(مقالهٔ پژوهشی)

بررسی فراوانی نسبی ژن انتروتوکسین A، و ارتباط آن با مقاومت های ضدمیکروبی در ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه های بالینی بیماران بستری در بیمارستان های گلستان و امام خمینی (ره) شهرستان اهواز

احمد فرج زاده شیخ[1]، یوسف رنجبر[2]، حسین مقدادی[2*]، آمنه عالمی[2]

۱-دانشیار گروه میکروب شناسی پزشکی.
۲-دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی پزشکی.

۱- پژوهشکده سلامت، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز،ایران.
۲-گروه میکروب‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، پژوهشکده سلامت، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، ایران.

*نویسندهٔ مسؤول:
حسین مقدادی؛ گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، ایران.
تلفن:۰۰۹۸۹۱۲۷۸۰۹۲۴۵

Email:
h.meghdadi20@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: باکتری‌های جنس استافیلوکوکوس بیشترین فراوانی را در بین ایزوله‌های جدا شده از نمونه‌های بالینی به خود اختصاص داده‌اند. گونه‌های استافیلوکوکوس اورئوس تولید کننده انتروتوکسین A نسبت به گونه‌های فاقد این توکسین قدرت ماندگاری بیشتری را در برابر دفاع ایمنی میزبان و آنتی‌بیوتیک‌ها دارا می‌باشند. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی نسبی ژن انتروتوکسین A در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی، و ارتباط آن با مقاومت های ضد میکروبی می باشد.

روش بررسی: تمامی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی، پس از تایید توسط تست‌های بیوشیمیایی، میزان مقاومت آنتی بیوتیکی آن توسط روش دیسک دیفیوژن آگار مورد ارزیابی قرار گرفت. و روش PCR برای اثبات وجود ژن انتروتوکسین A به کار گرفته شد.

یافته‌ها: از ۲۲۲ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس، ۱۰۲(۴۵/۹۴ درصد) ایزوله واجد ژن انتروتوکسین A بودند و این ایزوله‌ها دارای مقاومت بالایی در مقابل آنتی بیوتیک های سیپروفلوکسازین، متی سیلین، جنتامایسین، اریترومایسین و کلیندامایسین بودند.

نتیجه‌گیری: ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس که واجد ژن انتروتوکسین A هستند در بیمارستان های گلستان و امام‌خمینی دارای فراوانی بالایی بودند و این ایزوله ها از مقاومت آنتی بیوتیکی بالاتری نسبت به سویه‌های فاقد این ژن برخوردار بودند.

کلید واژگان: استافیلوکوکوس اورئوس، انتروتوکسین A ، PCR ، دیسک دیفیوژن.

دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۷/۵ **دریافت مقالهٔ اصلاح‌شده: ۱۳۹۳/۱۲/۱۶** **اعلام قبولی: ۱۳۹۴/۲/۱۹**

مقدمه

استافیلوکوکس‌ها بیشترین فراوانی را در بین ایزوله-های جدا شده از نمونه‌های بالینی به خود اختصاص داده‌اند. این ارگانیسم‌ها قادرند در یک موضع از بدن تکثیر شوند و با تولید اگزوتوکسین‌ها و آنزیم های مختلف باعث آسیب بافتها گردند. توکسین‌های استافیلوکوکی مسئول ایجاد مسمومیت های غذایی، سندرم فلسی شدن پوست و سندرم شوک توکسیک می‌باشند(۱). باکتری استافیلوکوکوس اورئوس این توانایی را دارد که به سرعت خود را با آنتی بیوتیک‌ها تطبیق داده و به آنها مقاوم گردد. ظهور و گسترش سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین یک مثال بارز از این قضیه می باشد (۲).

این باکتری در بردارنده مجموعه ای از فاکتورهای متعدد مانند: فاکتورهای ویرولانس، فاکتورهای تهاجم، توکسین ها و فاکتورهای مقاومت آنتی بیوتیکی می باشد. عوامل مسبب بروز مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها و مواد سمی توسط یکسری از عناصر متحرک ژنتیکی نظیر پلاسمیدها و ترانسپوزنها حمل می گردند. از این عناصر متحرک ژنتیکی می توان به جزیره پاتوژنیسیتی استافیلوکوکوس اورئوس (staphylococcal pathogenicity islands (SaPIs)) و کاست کروموزومی مقاومت به متی سلین (staphylococcal chromosome cassette methicillin-resistance islands (SCC*mecs*)) اشاره نمود. مقاومت آنتی بیوتیکی در این باکتری در حال حاضر به عنوان یک نگرانی عمده در سراسر جهان مطرح می باشد(۳).

