مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره یازدهم، خرداد و تیر ۱۳۹۱، ۱۳۶-۱۲۸

ردیابی ژن‌های انتروتوکسین A و B باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه‌های بالینی بیماران مراجعه‌کننده به مراکز درمانی شهرستان کرمان و رفسنجان با روش ملکولی

علی سالاری‌شریف[۱]، مرتضی ستاری[۲]، محمد مرادی[۳]، رضا شاهرخ‌آبادی[۴]

دریافت مقاله: ۸۹/۶/۲۲ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۹/۸/۲۹ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۰/۴/۲۲ پذیرش مقاله: ۹۰/۵/۲۹

چکیده

زمینه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس، کوکسی گرم مثبتی است که در شرایط خاص توانایی ایجاد بیماری‌های مختلف را دارد. این باکتری با ترشح سموم مختلف از جمله انتروتوکسین شرایط تهاجم به میزبان را فراهم می‌آورد. در میان این سموم، انتروتوکسین A و B بیشترین نقش را در بیماری‌زایی ایفا می‌کنند. این تحقیق جهت ردیابی ژن‌های انتروتوکسین Aو B در نمونه‌های بالینی صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه توصیفی- مقطعی، از مهر ماه ۱۳۸۶ تا شهریور ۱۳۸۷ انجام شد. تعداد ۴۰ نمونه به صورت جداگانه از هر یک از محل‌های زخم، خون، گوش، بینی، استفراغ و ادرار بیماران مراجعه‌کننده به مراکز درمانی کرمان و رفسنجان اخذ گردید و جمعاً ۲۴۰ نمونه مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها پس از کشت و تأیید آزمون‌های بیوشیمیایی توسط تکنیک Poly Chain Reactio ارزیابی شدند.

یافته‌ها: از تعداد ۲۴۰ نمونه مورد مطالعه، ۵۰ نمونه (۲۰/۸۳٪) آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس جدا شد که از این تعداد ۳۷ مورد (۷۴٪) آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس حاوی هر دو ژن انتروتوکسین A و B بودند، همچنین، ۱۱ مورد (۲۲٪) از نمونه‌های آلوده حاوی ژن انترتوکسین A و ۲ مورد (۴٪) از نمونه بالینی حاوی ژن انتروتوکسین B شناسایی گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد بیماران می‌توانند منبعی برای انتشار آلودگی در بیمارستان‌ها باشند خصوصاً ناقلینی که این پاتوژن در بینی آنها شناسایی گردیده است. همچنین، شناسایی انتروتوکسین A و B اذعان‌کننده نقش مهم این توکسین‌ها در ایجاد عفونت‌های ثانویه در بیماران می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، ژن، انتروتوکسین، PCR

1- (نویسنده مسئول) کارشناس ارشد گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم
تلفن: ۰۳۹۱-۳۲۲۱۰۶۵، دورنگار: ۰۳۹۱-۳۲۲۱۰۶۵، پست الکترونیک: microb_05@yahoo.com
2- دانشیار گروه آموزشی میکروبیولوژی،دانشگاه تربیت مدرس تهران
3- استادیار گروه آموزشی میکروبیولوژی،دانشگاه علوم پزشکی کرمان
4- دکترای حرفه‌ای دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد و عضو باشگاه پژوهشگران جوان

