جدا سازی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مولد انتروتوکسین A از شیرینی خامه ای در اصفهان

فاتح رحیمی[1*]، محمد رضا عربستانی[2]

۱. دکترای تخصصی باکتری شناسی، استادیار بخش میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان
۲. دکترای تخصص باکتری شناسی، استادیار گروه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی همدان

* **نشانی برای مکاتبه:** تهران، میدان ونک، خیابان ملاصدرا، پژوهش گاه دانشگاه علوم پزشکی بقیه ...، مرکز تحقیقات آسیب های شیمیایی، تلفن: ۰۹۱۳۱۳۶۵۷۴۱, نمابر۸۸۰۴۰۱۰۶ ۹۸۲۱ ، Snouri1987@yahoo.com

دریافت مقاله: آذر نود و دو پذیرش برای چاپ: اسفند نود و دو

چکیده

زمینه و هدف: *انتروتوکسین های استافیلوکوکوسی متعلق به خانواده ای از اگزوتوکسین های استافیلوکوکوسی و استرپتوکوکوسی با بیش از بیست عضو هستند که از نظر عمل کردی با یک دیگر مرتبط بوده و دارای هم سانی و شباهت توالی می باشند. نشان داده شده است که این پروتئین های باکتریایی، تب‌زا هستند و عامل ایجاد بیماری های انسانی شاخصی از قبیل مسمومیت های غذائی محسوب می شوند. این مطالعه با هدف جدا سازی استافیلوکوکوس اورئوس مولد انتروتوکسین A از شیرینی های خامه ای تهیه شده از ۲ شیرینی فروشی در شهر اصفهان در طی سال ۱۳۹۲ به انجام رسیده است.*

روش کار: *در این مطالعه، ۴ مرتبه نمونه گیری از شیرینی خامه ای از ۲ شیرینی فروشی در شهر اصفهان انجام گرفت. پس از تهیه سریال رقت از شیرینی ها، نمونه ها با استفاده از سیستم فیلتراسیون فیلتر شدند و فیلترها بر روی ۲ محیط Baird parker agar واجد و فاقد اگزاسیلین قرار داده شدند. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، کلنی های سیاه رنگ واجد هاله انتخاب شدند. حساسیت جدایه های انتخاب شده از محیط واجد آنتی بیوتیک نسبت به اگزاسیلین به روش دیسک دیفیوژن و هم چنین حداقل غلظت مهار کننده آنها نسبت به آنتی بیوتیک اگزاسیلین به روش broth micro dilution تعیین گردید. حضور ژنهای mecA و sea در میان جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از آزمون PCR بررسی شد.*

یافته ها: *در مجموع ۶۷۹ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس از محیط فاقد آنتی بیوتیک و ۱۸ جدایه نیز از محیط واجد آنتی بیوتیک جدا شد. همه ۱۸ سویه نسبت به اگزاسیلین مقاومت نشان دادند و میزان مقاومت در ۷۸ درصد از سویه ها بسیار بالا بود(MICبرابر یا بیش از ۲۵۶ میکرو گرم بر میلی لیتر). ژن sea در ۴ درصد از سویه های استافیلوکوکوس اورئوس و ۱۰۰ درصد سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین واجد ژنهای mecA و sea بود.*

نتیجه گیری: *شیوع سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مواد انتروتوکسین A در مواد غذایی و به خصوص در شیرینی های خامه ای که محیط مغذی جهت رشد باکتری ها محسوب می شود یک هشدار جدی برای سیستم بهداشتی است.*

واژگان کلیدی: ***استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، انتروتوکسین A، نان خامه ای***