بررسی‌های آماری حاکی از آن است که هزینه‌های بالایی جهت مدیریت و کنترل عفونت‌های مقاوم به آنتی بیوتیک در دنیا مصرف می‌گردد، بعنوان نمونه در حدود ۱۰۰ میلیون دلار سالانه جهت درمان استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به آنتی بیوتیک ها در بیمارستان‌های کانادا مصرف می گردد. این آمار در سایر کشورها از رقم های بالاتری برخوردار است(۴).

استافیلوکوکوس اورئوس، با داشتن انتروتوکسین های متعدد به عنوان عامل اصلی مسمومیت های غذایی مطرح می باشد. این انتروتوکسین‌ها به عنوان سوپر آنتی ژن قادرند موجب تکثیر لنفوسیت های نوع T نیز گردند(۳).

انتروتوکسین‌ها پروتئین‌هایی با توالی‌های آمینو اسیدی متشابه، نزدیک به هم و مقاوم به حرارت هستند که قادرند باعث ایجاد حالت تهوع و استفراغ گردند. از میان انتروتوکسین‌های استافیلوکوکوس اورئوس، انتروتوکسین نوع A رایج ترین انتروتوکسین از نمونه‌های غذایی و هم از کلینیکی گزارش شده است. ژن این انتروتوکسین توسط باکتریوفاژها حمل می‌گردد، در صورتی که ژن انتروتوکسین B و C روی کروموزوم واقع شده است که می تواند عامل گسترش و شیوع بیشتر این انتروتوکسین در مقایسه با سایر انتروتوکسین‌ها باشد.گونه‌های استافیلوکوکوس اورئوس تولید کننده انتروتوکسین نسبت به گونه‌های فاقد این خاصیت مقاومت بیشتری را در برابر دفاع ایمنی میزبان دارا می‌باشند. بعلاوه ایزوله‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک که در نتیجه مواجهه مکرر با آنتی بیوتیک‌ها دچار موتاسیون شده اند می‌توانند تحت عنوان سوش‌های جدید مجدداً آشکار گردند و با دارا بودن خواص انترتوکسیژنیک بالا شرایط پیچیده و غیر قابل کنترلی را به وجود آورند. مساله ایجاد جمعیت باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک که همزمان انتروتوکسیژنیک نیز می‌باشند یک مساله مهم می‌باشد(۵ و۶).

با توجه به اینکه مقاومت باکتری‌ها از جمله استافیلوکوکوس اورئوس‌ها به آنتی بیوتیک‌ها یکی از مشکلات عمده سلامت جهانی می باشد و با توجه به اینکه سویه‌های انتروتوکسیژنیک استافیلوکوکوس اورئوس

مقاومت بسیار بالایی به آنتی‌بیوتیک‌ها ایجاد می‌کنند، ضرورت وجود آمار دقیق در مورد این ایزوله‌ها احساس می شود. در این مطالعه سعی شده میزان فراوانی ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس دارای ژن انتروتوکسین A در بیمارستان های آموزشی شهر اهواز بررسی گردد و همچنین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس دارای ژن انتروتوکسین A و فاقد آن مورد بررسی قرار گیرد.

روش بررسی

در این مطالعه ۲۲۲ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس در طی ۱۲ ماه از دو بیمارستان آموزشی گلستان و امام خمینی(ره) شهرستان اهواز جمع‌آوری گردید. جهت محاسبه تعداد نمونه ضمن بررسی مطالعات گذشته که در این خصوص صورت گرفته بودند(۱۱و۱۳)، به طور میانگین میزان شیوع ژن انتروتوکسین A، ۱۷/۵ درصد بود که با محدوده اطمینان ۹۵٪ ودقت ۰/۰۵ برآورد گردید و تعداد 222 نمونه استاف اورئوس برای جمع آوری محاسبه گردید.

$$n = \frac{Z^2 P(1-P)}{d^2} = \frac{(1.96)^2.0.175(1-0.175)}{0.0025} = 222$$

p=17.5%
d=0/05

لذا براساس محاسبه آماری تعداد 222 نمونه استافیلوکوکوس اورئوس از نمونه‌های بالینی جمع آوری گردید.