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس، کوکسی گرم مثبتی است که در نقاط مختلف بدن انسان و حیوانات به صورت میکروفلور طبیعی یافت می‌شود. این باکتری در شرایط خاص چون استرس، بیماری‌های ویروسی، آسیب‌های بافتی و هر عاملی که سبب ضعف در سیستم ایمنی گردد، می‌تواند بیماری‌های مختلفی چون عفونت‌های پوستی، مسمومیت‌های غذایی، شوک‌های مخاطره‌آمیز و اختلالات ناشی از خود ایمنی را به وجود آورد [۱]. عملکرد این عامل بیماری‌زا بدین نحو است که با ترشح سموم مختلف از جمله اگزوتوکسین تب‌زا، انتروتوکسین سندرم شوک سمی و سموم سیتولیتیک سبب تهاجم به میزبان می‌شود. از مهم‌ترین سموم تولید شده توسط استافیلوکوک‌ها، سم انتروتوکسین است. انتروتوکسین‌های استافیلوکوکی از نوع A تا R می‌باشند. انتروتوکسین‌های A و B معمول‌ترین و مهم‌ترین توکسین‌های یافت شده هستند [۴-۲]. مهم‌ترین خصوصیات انتروتوکسین استافیلوکوکی، توانایی ایجاد استفراغ در پریمات‌ها، مقاومت به حرارت، هضم پپسین و خاصیت سوپر آنتی‌ژنیسیته است [۵]. سم تولید شده توسط این باکتری در انسان ایجاد مسمومیت می‌نماید که تقریباً ۵٪ مسمومیت‌های غذایی، ناشی از انتروتوکسین‌های تولید شده توسط این باکتری می‌باشد. این در حالی است که گزارش مسمومیت‌های ناشی از این انتروتوکسین به دلایل شناسایی انواع جدید رو به افزایش است [۶-۲]. هر چند در ایران اطلاعات بسیار کمی در این خصوص وجود دارد و بیشتر تحقیقات انجام شده به بررسی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی این باکتری مربوط است [۸-۷]. Bergdoll گزارش نمود که ۹۵٪ مسمومیت‌های ناشی از انتروتوکسین استافیلوکوکوس اورئوس به علت انواع A، B، C، D، E بوده و ۵٪ باقی مانده به علت انواع دیگر این باکتری می‌باشد [۶]. انتروتوکسین‌های نوع A و B استافیلوکوکی مهم‌ترین انتروتوکسین‌های تولید شده توسط استافیلوکوک کواگولاز مثبت هستند. این سم عامل اصلی مسمومیت‌های غذایی استافیلوکوکی در دنیا بوده و بیشترین مطالعات نیز در این مورد انجام شده است [۱۰-۹]. در حالی که اطلاعات کمی در خصوص انتروتوکسین‌های تولید شده توسط دیگر سوش‌ها به خصوص نوع Q و C وجود دارد و این به علت نقش کم آن‌ها در ایجاد مسمومیت غذایی می‌باشد [۱۲-۱۱]. جهت شناسایی سموم این باکتری روش‌های مختلفی از جمله لاتکس آگلاتیناسیون [۱۳]، الایزا [۱۴]، ایمونوکروماتوگرافی [۱۶-۱۵] ،لاتکس ایمونواسی [۱۷] و مگنتیک ایمونواسی [۱۸] وجود دارد که در همه این روش‌ها نیاز به فراهم شدن شرایطی برای بیان ژن انتروتوکسین استافیلوکوکی است تا بتوان نسبت به شناسایی این سموم اقدام نمود. در حالی که روش مولکولی با شناسایی ژن کدکننده سم می‌تواند سوش‌هایی که به میزان کم این سم را ترشح می‌کنند، شناسایی نماید. با توجه به اهمیت این انتروتوکسین‌ها و نقش آنها در بهداشت و سلامتی جامعه مطالعات متعددی در ایران صورت گرفته که از آن جمله می‌توان به مطالعات Sattari [۷]، Saadati [۱۰]، Anvari[۱۸]و Pourmand [۱۹] اشاره نمود. بر این اساس، مطالعه حاضر جهت شناسایی و جداسازی انتروتوکسین A و B به عنوان مهم‌ترین انتروتوکسین‌ها از نمونه‌های بالینی در شهرستان‌های رفسنجان و کرمان انجام پذیرفته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی- مقطعی، جهت شناسایی ژن انتروتوکسین A و B از روش ملکولی استفاده گردید. به منظور ردیابی استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه‌های بالینی، از بیماران مراجعه‌کننده به مراکز درمانی و آزمایشگاه مرکزی شهرستان‌های کرمان و رفسنجان به روش تصادفی، خوشه‌ای و چند مرحله‌ای از مهرماه سال ۱۳۸۶ تا شهریور سال ۱۳۸۷ نمونه‌گیری با رعایت اصول اخلاقی و رضایت بیماران انجام شد. پس از هر بار اخذ نمونه از مراکز درمانی، نمونه‌ها در کنار یخ و با رعایت اصول استاندارد به آزمایشگاه دانشکده پزشکی رفسنجان منتقل شد و مراحل جداسازی انجام گردید. حجم نمونه‌گیری براساس فرمول $n= Z^2\times P\times(1-P)/d^2$، ۲۴۰ عدد تعیین گردید. همچنین با استفاده از فرمول $n=t^2\times CV^2/D^2$ تعداد ۴۰ نمونه از هر یک از محل‌های زخم، خون، گوش، بینی، استفراغ و ادرار اخذ گردید [۷]. پس از آماده‌سازی محیط‌های کشت بلاد آگار و نوترینت براث طبق دستور کارخانه سازنده (مرک آلمان)، نمونه‌ها به این محیط‌ها انتقال یافته و پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، آزمایش‌های تشخیصی از جمله رنگ‌آمیزی گرم، آزمایش کاتالاز، کوآگولاز، DNase و مانیتول سالت آگار جهت جداسازی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس انجام شد. جداسازی و استخراج DNA میکروب از محیط کشت براث با استفاده از روش فنل-کلروفرم صورت گرفت. جهت انجام آزمایش PCR از پرایمرها ی معرفی شده توسط Sharama که توسط شرکت سیناژن ایران سنتز گردید، استفاده شد [۲۰].