مقدمه

جنس استافیلوکوکوس متشکل از باکتری های گرم مثبتی است که پوست و غشاءهای مخاطی انسان و حیوانات را کلنیزه می کنند. با وجود اینکه سویه های استافیلوکوکوس بخشی از فلور طبیعی انسان هستند و به عنوان میکروارگانیسم های کامنسال شناخته می شوند، اما به عنوان باکتری های بیماری زای فرصت طلب نیز شناخته می شوند که باعث ایجاد طیف گسترده ای از بیماری ها می - شوند. در میان استافیلوکوکوس ها، استافیلوکوکوس اورئوس مهاجم ترین گونه است و به عنوان مسبب بیماری های مختلفی در انسان و حیوانات مانند عفونت پوست، آبسه ها، مسمومیت غذایی، سندرم شوک سمی، سپتی سمی، اندوکاردیت و ذات الریه شناخته می شود(۱, ۲).انتروتوکسین های استافیلوکوکوسی متعلق به خانواده ای از اگزوتوکسین های استافیلوکوکوسی و استرپتوکوکوسی با بیش از بیست عضو هستند که از نظر عمل کردی با یک دیگر مرتبط بوده و دارای هم سانی و شباهت توالی می باشند. نشان داده شده است که این پروتئین های باکتریایی، تب‌زا هستند و عامل ایجاد بیماری های انسانی شاخصی از قبیل مسمومیت های غذائی و سندرم شوک سمی به شمار می روند. این سموم بیش تر توسط گونه استافیلوکوکوس اورئوس تولید می شوند، در حالی‌که مشخص شده است که سایر گونه های استافیلوکوکوس نیز می توانند در تولید آنها نقش داشته باشند(۳).

انتروتوکسین های استافیلوکوکوسی به طور گسترده‌ای تحت عنوان سوپر-آنتی‌ژن ها طبقه بندی می شوند و دارای قابلیت تحریک جمعیت های بزرگی از لمفوسیت های T هستند و منجر به تولید سایتوکاین ها می - گردند(۴, ۵). دست کم بیست سوپرآنتی‌ژن استافیلوکوکوسی تا کنون شناسائی و تشریح شده اند، که مشتمل بر انتروتوکسین های A-V و TSST-1 می‌باشند. از نظر توالی، انتروتوکسین های A، D و E از شباهت و هم سانی ۹۰-۷۰ درصدی با یک دیگر برخوردار هستند، در حالی که تنها ۶۰-۴۰ درصد شباهت با انتروتوکسین های B، C و TSST-1 دارند(۴, ۶). طول کامل این سموم، بر حسب نوع سم، ۲۴۰-۲۲۰ اسیدآمینه و وزن مولکولی آنها به طور میانگین ۲۵ کیلودالتون متغیر است، و هم چنین دارای تنوع توالی مشخصی نیز می باشند؛ اما زمانی که تاخوردگی پیدا می کنند دارای ساختارهای سه بعدی مشابهی می شوند(۷, ۸).

پروتئین های انتروتوکسین ها دارای مقاومت قابل توجهی در برابر حرارت و اسید می‌باشند. بنابراین، این سموم به آسانی و با حرارت دادن ملایم غذاهای آلوده به طور کامل از بین نمی روند. این سموم تب زا هستند و علاوه بر خاصیت سوپرآنتی‌ژنی، دارای قابلیت ایجاد استفراغ و ناراحتی های گوارشی نیز می باشند. این سم‌ها نسبت به غیرفعال شدن با آنزیم های پروتئاز گوارشی مانند پپسین، تریپسین، رنین و پاپائین مقاوم هستند(۹).

انتروتوکسین A استافیلوکوکوسی، شایع ترین سم درگیر در مسمومیت های غذائی استافیلوکوکوسی به شمار می رود. ژن رمز کننده انتروتوکسین A استافیلوکوکوسی (sea) توسط یک باکتری خوار معتدل حمل می - شود(۱۰, ۱۱). تجزیه و تحلیل دو رگه سازی DNA در باکتری‌خوار مبدل ژن sea، نشان می دهد که این باکتری خوار از طریق مدور سازی و چلیپایی شدن دو طرفه و متقابل در کروموزوم باکتری الحاق شده است و ژن sea در نزدیکی جایگاه الحاق باکتری خوار قرار گرفته است. ژن sea متشکل از هفت صد و هفتاد و یک جفت باز است و رمز کننده پیش‌ساز انتروتوکسین A متشکل از دویست و پنجاه و هفت اسیدآمینه است (۱۲).

این مطالعه با هدف جدا سازی استافیلوکوکوس اورئوس مولد انتروتوکسین A از شیرینی های خامه ای تهیه شده از ۲ شیرینی فروشی در شهر اصفهان در طی سال ۱۳۹۲ به انجام رسیده است.