نمونه‌هایی که ایزوله‌ها از آنها جداسازی گردید، شامل: (۳۶٪) ۸۰ زخم، (۲۷/۹٪)۶۲ خون، (۱۱/۲٪) ۲۵ تراشه، (۹٪) ۲۰ ادرار، (۵/۸۵٪)۱۳کاتتر، (۴/۵)۱۰چشم، (۳/۱۵٪) ۷ مایع مفصل، (۱/۸٪) ۴ مایع آسیت و (۰/۴۵٪)۱ مایع پلور بود.

برای تایید باکتری استافیلوکوکوس اورئوس از یکسری تستهای بیوشیمیایی استفاده گردید که مهم ترین آنها عبارتند از: کشت روی آگار خوندار گوسفندی ۵ درصد برای مشاهده همولیز، رنگامیزی گرم، تست کاتالاز، تست کواگولاز، بررسی تخمیر مانیتول و تست DNASE (۷ و ۸). الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌ها نسبت به دیسک‌های کلیندامایسین(۲ میکروگرم)، اگزاسیلین(۵ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین(۵ میکروگرم)، جنتامایسین(۱۰ میکروگرم)، وانکومایسین(۱۰ میکروگرم)،اریترومایسین(۱۵ میکروگرم) و کلرآمفنیکل (۳۰ میکروگرم)تهیه شده از شرکت مست انگلستان به روش Kirby-Bauer و براساس استانداردهای CLSI مورد آزمون قرار گرفت(۹).

جهت استخراج DNA ایزوله‌های استاف اورئوس چند کلونی خالص از ایزوله استاف اورئوس وارد میکروتیوب استریل محتوی ۲۰۰ میکرولیتر لیزین بافر گردید و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد قرار داده شد و با دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس از محلول شفاف رویی بعنوان DNA الگو جهت تست PCR استفاده گردید(۱۰). تکثیر ژن انتروتوکسین A با استفاده از روش PCR برای انجام این واکنش یک جفت پرایمر' F:5'-GGTTATCAATGTGCGGGTGG-3 و R: 5'-CGCCACTTTTTTCTCTTCGG-3' به منظور تکثیر قطعه 102bp از ژن SEA استافیلوکوکوس اورئوس مورد استفاده قرار گرفت(۱). این واکنش در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر توسط PCR buffer 10x، 1.5mM Mg Cl2، 10mM dNTPs، 1µM از هر پرایمر، 1Uاز Taq DNA polymerase (سیناژن – ایران) و 5µl از DNA الگو انجام شد. برنامه تکثیر با دناتوراسیون اولیه (۵ دقیقه در دمای ^0C ۹۵) آغاز شد و با ۳۵ سیکل شامل دناتوراسیون (۱ دقیقه در دمای ^0C ۹۵)،

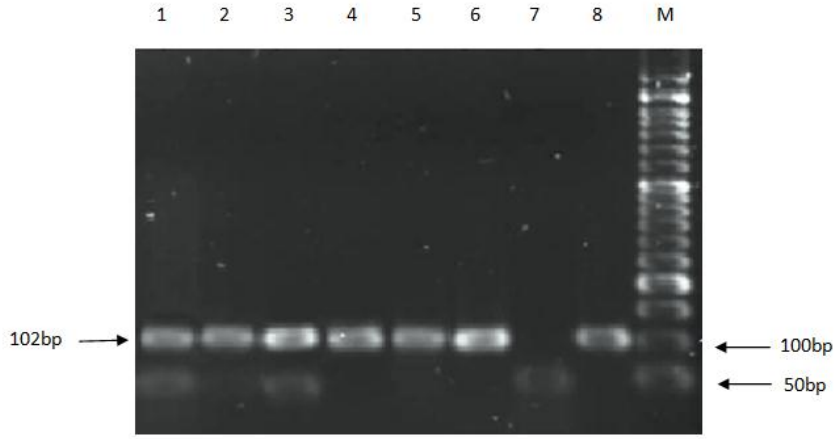
اتصال پرایمر (۱ دقیقه در دمای 58^0C) و گسترش (۱ دقیقه در دمای 72^0C) ادامه یافت و با گسترش نهایی (۵ دقیقه در دمای 72^0C) پایان یافت. ضمناً از سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC25923 واجد ژن انتروتوکسین A به عنوان کنترل مثبت و از سویه استاندارد استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ATCC12228 به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. و محصول PCR روی ژل آگاروز ۳درصد محتوی 1 mg/ml اتیدیوم بروماید (سیناژن – ایران) مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها

۲۲۲ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس از بیمارستان‌های گلستان و امام خمینی (ره) شهرستان اهواز جمع آوری و توسط تست های بیوشیمیایی مورد تأیید قرار گرفت. که در تمام سویه ها تست های کاتالاز، کوآگولاز، تخمیر مانیتول و DNASE مثبت بود. از مجموع ۲۲۲ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس وجود ژن انتروتوکسین A (SEA) در (۴۵/۹۴ درصد) ۱۰۲ ایزوله به وسیله PCR تایید شد(شکل ۱).

در این مطالعه بیشترین فراوانی ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس مربوط به بخش ICU بیمارستان گلستان با (۳۶،۵۸ درصد) ۳۰ و بخش اطفال بیمارستان امام خمینی با (۲۱/۴۲ درصد) ۳۰ بودند. میزان فراوانی سویه‌های واجد ژن انتروتوکسین A در بیمارستان‌های گلستان و امام خمینی (ره) به ترتیب ۴۶/۳ درصد و ۴۵/۷ درصد گزارش گردید.

تست حساسیت آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن بر روی تمامی ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس دارای ژن انتروتوکسین A و هم فاقد ژن انتروتوکسین A انجام گرفت (جدول۱). بررسی آماری روی نتایج صورت گرفت و نتایج با هم مقایسه گردید.



شکل۱: شماره ۱تا۶ نمونه های مثبت از نظر وجود ژن انتروتوکسین A (SEA)، شماره ۷ کنترل منفی (سویه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ATCC12228)، شماره ۸ کنترل مثبت(سویه استافیلوکوکوس اورئوس ATCC25923) و M: Ladder 50 bp

جدول ۱: ارتباط میان میزان مقاومت های آنتی بیوتیکی و سویه های واجد ژن و فاقد ژن انتروتوکسین A

دیسک آنتی بیوگرام	SEA Neg Resistant	SEA Pos Resistant	P.Value
سیپروفلوکساسین	۴۶(٪۳۸/۳)	۵۵(٪۵۳/۹)	۰/۰۱۵
متی سیلین	(٪۳۳/۳۳) ۴۰	۵۵(٪۵۳/۹)	۰/۰۰۶
جنتامایسین	۴۵(٪۳۷/۵)	۵۰(٪۴۹)	۰/۱۷۳
اریترومایسین	۴۹(٪۴۰/۸)	۶۵(٪۶۳/۷)	۰/۰۱۷
کلینداماسین	۴۵(٪۳۷/۵)	۵۰(٪۴۹)	۰/۰۲۷
وانکومایسین	۰ (٪۰)	۰ (٪۰)	۰/۹۲
کلر آمفنیکل	۷(٪۵/۸۳)	۵(٪۴/۹)	۰/۸۷۷