جدول ۱- توالی پرایمری جهت شناسایی انتروتوکسین A و B

نام پرایمر قطعه	توصیف پرایمر	توالی نوکلوتیدی	اندازه PCR
SA-u	universalforward primer	5 TGTATGTATGGAGGTGTAAC-3´	
SA-A	revarse primer for sea	5´-ATTAACCGAAGGTTCTGT-3	**270bp**
SA-B	revarse primer for seb	5´-ATAGTGACGAGTTAGGTA-3	**165 bp**

همچنین آنزیم DNA پلی مراز، Taq، آنزیم با اثر محدود و نشانگر DNA Ladder ۱۰۰ جفت باز از کمپانی فرمنتاز در ایران خریداری شد. مواد Tris-base، dNTP (Ethylenediaminetetraacetic acid) EDTA (Deoxynucleoside Triphosphate)، کلرید منیزیم، Ribonuclease، اتیدیوم بروماید و لیزوزیم نیز از شرکت سیناژن خریداری گردید. جهت انجام آزمایش PCR از دستور ارائه شده توسط Sharama و همکاران استفاده گردید. بدین ترتیب مخلوطی از ۱ میکرولیتر پرایمر R، ۱ میکرولیتر پرایمر F، ۲ میکرو لیتر کلرید منیزیم، ۰/۵ میکرولیتر dNTP، ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰x، ۲ میکرولیتر DNA الگو، ۱ میکرولیتر آنزیم Taq و ۱۵ میکرولیتر آب مقطر تهیه شده و از برنامه حرارتی ۹۴ درجه سانتی گراد ۴ دقیقه جهت دناتوره کردن اولیه و ۳۰ مرحله تکراری ۹۴ درجه سانتی گراد ۱ دقیقه جهت دناتوره کردن، ۵۰ درجه سانتی گراد ۴۵ ثانیه جهت مرحله اتصال، ۷۲ درجه

