

دارای رتبه علمی - پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

تعیین ژن های انتروتوکسین نوع A-E باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

چکیده

زمینه و هدف: حاملین سالم شاغل در بیمارستان از دلایل اصلی انتشار عفونت استافیلوکوکی در بیماران محسوب می شوند. این باکتری با ترشح سموم مختلف از جمله انتروتوکسین شرایط تهاجم به میزبان را فراهم می آورد. شناسایی 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, Sed و See) از اهداف این مطالعه می باشد.

روش بررسی: از ۱۲۰ مورد از افراد بیمار و ۸۰ مورد از حاملین سالم شاغل در مراکز درمانی گرگان استافیلوکوکوس اورئوس جدا برای مطالعه انتخاب شد. جدایه ها از لحاظ حضور ژن انتروتوکسین تایپ های 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 ژن های انتروتوکسین sea-see بوده و فراوان ترین آن ژن انتروتوکسین sea (۱۲۴ مورد) بود. توزیع فراوانی این جدایه ها در نمونه های جدا شده از حاملین به طور معنی داری بیشتر از جدایه های بدست آمده از بیماران است.

نتیجه گیری: درصد بالایی از استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده از نمونه های بالینی دارای ژن های انتروتوکسین می باشند که اهمیت توجه به انسان را به عنوان منبع اصلی و حامل استافیلوکوکی به دلیل ارتباط معنی داری 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

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

نیمابهاذر

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

پست الکترونیک: dadgar_teena@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۱۱۷۷۵۹۹۰۰

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

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 باکتری شناسی ۱۳۹۲ دوره هفتم (شماره ۵): ۸-۱

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس بر روی غشاهای مخاطی و پوست پستانداران، مواد غذایی مختلف و محیط اطراف یافت می شود و عامل ایجاد پنومونی بعد از عفونت های ویروسی، ورم پستان گاو، التهاب وریدها، مننژیت، 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 (۲،۳). این انتروتوکسین ها از لحاظ ساختار و فعالیت بیولوژیکی مشابه هم بوده ولی خصوصیات آنتی ژنی آنها با یکدیگر متفاوت است. بیش از ۹۵ 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 بیوتوروستی 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 ژنیسته 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 ایمنونواسی، رادیو ایمنونواسی، 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 روش های ملکولی PCR و Multiplex PCR نیازی به آنتی ژن نبوده و حتی در صورت 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 (۱۰ و ۳). 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 E-A در نمونه های کلینیکی در شهرستان گرگان با استفاده از روش ملکولی انجام شده است.

روش بررسی

۲۰۰ نمونه از استافیلوکوکوس هایی که طی سال های ۱۳۸۹-۱۳۹۰ از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان های آموزشی دانشگاه علوم پزشکی گرگان (پنج آذر، طالقانی و دزیانی) و مراکز آزمایشگاه خصوصی، همچنین نمونه بینی از کارکنان شاغل در بیمارستان های دانشگاهی در شهرستان گرگان با استفاده از آزمایش های فنوتیپی (واکنش گرم، آزمون کاتالاز، تخمیر مانیتول، کوآگولاز، Dnase) شناسایی و جداسازی شده بود مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از پرایمر اختصاصی گونه (گلو تامات سنتتاز) جدایه ها مورد تأیید قرار گرفتند (۱۱). جهت استخراج DNA باکتری در این پژوهش از روش فنول-کلروفرم استفاده شد (۱۲). برای تأیید گونه استافیلوکوکوس اورئوس از مخلوط PCR شامل $2/5 \text{ mM MgCl}_2$ ، $0/4 \text{ mM dNTP}$ ، $1 \text{ unit taq DNA polymerase}$ و $10 \text{ pmol } \mu\text{L}^{-1}$ از هر پرایمر، $5 \mu\text{L}$ از محصول استخراج DNA در حجم نهایی $25 \mu\text{L}$ استفاده شد (جدول ۱) (۱۳). محصول PCR در ژل آگارز $1/5$ درصد الکتروفورز شد و با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و با دستگاه UV ترانس لومیناتور مشاهده گردید (طول آمپلیکون 108 bp). 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 جدایه HN2 استفاده شد. همچنین به عنوان کنترل مثبت از

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 PCR buffer، از هر پرایمر ۱۰ pmol μ l⁻¹ و ۱ unit از آنزیم DNA polymerase taq، ۲/۵ mM از مخلوط dNTP شرکت Genet Bio می باشد) و ۱۶/۵ میکرولیتر آب مقطر استفاده شد. (۱۴-۱۶) در پایان الکتروفورز با ولتاژ ۸۰ ولت به مدت ۶۰ دقیقه انجام شد.