جدول ۲: فراوانی سویه های واجد ژن انتروتوکسین A بر حسب نمونه های مختلف بالینی

نمونه بالینی	کل نمونه	Seaسویه های فاقد ژن	Sea سویه های واجد ژن	P.Value
زخم	۸۰	۳۵ (٪۴۳/۷۵)	۴۵(٪۵۶/۲۵)	۰/۰۰۱
خون	۶۲	۲۲ (٪۳۵/۴۸)	۴۰ (٪۶۴/۵۱)	۰/۰۰۰۱
تراشه	۲۵	۱۸ (٪۷۲)	۷ (٪۲۸)	۰/۰۴۳
ادرار	۲۰	۱۴ (٪۷۰)	۶(٪۳۰)	۰/۱۰۲
کاتتر	۱۳	۱۰ (٪۷۶/۹۳)	۳ (٪۲۳/۰۷)	۰/۰۷۶
چشم	۱۰	۳ (٪۳۰)	۷(٪۷۰)	۰/۱۰۸
مایع مفصل	۷	۴ (٪۵۷/۱۵)	۳(٪۴۲/۸۵)	۰/۵۸۹
مایع آسیت	۴	۳ (٪۷۵)	۱ (٪۲۵)	۰/۵۶۱
مایع پلور	۱	۱ ٪(۱۰۰)	۰ (٪۰)	۰/۵۴۱

بحث

درمان عفونت‌های بیمارستانی در سراسر جهان به عنوان یک موضوع بسیار با اهمیت می باشد. در این مطالعه به منظور بررسی نقش انتروتوکسین A در ایجاد مقاومت-های آنتی بیوتیکی در ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس، ۲۲۲ ایزوله از این باکتری از دو بیمارستان آموزشی شهرستان اهواز جمع آوری و مورد بررسی قرار گرفت.

از مجموع ۲۲۲ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس که ما در این مطالعه مورد بررسی قرار دادیم، ۸۰ (۳۶/۳ درصد) از کشت زخم و ۶۲ (۲۷/۹۲ درصد) از کشت خون جداسازی گردید و این موارد در مقایسه با سایر نمونه‌های بالینی از بالاترین فراوانی در این مطالعه برخوردار بودند. بعلاوه ۷۲/۵۸ درصد از ایزوله‌های جداسازی شده از خون، واجد ژن انتروتوکسین نوع A بودند(جداول ۱ و ۲).

در مطالعه ما میزان فراوانی سویه‌های واجد ژن انتروتوکسین A معادل ۴۵/۹۴ درصد بود اما در مطالعه صورت گرفته توسط ایمانی فولادی و همکاران در تهران، سویه‌های واجد ژن انتروتوکسین A، ۲۰ درصد گزارش شده بود(۱۲). ضمناً در مطالعه ما هیچ سویه مقاوم به وانکومایسینی مشاهده نشد اما در مطالعه مذکور ۱درصد سویه‌های مقاوم به ونکومایسین گزارش شده بود که علت این اختلاف می تواند به خاطر تفاوت در جمعیت و نمونه-های بالینی مورد مطالعه باشد. در مطالعه دیگر در شهر تهران که توسط پورمند و همکاران انجام شده بود، فراوانی ژن انتروتوکسین A، ۴۶/۹ درصد گزارش شده بود(۱۳). که از نظر فراوانی ژن انتروتوکسین A بسیار به مطالعه ما نزدیک بود (۴۵/۹۴ درصد). مطالعات دیگر که در سایر نقاط جهان انجام گرفته است ارقام دیگری را نشان می دهند (۱۸-۱۴).

در این مطالعه میزان فراوانی ژن انتروتوکسین A، در ایزوله‌های جدا شده از خون معادل ۷۲/۵۸درصد بود که در مقایسه با مطالعه فلور در روسیه، میزان شیوع این ژن در نمونه‌های خون ۷۶/۵ درصد به روش هماگلوتیناسیون غیر مستقیم گزارش شده بود، که رقم گزارش شده به مطالعه ما بسیار نزدیک می باشد(۱۹).

یافته‌های ما نشان دادند که سویه‌های واجد ژن انتروتوکسین A، مقاومت بالایی را نسبت به آنتی بیوتیک-های سیپروفلوکساسین، متی‌سیلین، جنتامایسین، اریترومایسین، کلیندامایسین، وانکومایسین و کلرآمفنیکل دارند.