سانتی گراد ۴۵ ثانیه (مرحله تکثیر) و مرحله انتهایی ۷۲ درجه سانتی گراد ۱۰ دقیقه (تکثیر نهایی) با استفاده از دستگاه ترموسایکلر(مدل FTC31020 ساخت انگلیس) استفاده شد. در هر مرحله، از DNA اهدایی توسط دانشگاه تربیت مدرس به عنوان نمونه کنترل مثبت و همچنین از آب مقطر به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. در پایان ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR روی ژل ۱٪ آگاروز واجد اتیدیوم بروماید در حضور مارکر ۱۰۰ جفت بازی الکتروفورز (Bio-Rad) گردید و در نهایت اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۳ و آزمون مجذور کای تجزیه و تحلیل گردید و $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

در این مطالعه ۲۴۰ نمونه از بیماران با میانگین سنی ۲۷/۶±۵ و با دامنه سنی ۱۳ تا ۴۶ سال اخذ گردید که ۵۰ نمونه (۲۰/۸۳٪) پس از انجام آزمایشات تأییدی، آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس بودند. نتایج به تفکیک محل اخذ نمونه در جدول ۱ نشان داده شده است. تعداد ۲۳ نمونه آلوده (۴۶٪) مربوط به بیماران مذکر و ۲۷ نمونه (۵۴٪) مربوط به بیماران مؤنث بودند. فراوانی ژن‌های انتروتوکسین در ۵۰ نمونه بالینی مورد مطالعه به قرار زیر بود:

۳۷ مورد (۷۴٪) از نمونه‌های بالینی آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس حاوی هر دو ژن انتروتوکسین A و B بودند، همچنین ۱۱ مورد (۲۲٪) از نمونه‌های آلوده حاوی ژن انترتوکسین A و ۲ مورد (۴٪) از نمونه بالینی حاوی ژن انتروتوکسین B بود. فراوانی ژن‌های انترتوکسین به تفکیک جنس در جدول ۲ آورده شده است. در بررسی رابطه بین جنس و نوع ژن انتروتوکسین هیچگونه رابطه معنی‌داری مشاهده نگردید.

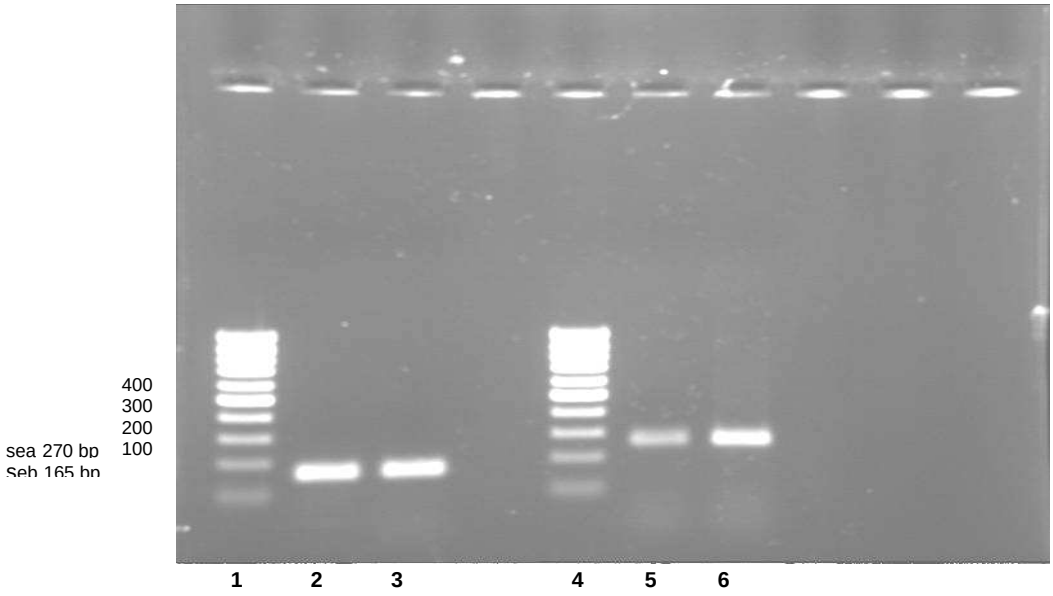
جدول ۲- فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران مراجعه‌کننده به مراکز درمانی شهرستان‌های کرمان و رفسنجان

