مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۷، شماره ۲، تابستان ۹۶، صفحات ۱۳۸ تا ۱۴۳

Original Article

تشخیص ملکولی فراوانی جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* حاوی ژن‌های انتروتوکسین A و B جدا شده از عفونت‌های پوستی در بیمارستان رازی تهران

کتایون ابوالقاسمی[۱]، ناصر هرزندی[۲]، مهروز دزفولیان[۳]

[۱] دانشجو کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
[۲] استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
[۳] استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *استافیلوکوکوس اورئوس، پاتوژن رایج بیمارستانی و اکتسابی از جامعه است. این باکتری عوامل حدت مختلف داشته و با ترشح سموم مختلف از جمله انتروتوکسین‌های سوپر آنتی ژنی شرایط تهاجم به میزبان را فراهم می‌کند. در این میان انتروتوکسین A و B (SEA وSEB) بیشترین نقش را در بیماری زایی دارند. هدف از این مطالعه، تعیین فراوانی ژن‌های انتروتوکسین A و B در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس از عفونت‌های پوستی در بیمارستان رازی تهران بود.*

روش بررسی: *در مجموع ۶۵ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس از نمونه‌های پوستی با روش‌های فنوتیپی و ملکولی با استفاده از پرایمر اختصاصی تا حد گونه شناسایی شدند. سپس حضور ژن sea و seb با تکنیک(PCR(Polymerase Chain Reaction با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تشخیص داده شد.*

یافته‌ها: *نتایج PCR نشان داد که ۸۶/۲۰٪ از جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس حامل ژن sea بودند و فراوانی ژن seb در جدایه‌های مورد آزمایش ۴۰/ ۱۵٪ بود.*

نتیجه‌گیری: *با توجه به اهمیت انتروتوکسین‌های استافیلوکوکوس اورئوس و نقش آن‌ها در توسعه و تشدید بیماری‌های استافیلوکوکی، حضور و بیان ژن‌های مربوطه درجدایه‌های بالینی باید در مدیریت بیماری در نظر گرفته شوند.*

واژگان کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس، انتروتوکسین A و B، عفونت‌های پوستی.*

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس یک پاتوژن فرصت طلب است که ۲۰ ٪ افراد را به طور مکرر و مداوم و همچنین ۶۰ ٪ افراد را به صورت گذرا درگیر می‌کند (۱). این باکتری در شرایط خاص چون استرس، بیماری‌های ویروسی، آسیب‌های بافتی و تاثیر هر عاملی که سبب ضعف در سیستم ایمنی شود، می-تواند بیماری‌های مختلفی را به وجود آورد (۲). *استافیلوکوکوس اورئوس* عامل رایج عفونت‌های پوست و بافت‌های نرم (زرد زخم، جوش و آبسه و ...) است و همچنین موجب عفونت‌های سیستمیک (مانند پنومونی و اندوکاردیت) نیز می‌شود (۳، ۴). این باکتری با تولید پروتئین‌های خارج سلولی مانند کواگولاز، همولیزین‌ها ،سوپر آنتی‌ژن‌ها، سم اکسفولیاتیو و لکوسیدین‌ها سبب بیماری‌زایی و تشدید آن می‌شود (۴،۵).

سوپر آنتی‌ژن‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* باعث فعال شدن سلول‌های T و سپس آزاد شدن سایتوکین‌ها و پاسخ ایمنی می‌شوند. به طور عمده، سوپر آنتی‌ژن‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به مولکول‌های MHCII در سطح سلول‌های عرضه کننده آنتی ژن و به گیرنده‌های لنفوسیت T متصل می‌شوند.

آدرس نویسنده مسئول: کرج، دانشگاه ازاد اسلامی، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی، ناصر هرزندی (**email**: Naser.harzandi@kiau.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۵/۱۰/۱۳
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۶/۱/۲۱