میزان P.Value برای آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، متی سیلین، اریترومایسین و کلیندامایسین به ترتیب ۰/۰۱۵ ،۰/۰۰۶، ۰/۰۱۷، ۰/۰۲۷ بود، که همه این مقادیر پایین از ۰/۰۵ (یعنی مقدار فرض آزمون های آماری این مطالعه) بودند. این مساله بیانگر این مطلب می باشد که بین مقاومت بالای مشاهده شده به این آنتی بیوتیک‌ها و وجود ژن انتروتوکسین A از نظر آماری ارتباط معنی داری برقرار می باشد و سویه‌های واجد ژن مذکور از مقاومت آنتی بیوتیکی بالاتری نسبت به سویه‌های فاقد ژن برخوردار هستند. یافته‌های ایمانی فولادی و همکارانش نیز از این نظر مشابه یافته‌های ما بودند(۱۲). در سایر نمونه های بالینی ارتباط معنی داری بین نوع نمونه و فراوانی ژن انتروتوکسین A گزارش نگردید.

نتیجه گیری

با توجه به نتایجی که از این مطالعه به دست آمد به طور کلی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس واجد ژن انتروتوکسین A از مقاومت آنتی بیوتیکی بالاتری نسبت به سویه های فاقد ژن برخوردار بودند. بعلاوه از آنجایی که ژن انتروتوکسین A در این سویه‌ها از طریق فاژها منتقل می شود و با توجه به این مساله که فاژها از قدرت انتقال و گسترش بالایی برخوردارند، لزوم پایش و کنترل سویه های مذکور امری ضروری به نظر می‌رسد، که در این راستا توجه و نظارت بیشتر بر کارکنان درمان و افراد دست اندرکار در امر تهیه، طبخ و توزیع مواد غذایی به عنوان منابع عمده این ایزوله ها امری اجتناب ناپذیر می باشد.

منابع

1-Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Philadelphia,USA: Lippinllcott Williams & Wilkins; 2006. 622-60.
2- Le Loir Y, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning . Genet Mol Res. 2003;2(1):63-76.
3-Ortega E, Abriouel H, Lucas R, Gálvez A. Multiple roles of *Staphylococcus aureus* enterotoxins: pathogenicity, superantigenic activity, and correlation to antibiotic resistance. Toxins (Basel). 2010 ;2(8):2117-31.
4-Larkin EA, Carman RJ, Krakauer T, Stiles BG. *Staphylococcus aureus*: the toxic presence of a pathogen extraordinaire. Curr Med Chem. 2009;16(30):4003-19

5-Balaban N, Rasooly A. *Staphylococcal* enterotoxins. Int J Food Microbiol. 2000;61(1):1-10.
6-Ellis M, Serreli A, Colque-Navarro P, Hedstrom U, Chacko A, Siemkowicz E, et al. Role of staphylococcal enterotoxin A in a fatal case of endocarditis. J Med Microbiol 2003;52:109-12.
7- Harrison LS. Staphylococc. In: Mahon C, Lehman D, Manuselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology. 3th ed, Saunders & Elsevier: USA,2007;PP.367-81.
8-Peacock SJ. Staphylococc. In: Boriello S, Murray P, Funke G, editors. Topley and Wilsons Microbiology and Microbial Infections. 10th ed. ASM press:Washington,2005; PP.771-832.
9-Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing:Informational Supplement M100- S24.PA,USA:CLSI;2014.
10-Reischl U, Linde HJ, Metz M, Leppmeier B, Lehn N. Rapid identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and simultaneous species confirmation using real-time fluorescence PCR. J Clin Microbiol. 2000;38(6):2429-33.
11-Nowroozi J, Goudarzi G, Pakzad P, Razavipour R. Isolation and Detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins A-E and TSSt-1 Genes from Different Sources by PCR Method. Journal Qom University of Medical Sciences. 2012;6(3):78-83.
12-Imanifooladi AA, Sattari M, Peerayeh SN, Hassan ZM, Hossainidoust SR. Detection the *Staphylococcus aureus* producing enterotoxin isolated from skin infections in hospitalized patients. Pak J Biol Sci. 2007;10(3):502-5.
13-Pourmand M, Memariani M, Hoseini M, BagherzadehYazdchi S . High Prevalence of SEA Gene Among Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus* in Tehran. Acta Medica Iranica. 2009; 47(5): 357-61.
14-Boyce JM, Havill NL. Nosocomial antibiotic-associated diarrhea associated with enterotoxin-producing strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Am J Gastroenterol. 2005;100(8):1828-34.
15-Durand G, Bes M, Meugnier H, Enright MC, Forey F, Liassine N, Wenger A, Kikuchi K, Lina G, Vandenesch F, Etienne J. Detection of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones containing the toxic shock syndrome toxin 1 gene responsible for hospital and community acquired infections in France. J Clin Microbiol. 2006;44(3):849-50.
16-Ghaznavi-Rad E, Nor Shamsudin M, Sekawi Z, Khoon LY, Aziz MN, Hamat RA, Othman N, Chong PP, van Belkum A, Ghasemzadeh-Moghaddam H, Neela V. Predominance and emergence of clones of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Malaysia. J Clin Microbiol. 2010;48(3):869-70 .
17-Udo EE, Al-Mufti S, Albert MJ. The prevalence of antimicrobial resistance and carriage of virulence genes in *Staphylococcus aureus* isolated from food handlers in Kuwait City. BMC Res Notes. 2009; 2:108 .
18-Nienaber JJ, Sharma Kuinkel BK, Clarke-Pearson M, Lamlertthon S, Park L, Rude TH, Barriere S, Woods CW, Chu VH, Marín M, Bukovski S, Garcia P, Corey GR, Korman T, Doco-Lecompte T, Murdoch DR, Reller LB, Fowler VG Jr.Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* endocarditis isolates are associated with clonal complex 30 genotype and a distinct repertoire of enterotoxins and adhesins. J Infect Dis. 2011;204(5):704-13.
19-Fluer FS, Prokhorov VIa, Bondarenko VM, Dmitrienko OA, Lashenkova NN, Men'shikova ED, et al. Isolation rate of enterotoxigenic staphylococci in patients with sepsis, pneumonia and burns. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol. 2005;(5):3-6.