روش کار

در این مطالعه در طی سال ۱۳۹۲ در مجموع ۴ مرتبه نمونه گیری از ۲ شیرینی فروشی (هر شیرینی فروشی ۲ مرتبه) در دو نقطه متفاوت شهر اصفهان انجام گرفت. جهت انجام نمونه گیری، شیرینی خامه ای انتخاب گردید و در هر ۴ مرتبه نمونه گیری جهت جدا سازی باکتری استفاده شد. پس از انتقال نمونه ها به آزمایشگاه، از شیرینی ها با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل سریال رقت تهیه شد و سپس نمونه های رقیق شده با استفاده از سیستم فیلتراسیون (Millipore Corporation, Bedford, MA) فیلتر شدند و فیلترها بر روی محیط Baird Parker Agar (Merck, Darmstadt, Germany) واجد ۱ میکروگرم در میلی لیتر آنتی بیوتیک اگزاسیلین و همچنین محیط Baird Parker Agar فاقد هر گونه غلظتی از اگزاسیلین قرار گرفتند و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. پس از این مدت کلنی های سیاه رنگ واجد هاله شفاف که مشکوک به جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین بودند انتخاب شدند و بر روی محیط Blood Agar (Merck, Darmstadt, Germany) کشت داده شدند. سپس تمامی جدایه ها با استفاده از آزمون های رنگ آمیزی گرم، کواگولاز و DNase و تخمیر قند مانیتول بررسی و تأیید شدند(۱۳).

پس از جدا سازی و انتخاب تمامی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس از محیط واجد آنتی بیوتیک، مقاومت این سویه ها نسبت به آنتی بیوتیک اگزاسیلین (۱ میکروگرم) (MAST Group, Merseyside, United Kingdom)، به روش دیسک دیفیوژن و با استفاده از استانداردهای Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) تعیین گردید(۱۴). سپس حداقل غلظت مهارکننده آنتی‌بیوتیک اگزاسیلین به روش broth micro dilution بر اساس دستورالعمل و استانداردهای CLSI مشخص گردید(۱۵).جهت استخراج DNA برای انجام آزمون های مولکولی، از روش جوشاندن به روشی که پیش تر گفته شداستفاده شد (۱۶). از DNA استخراج شده به عنوان الگو جهت انجام آزمون PCR و برای شناسایی سویه ها در حد گونه با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (ژن nuc) استفاده شد. جهت انجام این آزمون از پرایمرهای طراحی شده و ترکیب مواد و برنامه PCR ارائه شده توسط Zouharova و هم کاران استفاده شد(۱۷). جهت تشخیص وجود ژن mecA در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس که به عنوان سویه های مقاوم به متی سیلین شناسایی شدند از آزمون PCR با استفاده از جفت پرایمر اختصاصی طراحی شده و همچنین برنامه PCR و ترکیب مواد ارائه شده توسط McClure و هم کاران استفاده شد(۱۸).

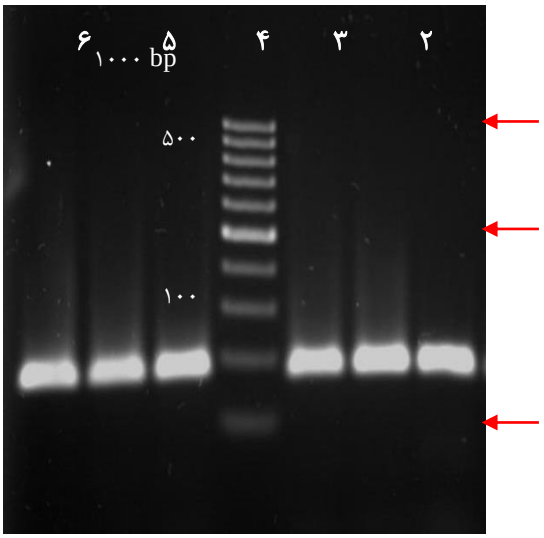
جهت بررسی وجود ژن sea رمزکننده انتروتوکسین A در میان جدایه - های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین از آزمون PCR با استفاده از جفت پرایمر اختصاصی ژن sea که توسط Zouharova و هم کاران طراحی گردیده، استفاده شد(۱۷).