نوع نمونه	تعداد نمونه‌های آلوده در شهرستان رفسنجان	تعداد نمونه‌های آلوده در شهرستان کرمان	مجموع تعداد نمونه‌های آلوده	فراوانی نسبی
زخم	۳	۸	۱۱	٪۲
خون	۴	۳	۷	٪۱۴
گوش	۱۰	۵	۱۵	٪۳۰
بینی	۹	۱	۱۰	٪۲۰
استفراغ	۱	۲	۳	٪۶
ادرار	۱	۳	۴	٪۸
مجموع	۲۸	۲۲	۵۰	٪۱۰۰

***n*= ۴۰**

جدول ۳- فراوانی ژن‌های انتروتوکسین A و B بر اساس جنس

جنس	تعداد نمونه	تعداد موارد آلوده	فراوانی ژن انتروتوکسین A	فراوانی انتروتوکسین B	فراوانی ژن انتروتوکسین A وB
مرد	۱۰۰	۲۳	۴ (٪۱۷/۳۹)	۱ (٪۴/۳۵)	۱۸ (٪۷۸/۲۶)
زن	۱۴۰	۲۷	۷ (٪۲۵/۹۳)	۱ (٪۳/۷۰)	۱۹ (٪۷۰/۳۷)
مجموع	۲۴۰	۵۰	۱۱ (٪۲۲)	۲ (٪۴)	۳۷ (٪۷۴)



۱ – مارکر ۲ و ۳ - seb ژن ۴ – مارکر ۵ و ۶ - sea ژن

شکل ۱- sea ژن و seb ژن بر روی ژل آگاروز

بحث

انتروتوکسین‌های استافیلوکوکوس اورئوس توانایی ایجاد بیماری‌های مختلفی را در انسان دارا هستند و مطالعات متعددی سعی در جداسازی این عامل از مواد غذایی و موارد بالینی داشته‌اند. با این وجود، بسیاری از مطالعات جهت شناسایی ژن‌های انتروتوکسین استافیلوکوکوس اورئوس در مواد غذایی انجام شده است و مطالعات کمی جهت شناسایی این عامل در موارد کلینیکی وجود دارد. در این مطالعه، ۷۴٪ ایزوله‌های جدا شده از زخم‌ها حاوی ژن‌های انتروتوکسین A و B بودند. در حالی که در مطالعه‌ای که توسط Klotz و همکاران، در طول ۵ ماه بر روی مدفوع بیماران با کمک تکنیک multiplex PCR انجام گرفت مشخص گردید که ۴۴ سویه از ۹۳ سویه استافیلوکوکوس اورئوس (۴۷/۳۱٪) جداسازی شده واجد ژن‌های کدکننده انتروتوکسین‌های مختلف بوده اند [۲۱]. همچنین در این مطالعه مشخص گردید ۴٪ از نمونه‌های بالینی آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس واجد ژن انتروتوکسین A بودند که با مطالعه Saadati و همکاران که فراوانی ژن انتروتوکسین A در نمونه‌های بالینی را ۶/۷۴٪ گزارش کردند رابطه نزدیکی دارد [۸]. در مطالعه دیگری که توسط Saadati و همکاران بر روی نمونه ناقلین سالم با کمک تکنیک PCR انجام گرفت این میزان ۲۵/۳٪ گزارش شد [۹]. در مطالعه Anvari و همکاران مشخص گردید ۷۴٪ نمونه‌ها دارای ژن انتروتوکسین A می‌باشند [۱۸]. در مطالعه‌ای که توسط Omoe و همکاران انجام شد مشخص گردید ۴۹/۹٪ نمونه‌های اخذ شده از افراد سالم حاوی ژن انتروتوکسین A می‌باشند [۴]. همچنین Pourmand و همکاران میزان فراوانی ژن انتروتوکسین A را ۴۶/۹٪ اعلام نمودند. در مطالعه حاضر بین ژن انتروتوکسین A و جنس مراجعین رابطه معنی‌داری مشخص نگردید که با نتایج حاصل از این مطالعه همخوانی دارد. علت عمده اختلاف به دست آمده در فراوانی ژن‌های انتروتوکسین در این تحقیق با سایر مطالعات می‌تواند ناشی از منشأ نمونه‌گیری باشد [۱۹]. میزان فراوانی ژن‌های انتروتوکسین A و B بر حسب این که منشاء باکتری حیوان، انسان، عفونت‌ها، غذا یا محیط باشد، متفاوت است. این امر در گزارش‌های محققان قابل مشاهده است [۹].