ژن های انتروتوکسین B جدایه COL و ژن انتروتوکسین D جدایه FMI2 و ژن انتروتوکسین E جدایه NRS3 مورد استفاده قرار گرفت و کنترل منفی در واکنش PCR فاقد DNA بود. جهت اثبات اختصاصی بودن پرایمرها از سویه های *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.

جدول ۱ - برنامه ترموسایکلر PCR برای شناسایی گونه اورنوس در استافیلوکوکوس ها

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

جدول ۲ - توالی پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی ژن انتروتوکسین های استافیلوکوکوس اورنوس

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

جدول ۳ - برنامه ترموسایکلر PCR برای شناسایی ژن های انتروتوکسین sea-see/استافیلوکوکوس اورنوس

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

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

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 ژن های انتروتوکسین *a, b, c, d* و *e* در ۲۵ جدایه هیچکدام از ژن ها مشاهده نشد فراوانی جدایه های سمزا در بیماران ۱۰۱ مورد (۸۴/۲٪) و در حاملین ۷۴ مورد (۹۲/۵٪) بود. ارتباط معنی داری بین جدایه سمزا *استافیلوکوکوس اورئوس* و منبع جداسازی آن از بیماران یا حاملین وجود دارد ($p < 0/05$) (جدول ۴ و ۵) در بین نمونه های جدا شده از بیماران، اگرچه تفاوت آماری معنی داری بین عفونت های مختلف و وجود

جدایه های سمزا مشاهده نشد. توزیع ژن های انتروتوکسین به طور جداگانه در عفونت های مختلف نیز نشان داد که فراوانی ژن *see* که در عفونت های ادراری بیشتر مشاهده می شود، ارتباط معنی داری با نوع عفونت دارد ($p < 0/05$) اما در مورد سایر عفونت ها ارتباط معنی داری مشاهده نشد (جدول ۵).

توزیع نوع های 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 ۳ و ۴ ژن 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 معنی دار می باشد ($p < 0/05$).

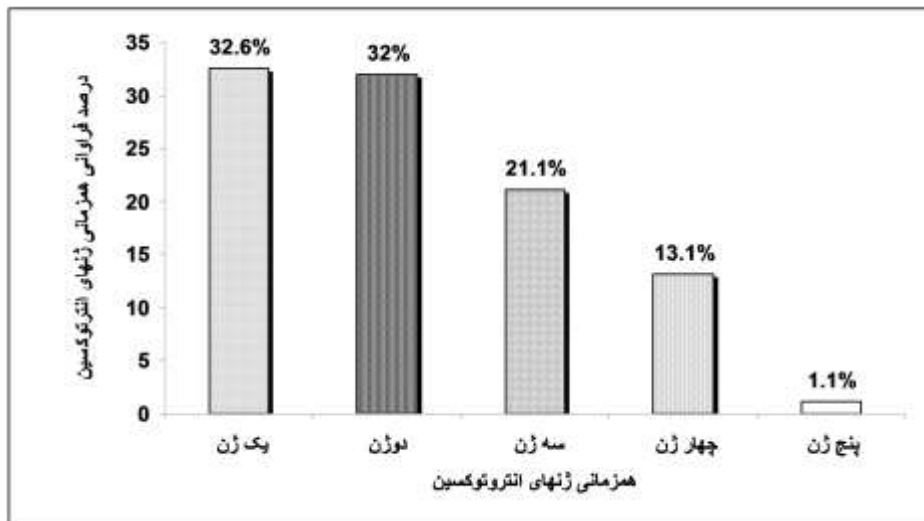
جدول ۴- توزیع فراوانی ژن انتروتوکسین در *استافیلوکوکوس اورئوس* بر اساس منبع جداسازی از افراد حامل و بیمار

منبع جدا سازی باکتری ژن انتروتوکسین	حامل سالم	بیمار	جمع	P
<i>sea</i>	۵۷ (۷۱/۳٪)	۶۷ (۵۵/۸٪)	۱۲۴ (۶۲٪)	0.02
<i>seb</i>	۳۵ (۴۳/۸٪)	۳۰ (۲۵٪)	۶۶ (۳۲/۵٪)	0.006
<i>sec</i>	۴۷ (۵۸/۸٪)	۳۲ (۲۶/۷٪)	۷۹ (۳۹/۵٪)	<0.0001
<i>sed</i>	۳۴ (۴۲/۵٪)	۲۱ (۱۷/۵٪)	۵۵ (۲۷/۵٪)	<0.0001
<i>see</i>	۳۲ (۴۰٪)	۲۷ (۲۲/۵٪)	۵۹ (۲۹/۵٪)	0.008

