید پروتئین حاصل از این ژن کاندید مناسب‌تری برای تهیه واکسن باشد که لازم است، مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد؛ نویسندگان وظیفه‌ی خود می‌دانند از حوزه‌ی معاونت فوق تشکر نمایند.

- cus aureus* isolates by multiplex- PCR. Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences. (In Persian) 34: 98-106.
10. Kyong, R.P., Jin Yang, B. (2009) Comparison of genotypes and enterotoxins genes between *Staphylococcus aureus* isolated from blood and



- nasal colonizers in a Korean hospital. J Korean Med Sci. 24: 585-591.
11. Marcos, J.M., Soriano, A.C., Salazar, M.S., Moral, C.H., Ramos, S.S., Smeltzer, M.S., Carrasco, G.N. (1999) Rapid identification and typing of *Staphylococcus aureus* by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of the *aroA* gene. J Clin Microbiol. 37: 570-574.
 12. Markey, B.K., Leonard, F.C., Archambault, M., Cullinane, A., Maguire, D. (2013) Clinical Veterinary Microbiology. (2nd ed.). Mosby, China.
 13. Mongodin, E., Bajolet, O., Cutrona, J., Bonnen, N., Dupuit, F., Puchelle, E., Bentzmann, S.D. (2002) Fibronectin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* are involved in adherence to human airway epithelium. Infect Immun. 70: 620-63.
 14. Normanno, G., La salandra, G., Dambrosio, A., Quaglia, N.C., Corrente, M., Parisi, A. (2007) Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. Int J Food Microbiol. 115: 290-296.
 15. Patti, J.M., Jonsson, H., Guss, B., Switalski, L. M., Wiberg, K., Lindberg, M., Höök, M. (1992) Molecular characterization and expression of a gene encoding a *Staphylococcus aureus* collagen adhesion. J Biol Chem. 267: 4766-4772.
 16. Peacock, S.J., Moore, C.F., Day, N.P. (2002) Virulent combinations of adhesion and toxin genes in natural populations of *Staphylococcus aureus*. Infect Immun J. 70: 4987-4996.
 17. Phuektes, P., Mansoll, P.D., Browning, G.F. (2001) Multiplex polymerase chain reaction assay for simultaneous detection of *Staphylococcus aureus* and Streptococcal causes of bovine mastitis. J Dairy Sci. 84: 1140-8.
 18. Rivas, J.M., Brown, E.L., Liang, X., Hook, M. (2004) Virulence potential of the Staphylococcal adhesion Cna in experimental arthritis is determined by its affinity for collagen. J Infect Dis. 189: 2323-2333.
 19. Roseline, T., Lacasse, P. (2007) lack of protection of mice against *S. aureus* despite a significant immune response to immunization with a DNA vaccine encoding collagen- binding protein. Vaccine. 55: 5053-5061.
 20. Wrighte, J.A., Nair, S.P. (2009) Interaction of Staphylococci with bone. J Med Microbiol. 10: 1003-1016.



Comparison of prevalence of *cna* (collagen binding) and *fnb* (fibronectin binding) adhesion genes among *Staphylococcus aureus* isolates from clinical specimens and food origin

Ghorbanpoor, M.^{1*}, Sheikhi Alizadeh, Kh.², Fazlara, A.³, Goraninejad, S.⁴, Seyfi Abad Shapouri, M.R.¹, Gharibi, D.¹

¹Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz- Iran

²Gaduated From the Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz- Iran

³Department of Food Hygin, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz- Iran

⁴Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz- Iran

(Received 1 March 2016, Accepted 7 May 2016)

Abstract:

BACKGROUND: *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) possess a variety of virulence genes that are involved in the pathogenesis of infections caused by this agent. **OBJECTIVES:** The aim of this study was to evaluate the prevalence of the genes encoding collagen binding (*cna*) and fibronectin binding (*fnb*) adhesion factors in *Staphylococcus aureus* isolates from food and clinical specimens. **METHODS:** During the time period 2010-2013, a total of 38 isolates of *Staphylococcus aureus* from clinical specimens and 32 isolates from food samples were collected. All isolates were identified biochemically and subjected to DNA extraction. The accuracy of DNA extraction from each isolate was confirmed by PCR amplification of *aroA* gene and then the presence of *cna* and *fnb* genes in the extracted DNAs was assessed by PCR, using the specific primers. **RESULTS:** The results showed that among 38 isolates from clinical specimens, 15 (39.5%) & 32 (84.2%) and among 32 isolates of food origin 10 (31/2%) and 16 (50%) isolates had *cna* and *fnb* genes respectively. Thirteen clinical (34.21%) and 6 food isolates (18.7%) were positive for both *fnb* and *cna* genes and 4 clinical (10.5%) and 12 food isolates (37.5%) were lacking both genes. **CONCLUSIONS:** According to the results, it is concluded that, although these adhesion genes are not present in all *Staphylococcus aureus* clinical isolates, but their prevalence is high and using the products of these genes in vaccines may be effective in protecting against infections caused by this bacterium.

Keyword: adhesion genes, *cna* and *fnb*, *Staphylococcus aureus*

Figure Legends and Table Captions

Table 1. The sequence of primers used in PCR for detection of *aroA*, *fnb* and *cna* genes of *S. aureus*

Figure 1. Agarose gel electrophoresis of the PCR products obtained from *aroA* gene of *S. aureus* isolates, Lanes 9 and 10 respectively positive and negative controls, lanes 1, 2, 3, 4, 6, 7 and 8 *aroA* positive isolates, lane 5 100bp ladder (Fermentas).

Figure 2. Agarose gel electrophoresis of the PCR products for detection of *fnb* gene of a few *S. aureus* isolates, Lanes 1 and 2 respectively positive and negative controls, lanes 3, 6 and 8 *fnb* positive isolates, lanes 4, 7, 9 and 10 *fnb* negative isolates, lane 5 100bp ladder (Fermentas).

Figure 3. Agarose gel electrophoresis of the PCR products for detection of *cna* gene of a few *S. aureus* isolates, Lanes 1 and 2 respectively positive and negative controls, lanes 3, 6 and 8 *cna* positive isolates, lanes 4, 7, 9 and 10 *fnb* negative isolates, lane 5 100bp ladder (Fermentas).

*Corresponding author's email: m. ghorbanpoor@scu.ac.ir, Tel: 0611-3330073, Fax: 0611-3360807

J. Vet. Res. 71, 3, 2016