The Frequency of Enterotoxin A Genes and its Association with Antimicrobial Resistance among Staphylococcus aureus Isolates from Clinical Specimens from Patients Admitted to Golestan and Imam Khomeini Hospitals in Ahvaz, Iran

Ahmad Faraj Zadeh Sheykh[1], Yousef Ranjbar[2], Hossein Meghdadi[2*], Ameneh Alami[2]

1-Associate Professor of Microbiology.
2-M.Sc. of Microbiology.

1-Health Research Institute, Infection and Tropical Disease, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
2-Department of Microbiology, School of Medical, Health Research Institute, Infection and Tropica; Disease, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

[*]Corresponding Author:
Hossein Meghdadi; Department of Microbiology, School of Medical, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
Tel:+989127809245
Email:
h.meghdadi20@gmail.com

Abstract

Background and Objectives: *Staphylococcus* species have higher abundance among isolated isolates from clinical samples. The spices of *Staphylococcus aureus* which produces enterotoxin A is more viable against host immune defence. The purpose of this study was to assess the relative abundance of entrotoxin A gene and its relation with antimicrobial resistance in isolates of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples.

Subjects and Methods: All of the isolates of *Staphylococcus aureus* from sample of patient sent to Golestan and Imam Khomeini hospital clinical labs, were tested biochemically in order to confirm the presence of *Staphylococcus aureus* strains. Antibiotic resistance of the isolates was assessed by disk diffusion method and PCR method for detection of entrotoxin A gene.

Results: Among 222 isolates of *Staphylococcus aureus* from different clinical samples, 102 (45.94%) of these isolates had entrotoxin A gene. This isolates has been highly resistant to the antibiotics such as Ciprofloxacin, methicillin, gentamicin, erythromycin and clindamycin.

Conclusions: The frequency of the *Staphylococcus aureus* isolates which produces enterotoxin A Gene in Golestan and Imam Khomeini hospitals was high (46.3% and 45.7% Respectively). This samples also have more resistance against antibiotics than the other which has not gene.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Entrotoxin A, PCR, Disk diffusion.

►*Please cite this paper as:*
Faraj Zadeh Sheikh A, Ranjbar Y, Meghdadi H, Alami A. The Frequency of Enterotoxin A Genes and its Association with Antimicrobial Resistance among Staphylococcus aureus Isolates from Clinical Specimens from Patients Admitted to Golestan and Imam Khomeini Hospitals in Ahvaz, Iran. Jundishapur Sci Med J 2015; 14(3):301-308.

Received: Sep 27, 2014 **Revised: Mar 7, 2015** **Accepted: May 9, 2015**