این اتصال عرضی باعث ارسال سیگنال فعال کننده سلول T بدون در نظر گرفتن ویژگی آنتی‌ژن می‌شود (۴،۶). از این خانواده می‌توان به انتروتوکسین‌ها و توکسین ۱ سندروم شوک سمی اشاره کرد. تاکنون ۲۲ نوع مختلف آنتی‌ژنی انتروتوکسین‌های تولید شده توسط سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* با وزن ملکولی ۲۸-۲۲ کیلو دالتون معرفی شده‌اند (۶،۱) که از مهم‌ترین خصوصیات آن‌ها توانایی ایجاد استفراغ در پستانداران، مقاومت به حرارت، مقاومت به پروتئازهای دستگاه گوارش شامل (پپسین، تریپسین، رنین و پاپائین) و خاصیت سوپرآنتی ژنی (تحریک لنفوسیت T) است (۱،۲). ژن‌های رمز کننده انتروتوکسین های استافیلوکوکی توسط عناصر ژنتیکی متحرک مانند پلاسمیدها، باکتریوفاژها و یا توسط جزایر بیماری‌زایی، جزایر ژنومی و همچنین کاست‌های کروموزومی استافیلوکوکی حمل می‌شوند (۶،۷). در حقیقت این مطلب نشان دهنده این است که ژن سموم سوپر آنتی ژنی به صورت افقی بین سویه‌های استافیلوکوک انتقال پیدا می‌کند (۸). انتروتوکسین‌های A و B از معمول‌ترین و مهم‌ترین انتروتوکسین‌ها است که ژن *sea* توسط یک باکتریوفاژ معتدل و ژن *seb* بر روی کروموزوم حمل می‌شود (۶،۷).

امروزه شناسایی این سموم به روش‌های مختلف ایمونولوژیکی صورت می‌گیرد (۹،۱۰)، اما در این روش‌ها باید شرایط لازم برای آنتی‌ژن مورد نظر فراهم گردد، ولی در روش‌های ملکولی مبتنی بر تکنیک PCR و غیره نیازی به آنتی‌ژن نیست و حتی در صورت نبود توکسین یا میزان کم توکسین ژن‌ها قابل ردیابی هستند (۲).

هدف از این تحقیق، بررسی فراوانی ژن‌های *sea* و *seb* در میان نمونه‌های حاصل از عفونت‌های ثانویه پوستی در بیمارستان رازی تهران بود.

مواد و روشها

جمع آوری نمونه

در این مطالعه مشاهده‌ای– توصیفی و مقطعی در مجموع ۶۵ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* از نمونه های عفونت پوستی بیماران بستری در بیمارستان رازی تهران طی۵ ماه از بهمن ۱۳۹۴ تا خرداد ۱۳۹۵ جمع آوری شدند و با استفاده از روش‌های استاندارد آزمایشگاهی مورد شناسایی و تائید قرار گرفتند.

شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس*

به منظور تعیین هویت و تشخیص، تمامی ۶۵ جدایه با آزمون‌های بیوشیمیایی مانند کواگولاز لام و لوله‌ای، کشت در محیط‌های مانیتول سالت آگار و DNase (شرکتPronadisa) انجام گرفت. بعد از تأیید هویت تمامی جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* در BHI براث (Brain Heart Infusion Broth شرکتPronadisa) کشت داده شدند و در ۳۰ ٪ گلیسرول در ۲۰- درجه سلسیوس برای انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شدند.

استخراج DNA

در ابتدا تمامی ایزوله‌ها در ۲ میلی‌لیتر محیط BHI براث کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شدند. پس از زمان طی شده به مدت ۱۰ دقیقه در xg ۱۲۰۰۰ سانترفیوژ شده و رسوب به دست آمده وارد مرحله استخراج DNA شد و با استفاده از کیت DNPTM (شرکت سینا کلون) طبق دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد.

پرایمرها

جهت انجام آزمایش PCR از پرایمرهای معرفی شده طبق جدول ۱ که توسط شرکت های پیشگام و تکاپوزیست سنتز گردید، استفاده شد.

انجام روش PCR برای شناسایی ژن‌ها

جدول ۱ پرایمر ژن‌های *nuc*، *sea* و *seb*

نام پرایمر	توالی نکلئوتیدها	سایز محصول PCR	منبع
nuc F	5' GCGATTGATGGTGATACGGTT 3'	۲۷۹ bp	۱۱
nuc R	5'AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC 3'		
sea F	5' CCTTTGGAAACGGTTAAAACG 3'	۱۲۷ bp	۱۲
sea R	5' TCTGAACCTTCCCATCAAAAAC 3'		
seb F	5' TCGCATCAAACTGACAAACG 3'	۴۷۸ bp	۱۲
seb R	5' GCAGGTACTCTATAAGTGCCTGC 3'		