یافته ها

در این مطالعه در نهایت ۶۷۹ سویه استافیلوکوکوس اورئوس از محیط فاقد آنتی بیوتیک اگزاسیلین و ۱۸ سویه استافیلوکوکوس اورئوس نیز از محیط واجد ۱ میکروگرم در میلی لیتر آنتی بیوتیک اگزاسیلین جدا سازی شدند و با استفاده از آزمون های فنوتیپی و PCR ژن nuc تأیید شدند. هم چنین در تمامی مراحل نمونه گیری، سویه های استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از تمامی نمونه های نان خامه ای و از هر دو شیرینی فروشی جدا گردیدند.

نتایج حاصل از آزمون تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس که از محیط واجد آنتی بیوتیک جدا شده بودند، نشان داد که تمامی ۱۸ سویه مورد نظر به روش دیسک دیفیوژن نسبت به اگزاسیلین مقاومت هستند. پس از انتخاب ۱۸ سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین به روش دیسک دیفیوژن، MIC سویه ها نسبت به آنتی بیوتیک اگزاسیلین مشخص گردید. بر این اساس مشخص گردید که MIC در ۳ سویه (۱۷ درصد) برابر یا بیش از ۵۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر، در ۱۱ سویه (۶۱ درصد) برابر یا بیش از ۲۵۶ میکروگرم بر میلی لیتر و در ۴ سویه (۲۲ درصد) برابر یا بیش از ۶۴ میکروگرم بر میلی لیتر بود. علاوه بر این، تمامی ۱۸ سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین واجد ژن mecA بودند و هم خوانی کاملی میان آزمون های فنوتیپی و ژنوتیپی در این مورد وجود داشت.

نتایج حاصل از آزمون PCR برای جستجوی ژن sea نشان داد که ۲۷ سویه (۴ درصد) استافیلوکوکوس اورئوس واجد ژن مولد انتروتوکسین A است(تصویر ۱). هم چنین، تمامی ۱۸ سویه (۱۰۰ درصد) استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین نیز واجد ژن sea بودند.



تصویر ۱. آزمون PCR جهت شناسایی ژن sea در میان جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین.۱: کنترل مثبت. ۲، ۳، ۵، ۶ و ۷: نمونه‌های مربوط به جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین. ۴: نشانگر bp ۱۰۰۰. باند مورد انتظار bp ۱۸۰ مربوط به ژن sea مشاهده گردید.

بحث

استافیلوکوکوس اورئوس قابلیت تولید طیف وسیعی از عوامل حدت را داشته و در صورت مصرف مواد غذایی آلوده به آن می تواند موجب بروز مسمومیت غذایی گردد(۱۹). این امر ناشی از تولید انتروتوکسین است که می تواند باعث ایجاد ناراحتی های گوارشی و مسمومیت های غذائی در افراد شود. شیوع مسمومیت با انتروتوکسین A استافیلوکوکوسی بیشتر از سایر انتروتوکسین ها است، بنابراین از اهمیت بیشتری نیز در مقایسه با سایر انتروتوکسین های استافیلوکوکوس اورئوس برخوردار است(۲۰). در این مطالعه در طی تمامی مراحل نمونه گیری، باکتری استافیلوکوکوس اورئوس از نمونه های نان خامه ای در هر دو شیرینی فروشی جدا شد. بالا بودن آلودگی در نمونه های شیرینی خامه ای می تواند به دلایل مختلفی از جمله عدم رعایت صحیح اصول بهداشتی در حین آماده سازی شیرینی ها و هم چنین آلودگی ثانویه ناشی از آماده سازی با دست باشد. بدون شک علاقه و تمایل بالای مردم برای تهیه شیرینی های تر و به ویژه نان خامه ای به لحاظ طعم و شکل عامه پسند آن، بهداشت ضعیف محیط و وسایل تهیه خامه، شست و شوی نامناسب دست ها، تماس طولانی آنها با شیرینی ها از ناحیه افراد مسئول و هم چنین طولانی بودن زمان تهیه تا مصرف آن ها از عوامل مهم آلودگی مواد غذایی به شمار می روند(۲۱).