نتیجه‌گیری

با توجه به اهمیت پاتوژنیسیته باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و نقش آن در عفونت‌های بیمارستانی در این مطالعه مشخص گردید بیماران می‌توانند به عنوان منبعی برای انتشار آلودگی در بیمارستان (خصوصاً ناقلین که این پاتوژن در بینی آنها شناسایی گردید) محسوب گردند. همچنین شناسایی انتروتوکسین‌های A و B خود اذعان‌کننده نقش مهم این توکسین‌ها در ایجاد عفونت‌های ثانویه در افراد بیمار می‌باشد. با این وجود، تلاش جهت کنترل این عامل پاتوژن با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های مناسب می‌تواند نقش مهمی در جلوگیری از آسیب‌های ناشی از توکسین‌های این باکتری داشته باشد.

تشکر و قدردانی

از کارکنان محترم آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس تهران و دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان که در انجام این مطالعه یاری رساندند، صمیمانه تشکر می‌گردد.

References

[1] Dinges MM, Dinges P, Orwin M. 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 P, Fitzgerald J, Leung D. Characterization of staphylococcus aureus enterotoxin l. *Infect Immune* 2003; 71(5): 2916-9.

[4] 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. *Clin Microbiol J* 2002; 40(3): 857-62.

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

[6] Bergdoll M. Enterotoxins In Easton CSF. Staphylococci and staphylococcal infections. United Kingdom, London: academic press. 1983; 559-98.

[7] Sattari M, Rahimi Milashi M, Zavaran Hosseini A. Evaluation of staphyloccal contamination on dairy products and antibiotic resistance pattern in Tehran. *Modarres j Med Sci* 1998; 2: 63-6. [Farsi]

[8] Saadati M, Barati B, Shirazi M. Detection of methicillin – resistant staphylococcus aureus type and molecular assay for the simultaneous detection of sea and seb genes. *The 5th* National Biotechnology Congress of Iran. 2007; 782.

[9] Barati B, Saadati M , Bahmani M Kh. Isolation and Detection of Enterotoxigenic Staphylococcus Aureus Type A by Multiplex PCR. *Military Medicine J* 2006; 8 (2): 119-28. [Farsi]

[10] Saadati M, Barati B, Shirazi M. Detection of sea, sec and seq genes in Staphylococcus aureus nasal sampling acquiring from healthy carrier. *Iranian South Medical J* 2008; 12(8): 1-16. [Farsi]

[11] Evenson M L, Hinds MW, Bernstein RS, Bergdoll MS. Estimation of human dose of staphylococcal enterotoxin A from a large outbreak of staphylococcal food poisoning involving chocolate milk. *Food Microbiol J* 1988; 7(4): 311-6.

[12] Chen TR, Chiou CS, Tsen HY. Use of novel PCR primers specific to the genes of staphylococcal enterotoxin G, H, I, for the survey of staphylococcus aureus strains isolated from food-poisoning cases and food samples in Taiwan. *Food Microbiol J* 2004; 92(2): 189-97.

[13] Medina MB. Development of a fluorescent latex micro particle immunoassay for the detection of staphylococcal enterotoxin B (SEB). *Agric Food Chem J* 2006; 54(14): 4937-42 .