علاوه بر آزمایش‌های بیوشیمیایی برای تشخیص دقیق‌تر جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* ردیابی ژن نوکلئاز پایدار در برابر حرارت (*nuc*) با تکنیک PCR و چرخه‌های دمایی ارائه شده توسط Brakstad و همکارانش (۱۹۹۲) انجام گرفت (۱۱). واکنش PCR برای شناسایی ژن‌ها با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Applied Biosystem USA) در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱ میکرولیتر از هر دو پرایمرReverse وForward (۱۰ پیکو مول)، ۱ میکرولیتر DNA نمونه، ۹/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل و ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس (سینا کلون) انجام شد. برنامه اجرایی چرخه‌های PCR شامل واسرشت اولیه برای تمامی ژن‌ها در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۰ ثانیه، اتصال پرایمرها به DNA الگو به ترتیب برای ژن‌های *sea* و *seb* در دماهای ۵۵ و ۵۳ درجه سلسیوس به مدت ۵۰ ثانیه، طویل شدن رشته‌های الگو در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه و طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه بود.

برای بررسی نتایج PCR روش الکتروفورز با آگارز ۱/۵درصد و استفاده از DNA Safe Stain به کار گرفته شد.

تحلیل آماری

تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و به کارگیری روش‌های کای‌دو و t تست انجام گرفت و مرز معنی دار بودن کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

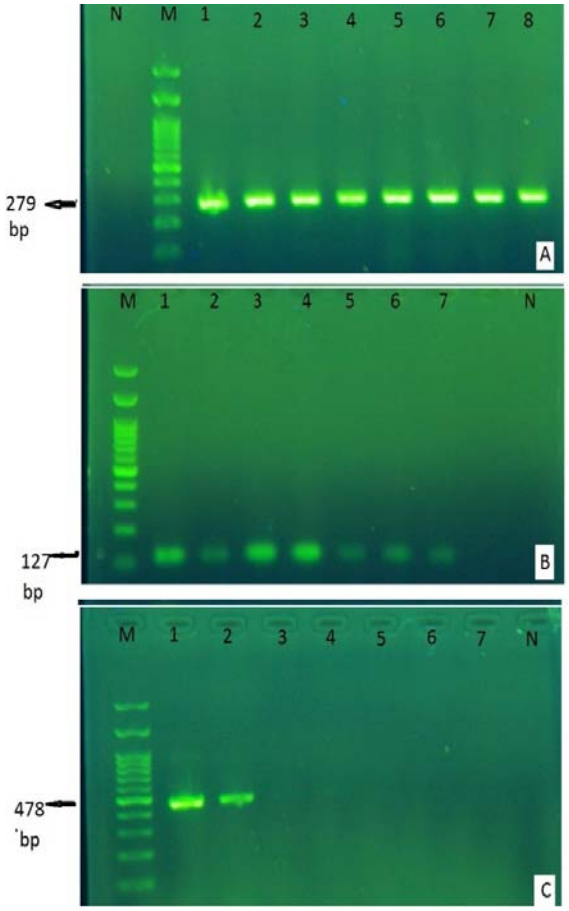
یافته‌ها

در طی ۵ ماه مطالعه، از ۶۵ بیمار شامل ۳۶ مرد و ۲۹ زن، *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شد. محدوده سنی افراد بین ۸ تا ۸۲ سال بود و تمامی نمونه‌ها از عفونت‌های پوستی با عامل بیماری زمینه‌ای جدا شدند. در این مطالعه، ۶۵ ایزوله جدا شده از بیماران پوستی از نظر حضور ژن *nuc* مثبت بودند در کل ۹۰/۷۶ ٪ از جدایه‌ها حامل ژن انتروتوکسین A یا B و یا هر دوی آنها بودند. ۸۶/۲ ٪ ایزوله‌ها حامل ژن *sea* و ۱۵/۲ ٪ حامل ژن *seb* شناسایی شدند (جدول ۲).

جدول ۲. الگوی توزیع انتروتوکسین A وB

ژن	A	B	A و B	هیچکدام
تعداد (درصد)	۴۹(۷۵/۳۸)	۳(۴/۶۱)	۷(۱۰/۷۸)	۶(۹/۲۳)

در بررسی رابطه بین جنس و نوع ژن انتروتوکسین هیچگونه ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج الکتروفورز محصولات PCRدر شکل ۱ آمده است.