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

نمونه ژن انتروتوکسین	ادرار	زخم	خون	*سایر	جمع	P
<i>sea</i>	۲۴ (۵۷/۱٪)	۱۳ (۴۶/۴٪)	۱۴ (۵۸/۳٪)	۱۶ (۶۱/۵٪)	۶۷ (۵۵/۸٪)	0.6
<i>seb</i>	۱۳ (۳۱٪)	۴ (۱۴/۳٪)	۵ (۲۰/۸٪)	۸ (۳۰/۸٪)	۳۰ (۲۵٪)	0.3
<i>sec</i>	۱۰ (۲۳/۸٪)	۸ (۲۸/۶٪)	۸ (۳۳/۳٪)	۶ (۲۳/۱٪)	۳۲ (۲۶/۷٪)	0.8
<i>sed</i>	۸ (۱۹٪)	۳ (۱۰/۷٪)	۶ (۲۵٪)	۵ (۱۹/۲٪)	۲۲ (۱۸/۳٪)	0.6
<i>see</i>	۱۶ (۳۸/۱٪)	۴ (۱۴/۳٪)	۵ (۲۰/۸٪)	۲ (۷/۷٪)	۲۷ (۲۲/۵٪)	0.01

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 استافیلوکوکوس های انتروتوکسین زا

بحث

تمام ژنهای انتروتوکسین A-E در نمونه های بالینی یافت شدند و بیشترین فراوانی مربوط به ژن *sea* و سپس *see*, *seb*, *sec* 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 می دهد. 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). مطالعه ای در ردیابی ژنهای انتروتوکسین A و B بر روی ۵۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس بدست آمده از نمونه های بالینی مختلف (زخم، خون، ادرار، استفراغ، بیبی و گوش) در مراکز درمانی کرمان و رفسنجان نشان داد که تمامی ۵۰ جدایه انتروتوکسین زا می باشند (۱۹). بیشترین گاستروانتریت توسط نوع *SEA*, *SEB* ایجاد می شود که *SEA* شیوع بیشتری دارد (۲۰). که یافته های مطالعه حاضر نیز هم خوانی دارد. *SEB* نه تنها از راه گوارش بلکه از

امروزه گفته می شود که باکتری ها از عوامل مهم *FBD* (Food born disease) می باشند. پس از گونه های سالمونلا که در بین باکتری ها بیشترین عامل ایجاد کننده - *FBD* می باشند 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 می باشد. همچنین در این مطالعه

شده 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 ژن های انتروتوکسین *sea* و *seb* به طور مشخص در ناقلین بیشتر مشاهده گردید. (۲۳).

نتیجه گیری

ارتباط معنی داری بین حامل بودن و توکسین زا بودن جدایه ها وجود دارد و حضور جدایه های انتروتوکسین زا که وابسته به حاملین می باشد نگران کننده است زیرا می تواند با قرا گرفتن این افراد در پروسه های 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.

References

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 I. 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.

طریق تنفسی (آئروسول ها) هم منتقل می شود و در بیوتروریسم نیز مطرح می باشد (۲۱)، به همین دلیل این دو نوع انتروتوکسین از اهمیت بالاتری برخوردار می باشند. در مطالعه حاضر، حاملین (۹۲/۵٪) بیش از بیماران (۸۴/۲٪) دارای جدایه های انتروتوکسین زا بودند و حضور همه انتروتوکسین ها در حاملین بیش از بیماران بوده است. در حالی که در مطالعه براتی و همکاران در تهران، از ۹۸ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* هیچکدام از افراد سالم حامل این باکتری دارای این ژن نبودند، ولی در جدایه های 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 جدایه های انتروتوکسین زا *استافیلوکوکوس اورئوس* از نمونه ادراری بودند مطابقت دارد. مقایسه ای در بررسی حضور ژن های انتروتوکسین بین *استافیلوکوکوس اورئوس* های جدا شده از خون بیماران (۷۰ مورد) و ناقلین بینی (۹۵ مورد) در بیمارستانی در کره انجام شد که فراوانی انتروتوکسین در جدایه های جدا شده از خون به طور قابل ملاحظه ای متفاوت از نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا

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 Surveillance of *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.

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, Forozandeh Moghadam M, Najari Peeraye SH, Imani Fooladi AA. *Detection of Staphylococcus aureus Enterotoxins A to E from Clinical Sample by PCR*. Research Journal of Biological Sciences. 2008; 3(8): 826-829.
18. Salari Sharif A, Sattari M, Moradi M, Shahrokhah R. *Detection of Staphylococcus aureus Enterotoxin Genes A & B in Clinical Samples of the Patients Referring to the Medical Centers of Kerman and Rafsanjan Cities by PCR Technique*. J. Rafsanjan University of Medical Sciences. 2012; 11(2): 128-136.
19. Klots M, Oppen 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): 4683-4687.
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-ulert S, Paungmoung P, Rangsanpanurak W. *Epidemiological study of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus by coagulase gene polymorphism*. Science Asia. 2006; 32: 127-132.

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 Microbiology, 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_tena@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 enterotoxin, 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