در این مطالعه ۴ درصد سویه های استافیلوکوکوس اورئوس (۲۷ سویه) و ۱۰۰ درصد سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (۱۸ سویه) واجد ژن sea بودند. تا کنون آمارهای متفاوتی از شیوع سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مولد انتروتوکسین های مختلف در میان مواد غذائی در ایران و جهان در اختیار بوده است. در مطالعه براتی و هم کاران در سال ۲۰۰۶ در ایران، در بررسی ۹۸ نمونه مربوط به بیماران، ناقلین سالم و نمونه های محیطی، مشخص گردید که ۷ درصد از جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس واجد ژن sea بودند(۲۲). در مطالعه اشراقی و هم کاران در سال ۲۰۰۹ در شهر تهران بر روی نمونه های مختلف مواد غذائی، ۸ درصد از سویه ها واجد ژن sea بودند(۲۱). نوروزی و هم کاران نیز در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که شیوع ژن sea در نمونه های مختلف در تهران ۳۲/۰۷ درصد بود (۲۳). ایمانی فولادی و هم کاران نیز در سال ۲۰۱۰ در مطالعه ۱۰۰ نمونه مواد لبنی در ایران دریافتند که ۳۲ درصد از نمونه ها واجد استافیلوکوکوس اورئوس بودند و فراوانی ژن sea در میان این سویه ها ۱۵/۶ درصد بود(۲۴). در سال ۲۰۱۳ توکلی و هم کاران میزان شیوع ژن sea را در یکی از مراکز نظامی تهران تعیین کردند(۱۹). در مطالعه سالاری شریفی و هم کاران در سال ۲۰۱۲، ۱۱ درصد ازز سویه ها واجد ژن sea بودند و ۷۴ درصد سویه ها نیز واجد دو ژن sea و seb بودند(۲۵). در مطالعه سال ۲۰۱۱ سعادتی و هم کاران بر روی ۱۵۰ نمونه جدایه به‌دست آمده از ناقلین بینی، ۴۳/۱ درصد از جدایه‌ها از نظر ژن‌های sea، sec و seq مثبت بودند. ۲۵/۳ درصد واجد ژن sea، ۹/۵ درصد واجد ژن sec و ۸/۴ درصد واجد ژن seq بودند(۲۶). پورمند و هم کاران در سال ۲۰۰۹ در بررسی ۱۲۸ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس جداشده از بیماران در ایران نشان دادند که فراوانی ژن sea در میان این جدایه‌ها ۴۶/۹ درصد بود(۲۷). در آلمان در سال ۲۰۰۳ ، نشان داده شد که از ۹۳ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از مدفوع بیماران، ۱۳ درصد واجد ژنsea بودند(۲۸). محققان در سال ۲۰۰۲ در اسلواکی در بررسی نمونه‌های مواد غذایی و تولیدکنندگان مواد غذایی مختلف توانستند ۲۰ جدایه (۳۹ درصد) استافیلوکوکوس اورئوس مولد سم را شناسایی نمایند. سه جدایه مولد انتروتوکسین A، ۱۲ جدایه مولد انتروتوکسین B و ۵ جدایه نیز مولد هر دو سم بودند(۲۹). در مطالعه Normano و هم کاران نیز در سال ۲۰۰۵ در ایتالیا ۲۶/۵ درصد از جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس واجد ژن sea بودند(۳۰). Paciorek و هم کاران نیز در سال ۲۰۰۷ شیوع ژن sea را در لهستان ۳۳ درصد گزارش دادند(۳۱).

می توان اظهار داشت که شیوع ژن sea در میان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس پایین تر از سایر مطالعات است که شاید بتوان این اختلاف را ناشی از منشاء نمونه گیری و نوع نمونه مورد نظر دانست. اما در مقابل تمامی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین واجد ژن sea بودند که نشان دهنده شیوع بسیار بالای این ژن در میان سویه های مقاوم به متی سیلین است. بنابراین می توان این گونه نتیجه گیری کرد که شیوع ژن مولد انتروتوکسین A در میان سویه های مقاوم به متی سیلین بسیار بیش تر از سویه های حساس به متی سیلین است که احتمالا ناشی از وجود کلاستر ژن mec در سویه های مقاوم به متی سیلین است. هم چنین تولید انتروتوکسین A ناشی از حضور پروفاژ تایپ SGF است که پیش تر نشان داده شد که در تمامی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین وجود دارد (۳۲, ۳۳).