شکل ۱. ردیف M لدر bp ۱۰۰ . ردیف N کنترل منفی A : الکتروفورز محصولات PCR با پرایمرهای ویژه ژن *nuc* با اندازه bp ۲۷۹ . ردیف ۱ کنترل مثبت ATCC25923 ردیف ۲ تا ۸ نمونه ی مثبت؛ B: الکتروفورز محصولات PCR با پرایمرهای ویژه ژن *sea* با اندازه bp ۱۲۷. ردیف ۱ کنترل مثبتATCC25923، ردیف ۲ تا ۷ نمونه مثبت؛ C: الکتروفورز محصولات PCR با پرایمرهای ویژه ژن *seb* با اندازه bp ۴۷۸ . ردیف‌های ۱ و۲ نمونه مثبت و ردیف ۳ تا ۷ نمونه منفی.

بحث

عفونت‌های پوست و بافت‌های نرم ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* در سراسر جهان به صورت اولیه و ثانویه به فراوانی رخ می‌دهند. عفونت ثانویه پوستی می‌تواند در بیماران با ترومای پوستی، شکافت‌های جراحی، زخم پوستی و یا اگزما رخ دهد. این عفونت‌های ثانویه به طور کلی با سموم خاص در ارتباط نیستند، اما اثرات پیش التهابی از سموم سوپر آنتی ژن (مثل

توکسین شوک سمی و انتروتوکسین‌های استافیلوکوکوسی) ممکن است به شدت علائم بالینی عفونت‌های ثانویه به ویژه در بیماران مبتلا به اگزما بیافزاید (۱۳). همان طور که گفته شد، انتروتوکسین‌های استافیلوکوکی خصوصیات ساختاری و بیولوژیکی مشابهی دارند، اما مکانیسم بیان و همچنین مقادیر تولیدی آن‌ها متفاوت هستند (۶) و انتروتوکسین‌های A و B از شایع‌ترین انتروتوکسین‌های شناخته شده‌اند (۱۴). بنابراین تشخیص فراوانی و کنترل به موقع سویه‌های مولد ژن‌های عوامل حدت مذکور امری ضروری به حساب می‌آید.

در مطالعه ما، اکثر (۸۶/۲ درصد) نمونه‌ها حامل ژن انتروتوکسین A و ۱۰/۷۶ درصد از جدایه‌ها حامل هر دو ژن بودند. در مطالعه صابونی در سال ۲۰۱۲، از ۱۳۳ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* از نمونه های بالینی مختلف شیوع ژن *sea*با تکنیک PCR ۲۱ ٪ گزارش شد. فراوان‌ترین ژن جداشده در این مطالعه، انتروتوکسین A آن هم در پوست و بافت نرم بود و با توجه به نتایج به دست آمده، بهداشت دقیق و اقدامات پیشگرانه در طول پردازش مواد غذایی بسیار توصیه شده است (۱۵). در مطالعه انجام شده توسط سینا در سال۲۰۱۳ در بررسی ۱۳۶ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* از عفونت بافت نرم، پوست و استخوان در بیماران بستری و سرپایی در بنین، فراوانی *seb* و *sea* را به ترتیب ۴۴٪ و ۳۲٪ گزارش گردید (۳). در مطالعه حاضر ژن *sea*بیشترین فراوانی را داشت، اما در مطالعه کیانی سلمی،در سال ۲۰۱۳ بر روی ۳۸ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* از عفونت پوستی باتکنیک PCR، فراوانی ژن *sea* صفر و فراوانی ژن *seb* ۱۸/۴۲٪ گزارش شد (۱۶).

Djahmi در سال ۲۰۱۲ بر روی ۸۵ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* از عفونت زخم پا، با تکنیک PCR شیوع ژن‌های *sea* و *seb*را به ترتیب ۴۴/۷ ٪ و ۳/۵ ٪ گزارش کرد (۱۷). در مطالعه دیگر که توسط گادیاری سال ۲۰۰۸ در بررسی ۱۰۰ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* از بیماران سوختگی انجام گرفت، شیوع ژن های *sea* و *seb* با تکنیک PCR به ترتیب ۱۲ ٪ و ۱ ٪ گزارش شد. با توجه به اهمیت انتروتوکسین‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به عنوان سوپرآنتی ژن و نقش سوپر آنتی ژن‌ها در بروز بیماری‌های مختلف تولید این توکسین توسط سویه‌های بالینی از اهمیت زیادی برخوردار است (۷). درمطالعه ایمانی فولادی در سال ۲۰۰۷ بر ۲۰۰ بیمار پوستی در مجموع ۴۲ ٪ از جدایه‌ها *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند و ۴۵٪ از این جدایه‌ها حامل ژن‌های انتروتوکسین بودند (۲۰ ٪ حاوی *sea* ، ۲۵ ٪ حاوی *seb*) (۱۸). در صورتی که در بررسی حاضر، ۹۰/۷۶٪ از ۶۵ جدایه حامل ژن‌های انتروتوکسین بودند. در مطالعه دیگر ایمانی فولادی در سال ۲۰۰۸ برروی ۱۰۰ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* از زخم، شیوع seb ۸ ٪ گزارش شد (۱۹) که فراوانی این ژن‌ها با بررسی حاضر متفاوت است. انوری در سال ۲۰۰۸، در بررسی ۵۰ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از عفونت پوستی، ۷۴ ٪ جدایه‌ها را حامل انتروتوکسین یافتند و فراوانی *sea* و *seb* به ترتیب ۱۸ ٪ و ۸ ٪ گزارش شد (۲۰).