[14] Wieneke A, Gilbert R. The use of a sandwich Elisa for the detection of staphylococcals enterotoxin A

in foods from outbreaks of food poisoning. *Lond Hygiene* 1985; 95(1): 131-8.

[15] Bennett RW. Staphylococcal enterotoxin and its rapid identification in foods by and its rapid identification in foods by enzyme-linked immunosorbent assay-based methodology. *Food Protect J* 2005; 68(6): 1264-7.

[16] Khreich N, Lamourette P, Boutal H, Devilliers K, Creminon C, Volland H. Detection Of Staphylococcus enterotoxin B using fluorescent immunoliposomes as label for immunochromatograprahic testing. *Analytical Biochem J* 2008; 377(2): 182-8.

[17] Alefantis T, Grewal P, Ashton J, Khan AS, Valdes JJ, Delvecchio VG. A rapid and sensitive magnetic bead-based immunoassay for the detection Of staphylococcal enterotoxin B for high-through put screening. *Molecular Cell Biology* 2004; 18(6): 379-82.

[18] Anvari SH, Sattari M, Forozandehmoghadam M, Najarpeerayeh SH, Fouladi I. Detection of staphylococcus aureus entrotoxin A to E from Clinical sampel by PCR. *Res J Biological Sci* 2008; 3: 826-9.

[19] Pourmand MR, Memariani M, Hosseini M, Bagherzadehyazdchi S. High Prevalence of sea gene amang clinical isolates staphylococcus aureus Tehran. *Acta Medecin Iranica* 2009; 4: 357-61.

[20] Sharma N K, Rees CE, Dodd CE. Development of a single-reaction multiplex PCR toxin typing assay for Staphylococcus aureus strains. *App Environ Microbiol* 2000; 66(4): 1347–53.

[21] Klotz 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): 4683-7.

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

A. Salari Sharif[1], M. Sattari[2], M. Moradi[3], R. Shahrokhabad[4]

Received: 13/09/2010 Sent for Revision: 20/11/2010 Received Revised Manuscript: 13/07/2011 Accepted: 20/08/2011

Background and Objectives: Staphylococcus aureus is the positive gram 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 entrotoxin. A and B entrotoxins have the most infections effect among these toxins. that's why, this experiment for the has been conducted for the detection of entrotoxin genes A and B in clinical samples.

Materials and Method: This cross-sectional and descriptive study, which was conducted from September 2007 to August 2008. Two handred and forty clinical samples from wound, wound, blood, ear, nose, vomited secretions and urine were separation investigated (forty from each sample) and taken from the patients. then after the culture of the samples and conducting confirming biochemical tests, then they were assessed by Poly Chain Reaction technique.

Results: After the diagnosis of this bacteria and conducting objective test, from two hundred and forty samples examined throughout this study, fifty ones (20.83%) were infected by Staphylococcus aureus. Thirty seven cases (74%) of these infected samples were carrying both entrotoxin A and B genes. The frequencies of A and B genes were 11(22%) and 2 (4%), respectively.

Discussion: This study identified that 20.83% of the patients were carrying the pathogen as the source of infection. The detection of entrotoxin A and B genes, shows the most important role they have in bringing about superinfection.

Key words: Staphylococcus Aureus, Gene, Enterotoxins, PCR

Funding: This research was funded by Islamic Azad University Qom Branch.

Conflict of Interest: Not declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Islamic Azad University Qom Branch approved the study.

How to cite this article: 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 Rafsanjan Univ Med Scie* 2012; 11(2): 128-36. [Farsi]

1- MSc:Dept. of Microbiology, Islamic Azad University ,Qom Branch ,Qom, Iran
(Corresponding Author) (0391) 3221065, Fax:(0391) 3221065, E-mail: microb_05@yahoo.com
2- Associated Prof., Dept. of Microbiology; Tarbiat Modares University,Tehran, Iran
3- Assistant Prof., Dept. of Microbiology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
4- Veterinary Medicine Doctor, Islamic Azad University, Shahrekord Branch and Membrane Juvenile Research Club, Shahrokord, Iran