نتیجه گیری

شیوع سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین مواد انتروتوکسین A در مواد غذایی و به خصوص در شیرینی های خامه ای که محیط مغذی جهت رشد باکتری ها محسوب می شود یک هشدار جدی برای سیستم بهداشتی است. تولید انتروکسین A که ناشی از حضور پروفاژ تایپ اختصاصی است می تواند موید این نکته باشد که این سویه ها سایر عوامل حدت رمز شده از طریق این پروفاژ تایپ از قبیل انتروتوکسین های K، P و G و استافیلوکیناز، لوکوسیدین و بتا-لایزین را می توانند تولید نمایند. بنابراین کنترل و غربال گری کارگران شاغل در فرآیند تولید این قبیل شیرینی ها و آموزش آنها می تواند نقش مهمی در جلوگیری و انتشار باکتری ها در مواد غذایی داشته باشد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی و فن آوری دانشگاه اصفهان در قالب اعطای پژوهانه به اعضای هیأت علمی جدید استخدام دانشگاه اصفهان به انجام رسیده است. نویسندگان مراتب قدردانی و سپاس گزاری خود را از جناب آقای دکتر محمد ربانی معاونت پژوهشی و فن آوری دانشگاه اصفهان اعلام می نمایند.

REFERENCES

1. DeLeo FR, Chambers HF. Reemergence of antibiotic-resistant Staphylococcus aureus in the genomics era. The Journal of clinical investigation. 2009;119(9):2464.

2. van Belkum A. Staphylococcal colonization and infection: homeostasis versus disbalance of human (innate) immunity and bacterial virulence. Current opinion in infectious diseases. 2006;19(4):339-44.

3. Pinchuk IV, Beswick EJ, Saada JI, Suarez G, Winston J, Mifflin RC, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 production by intestinal myofibroblasts in response to staphylococcal enterotoxin a: relevance to staphylococcal enterotoxigenic disease. The Journal of Immunology. 2007;178(12):8097-106.

4. Balaban N, Rasooly A. Staphylococcal enterotoxins. International journal of food microbiology. 2000;61(1):1-10.

5. Choi Y-W, Kotzin B, Herron L, Callahan J, Marrack P, Kappler J. Interaction of Staphylococcus aureus toxin" superantigens" with human T cells. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1989;86(22):8941-5.

6. Al-Daccak R, Mehindate K ,Damdoumi F, Etongué-Mayer P, Nilsson H, Antonsson P, et al. Staphylococcal enterotoxin D is a promiscuous superantigen offering multiple modes of interactions with the MHC class II receptors. The Journal of Immunology. 1998;160(1):225-32.

7. Alouf JE, Müller-Alouf H. Staphylococcal and streptococcal superantigens: molecular, biological and clinical aspects. International journal of medical microbiology. 2003;292(7):429-40.

8. Schlievert PM, Bohach GA, Ohlendorf DH, Stauffacher CV, Leung DY, Murray DL, et al. Molecular structure of staphylococcus and streptococcus superantigens. Journal of clinical immunology. 1995;15(6):S4-S10.

9. Le Loir Y, Baron F, Gautier M. Staphylococcus aureus and food poisoning. Genet Mol Res. 2003;2(1):63-76.

10. Borst DW, Betley MJ. Promoter analysis of the staphylococcal enterotoxin A gene. Journal of Biological Chemistry. 1994;269(3):1883-8.

11. Workman M, Nigro O, Steward G. Identification of prophages in coastal water isolates of Staphylococcus aureus. J Young Invest. 2006;15:1-8.

12. Betley MJ, Mekalanos JJ. Nucleotide sequence of the type A staphylococcal enterotoxin gene. Journal of bacteriology. 1988;170(1):34-41.

13. Kateete DP, Kimani CN, Katabazi FA, Okeng A, Okee MS, Nanteza A, et al. Identification of Staphylococcus aureus: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. Annals of clinical microbiology and antimicrobials. 2010;9(1):23.

14. Clinical and Laboratory Standard Institute C. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 16th informational supplement. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa. 2006.

15. Clinical and Laboratory Standard Institute C. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A7. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa. 2006.