در مطالعه کمره‌ایی در سال ۲۰۱۳ بر روی ۱۷۰ ایزوله بالینی (۹۵ بیمار و ۷۵ فرد سالم حامل *استافیلوکوکوس اورئوس*) فراوانی *seb* و *sea* با تکنیک PCR به ترتیب۲۷/۱٪ و ۶۲/۶٪ و به ترتیب نمونه بالینی ادرار، زخم، خون و نمونه های دیگر ژن *seb* (۳۱٪ ، ۲۱/۷٪، ۲۷/۳٪ و ۹/۲٪) و ژن *sea* (۵۸/۶٪، ۵۲/۲٪، ۷۲٪ و ۴۲/۹٪) گزارش گردید (۲۱). با اینکه اکثر مطالعات بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* های تولید کننده انتروتوکسین‌ها در منابع غذایی انجام شده است، اما با توجه به تحقیق حاضر و تحقیقات مشابه ردیابی این توکسین‌ها در نمونه‌های بالینی مختلف با توجه به اهمیت این توکسین ها امری ضروری به نظر می‌رسد.

توجیه احتمالی اختلاف میزان فراوانی در تحقیقات مختلف انجام شده در ایران و سایر نقاط جهان را می‌توان با عوامل مختلفی از قبیل فاکتورهای جغرافیایی، نژادی، سن بیماران، ماهیت نمونه و همین طور میزان رعایت موازین بهداشتی، هم جواری با دام‌های مختلف و نیز روش بررسی و پرایمرهای مورد استفاده در بررسی های مولکولی در جدایه های مورد بررسی از بیماران، مرتبط دانست.

تکنیک PCR که یک روش ویژه، حساس و کم هزینه است،شناسایی و ردیابی سریع ژن های انتروتوکسین های استافیلوکوکی حتی در صورت وجود مقادیر بسیار اندک نوکسین ها در نمونه های مورد بررسی را ممکن می سازد.با این حال با روش معمول PCR میزان بیان ژن مشخص نمی-شود و صرفاً قابلیت تولید توکسین توسط جدایه‌ها تعیین می-شود. به منظور تعیین میزان بیان این ژن‌ها بر روی نمونه‌های حاصل از افراد با درگیری پوستی تکنیک Real Time PCR پیشنهاد می‌شود. با توجه به اهمیت انتروتوکسین‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و نقش آن‌ها در توسعه و تشدید بیماری‌های حاصل و نیز در صد بسیار بالای حضور ژن‌های مربوطه به ویژه *sea* در جدایه‌های مورد بررسی در تحقیق حاضر در مقایسه با سایر تحقیقات انجام شده، حضور و بیان ژن‌های مربوطه در سویه‌های بالینی باید در مدیریت بیماری های حاصل در نظر گرفته شوند.

تشکر و قدردانی

از همکاری کارکنان محترم و سخت کوش آزمایشگاه بالینی بیمارستان فوق تخصصی پوست رازی و همچنین کارشناسان آزمایشگاه میکروب شناسی و مولکولی گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج که در انجام این مطالعه یاری رساندند، صمیمانه تشکر می‌شود.

REFERENCES

1. Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE. Staphylococcal Enterotoxins.Toxins 2010;2:2177-97.

2. Salari Sharif A, Sattari M, Moradi M, Shahrokhabad R. Detection of *Staphylococcus aureus* Entrotoxin Genes A & B in ClinicalSamples of the Patients Referring to the Medical Centers of Kermanand Rafsanjan Cities by PCR Technique. J Rafsanjan Univ Med Sci 2012;11:128-36. [In Persian]

3. Sina H, Ahoyo TA, Moussaoui W, Keller D, Bankolé HS, Barogui Y, et al. Variability of antibiotic susceptibility and toxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from skin, soft tissue, and bone related infections. BMC microbiology 2013;13:1-9.