16. Rahimi F, Bouzari M, Maleki Z, Rahimi F. Antibiotic susceptibility pattern among Staphylococcus spp. with emphasis on detection of mecA gene in methicillin resistant Staphylococcus aureus isolates. Iranian Journal of Clinical Infectious Diseases. 2009;4(3):143-50.

17. Zouharova M, Rysanek D. Multiplex PCR and RPLA Identification of Staphylococcus aureus enterotoxigenic strains from bulk tank milk. Zoonoses and public health. 2008;55(6):313-9.

18. McClure J-A, Conly JM, Lau V, Elsayed S, Louie T, Hutchins W, et al. Novel multiplex PCR assay for detection of the staphylococcal virulence marker Panton-Valentine leukocidin genes and simultaneous discrimination of methicillin-susceptible from-resistant staphylococci. Journal of clinical microbiology. 2006;44(3):1141-4.

19. Tavakoli HR, Asghar JA, Imani Fooladi AA, Sarshar M, Rafati H, Asadi Baghasiab B. Common types of Staphylococcus aureus enterotoxin in meaty foods. Iranian Journal of Infectious Disease and Tropical Medicine. 2013;59:9-15.

20. Bystroń J, Molenda J, Bania J, Kosek-Paszkowska K, Czerw M. Occurrence of enterotoxigenic strains of Staphylococcus aureus in raw poultry meat. Polish journal of veterinary sciences. 2004;8(1):37-40.

21. Eshraghi S, Salehipour Z, Pourmand MR, Rahimi Forushani A, Zahraei Salehi MT, Agha Amiri S, et al. Prevalence of tst, entC, entA and entA/C genes in Staphylococcus aureus strains isolated from different foods. Tehran University of Medical Science Journal. 2009;67:470-6.

22. Barati B, Saadati M, Kh BM. Isolation and detection of enterotoxigenic Staphylococcus aureus type A by multiplex PCR. Military Medicine Journal. 2006;8(2):119-28.

23. 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. Qom University of Medical Sciences Journal. 2012;6:78-85.

24. Imani Fooladi AA, Tavakoli HR, Naderi A. Detection of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolates in domestic dairy products. Iranian Journal Microbiology. 2010;2:135-40.

25. 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. Journal of Rafsanjan University of Medical Science. 2012;11(2):128-36.

26. Saadati M, Barati B, Doroudian M, Shirzad H, Hashemi M, Hosseini SM, et al. Detection of Sea, Seb, Sec, Seq genes in Staphylococcus aureus isolated from nasal carriers in Tehran province, Iran; by multiplex PCR. Journal of Paramedical Sciences. 2011;2(2.(

27. Pourmand MR, YazdchiSahar B. High prevalence of sea gene among clinical isolates of Staphylococcus aureus in Tehran. Acta Medica Iranica. 2009;47(5).

28. Klotz M, Opper S, Heeg K, Zimmermann S. Detection of Staphylococcus aureus enterotoxins A to D by real-time fluorescence PCR assay. Journal of clinical microbiology. 2003;41(10):4683-7.

29. HOLEČKOVÁ B, HOLODA E, FOTTA M, Kalináčová V, Gondol J, Grolmus J. Occurrence of enterotoxigenic Staphylococcus aureus in food. Annals of Agricultural and Environmental Medicine. 2002;9:179-82.

30. Normanno G, Firinu A, Virgilio S, Mula G, Dambrosio A, Poggiu A, et al. Coagulase-positive Staphylococci and Staphylococcus aureus in food products marketed in Italy. International Journal of Food Microbiology. 2005;98(1):73-9.

31. Lawrynowicz-Paciorek M, Kochman M, Piekarska K, Grochowska A, Windyga B. The distribution of enterotoxin and enterotoxin-like genes in Staphylococcus aureus strains isolated from nasal carriers and food samples. International journal of food microbiology. 2007;117(3):319-23.

32. Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie M. Prophage Typing of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus Isolated from a Tertiary Care Hospital in Tehran, Iran. Jundishapur Journal of Microbiology. 2012;6(1):80-5.

33. Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie MR. Prophage and antibiotic resistance profiles of methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains in Iran. Archives of virology. 2012;157(9):1807-11.