4. Plata K, Rosato AE, Wegrzyn G. *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. Acta Biochimica Polonica 2009;56:597-612.

5. Méndez Vilas A, ed. *Staphylococcus aureus* virulence factors and disease. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. Spain: Formatex; 2013.

6. Argudín MA, Mendoza MC, Rodicio MR. Food Poisoning and *Staphylococcus aureus* Enterotoxins.Toxins 2010;2: 1751-73.

7. Gadyari F, Sattari M, Boroumand MA, Yaghoubi R, Sepehriseresht S, Purgholi L. Detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins A to D in clinical strains isolated from burned patientsof Tehran Motahari Hospital. Iranian J of Med Microbiol 2011;5:20-7. [In Persian]

8. Omoe K, Hu DL, Takahashi Omoe H, Nakane A, Shinagawa K. Comprehensive analysis of classical and newly described staphylococcal superantigenic toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolates. FEMS Microbiol Lett 2005; 246:191-8.

9. Cremonesi P, Luzzana M, Brasca M, Morandi S, Lodi R,Vimercati C, et al. Development of a Multiplex PCR assay for the identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxigenic strains isolated from milk and dairy products.Mol Cell Probes 2005;19:299-305.

10. Edwin C, Tatini SR, Maheswaran SK. Specificity and cross-reactivity of staphylococcal enterotoxin A monoclonal antibodies with enterotoxins B, C1, D, and E. Appl Environ Microbiol 1986;52:1253-7.

11. Brakstad OG, Aasbak k, Maeland J. Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the nuc Gene. J Clin Microbiol 1992;30:1654-1660.

12. Becker K, Roth R, Peters G. Rapid and specific detection of toxigenic *Staphylococcus aureus*: use of two multiplex PCR enzyme immunoassays for amplification and hybridization of staphylococcal enterotoxin genes, exfoliative toxin genes, and toxic shock syndrome toxin 1 gene. J Clin Microbiol 1998;36:2548-53.

13. Issartel B, Tristan A, Lechevallier S, Bruyere F, Lina G, Garin B, et al. Frequent carriage of Panton-Valentine leucocidin genes by *Staphylococcus aureus* isolates from surgically drained abscesses. J Clin Microbiol 2005;43: 3203-7.

14. Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie MR .Study of prevalence of Enterotoxin type A gene in Meticillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Hospitals in Tehran. Iranian J of Infectious Diseases 2014;19:59-68. [In Persian]

15. Sabouni F, Mahmoudi S, Bahador A, Pourakbari B, Sadeghi RH, Ashtiani MTH, et al. Virulence Factors of *Staphylococcus aureus* Isolates in an Iranian Referral Children's Hospital. Osong public health and res perspect 2014;5:96-100.

16. Kiani Salmi A, Ebrahimi Kahrizsangi A, Mokhtari A. Molecular identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxin genes isolated from human skin tissue rashes and ewes milk with subacute mastitis. J Comparative Pathobiol 1395;13:1987-1996. [In Persian]

17. Djahmi N, Messad N, Nedjai S, Moussaoui A, Mazouz D, Richard JL, et al. Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* strains isolated from inpatients with infected diabetic foot ulcers in an Algerian University Hospital.Clin Microbiol Infec 2013;19:398-404.

18. Imani Fouladi AA, Sattari M, Peerayeh SN, Hassan Z and Hossainidoust S. Detection the *Staphylococcus aureus* producing enterotoxin isolated from skin infections in hospitalized patients. Pakistan J Biol Sci 2007;10: 502-505.

19. Imani Fouladi AA, Choupani A, Fallah Mehrabadi J. Study of prevalence of Enterotoxin type B gene in Meticillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from wound. J Kowsar Med 2011;16:21-5.

20. Anvari Sh, Sattari M, Forozandehe Moghadam M, Najar Peerayeh Sh, Imanee Fouladi AA. Detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins A to E from clinical sample by PCR. Res J Biol Sci 2008;3:826-9.

21. Kamarehei F, Ghaemi EA, Dadgar T. Prevalence of enterotoxin A and B genes in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples and healthy carriers in Gorgan City, North of Iran. Indian J Pathol Microbiol 2013;56:265-8.