




بررسی حضور ژن های کدکننده آگزوتوکسین ها در استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی سیلین جدا شده از لارو پشه ها در منطقه سیستان به روش PCR

پریسا حسنین*^۱، وحیده حمیدنیا^۲

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۲- دانش آموخته، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

دریافت مقاله: ۱۶ خرداد ۱۴۰۳، بازنگری: ۱۹ خرداد ۱۴۰۳، پذیرش نهایی: ۱۹ خرداد ۱۴۰۳

 10.22034/NFVM. 2024. 461253. 1247

چکیده

استافیلوکوک اورئوس طیف وسیعی از آگزوتوکسین هایی را تولید می کند که در ایجاد بیماری در میزبان نقش دارند. سوپر آنتی ژن های پیروژنیک گروهی از آگزوتوکسین ها هستند که توسط استافیلوکوکوس اورئوس تولید می شوند. این گروه شامل سم سندروم شوک سمی، اکسفولیاتیو و همه انتروتوکسین های این باکتری می باشد. شناسایی این عوامل در شناخت روند بیماری زایی باکتری ضروری است. هدف از این پژوهش بررسی حضور ژن های سندروم شوک سمی (TSST-1)، اکسفولیاتیو A/B و انتروتوکسین های A، B، C، D، E در استافیلوکوکوس اورئوس های مقاوم و حساس به متی سیلین جدا شده از لارو پشه ها در منطقه سیستان به روش PCR بود. این تحقیق بر روی ۵۷ جدایه باکتری استافیلوکوکوس انجام گرفت. جدایه های مقاوم و حساس به متی سیلین با استفاده از روش آگار دیفیوژن و پلیت های حاوی اگزاسیلین مشخص شد. DNA باکتری ها به روش جوشاندن استخراج گردید. با استفاده از روش PCR و پرایمرهای اختصاصی، ژن های کدکننده سندروم شوک سمی (TSST)، اکسفولیاتیو (ETA, ETB) و انتروتوکسین (SEA, SEB, SEC, SED, SEE) در این باکتری مورد بررسی قرار گرفت. از مجموع ۵۷ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس، تعداد ۳۲ جدایه مقاوم و ۲۵ جدایه حساس به متی سیلین شناسایی شدند. فراوانی ژن های انتروتوکسین، اکسفولیاتیو و سندروم شوک سمی در جدایه های مقاوم به ترتیب ۵۰ درصد، ۲۱/۸۷ و ۳/۱۲ درصد و در جدایه های حساس به ترتیب ۴۶/۴۰، ۲۵ و ۰ درصد مشاهده شد. نتایج نشان داد شیوع جدایه های مقاوم به متی سیلین و جدایه هایی که توانایی حمل ژن های انتروتوکسین و اکسفولیاتیو را دارند در منطقه سیستان بالا بوده است.

واژگان کلیدی: مقاومت آنتی بیوتیکی، استافیلوکوکوس اورئوس، لارو پشه، متی سیلین، انتروتوکسین

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زا در انسان است که طیف وسیعی از بیماری‌ها، از عفونت‌های پوستی و بافت نرم تا عفونت‌های جدی‌تر مانند پنومونی، اندوکاردیت و سپسیس را ایجاد می‌کند (۱). این باکتری به دلیل تولید آگزوتوکسین‌های مختلف، از جمله سوپراآنتی‌ژن‌ها، نقش مهمی در ایجاد بیماری‌ها دارد. سوپراآنتی‌ژن‌ها به دلیل تحریک سیستم ایمنی به طور غیر طبیعی و گسترده، می‌توانند به ایجاد شرایط بالینی پیچیده‌ای مانند سندروم شوک سمی منجر شوند (۲). در نتیجه، شناسایی و فهم مکانیزم‌های بیماری‌زایی این باکتری برای کنترل و پیشگیری از عفونت‌های ناشی از آن اهمیت بالایی دارد. سوپراآنتی‌ژن‌ها گروهی از آگزوتوکسین‌ها هستند که توسط *استافیلوکوکوس اورئوس* تولید می‌شوند. این سموم قادرند به طور مستقیم با مولکول‌های MHC کلاس II روی سلول‌های ارائه‌دهنده آنتی‌ژن (APCs) و گیرنده‌های TCR روی سلول‌های T باند شده و موجب فعال‌سازی گسترده و غیر طبیعی سلول‌های T شوند (۳). این فعال‌سازی منجر به ترشح مقادیر زیادی از سیتوکین‌ها و ایجاد پاسخ ایمنی شدید و غیر قابل کنترل می‌شود. از جمله سوپراآنتی‌ژن‌های مهم تولیدشده توسط *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌توان به سم سندروم شوک سمی (TSST-1)، اکسفولیاتیو (ETA، ETB) و انتروتوکسین‌های (SEA، SEB، SEC، SEE، SED) اشاره کرد. این توکسین‌ها با اثرات مختلف خود می‌توانند منجر به بروز شرایط بالینی متنوعی شوند که برخی از آنها می‌توانند زندگی بیمار را به خطر بیندازند (۴). یکی از چالش‌های مهم در کنترل عفونت‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، ظهور و گسترش سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) است. MRSA به دلیل مقاومت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های رایج، درمان عفونت‌های ناشی از آن را دشوارتر می‌کند. این باکتری‌ها معمولاً از طریق ژن *mecA* که کدکننده یک پروتئین بایندر پنی‌سیلین (PBP2a) است، مقاومت خود را به

آنتی‌بیوتیک‌های بتا-لاکتام نشان می‌دهند. این پروتئین به آنتی‌بیوتیک‌ها اجازه نمی‌دهد که به دیواره سلولی باکتری حمله کنند و در نتیجه، باکتری به حیات خود ادامه می‌دهد (۵). مطالعات نشان داده‌اند که سویه‌های MRSA علاوه بر مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها، ممکن است قابلیت‌های بیماری‌زایی بیشتری نیز داشته باشند که این موضوع نیازمند بررسی دقیق‌تر است (۶). پشه‌ها و لاروهای آنها می‌توانند به عنوان ناقلین میکروارگانیزم‌های مختلف از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* عمل کنند. شرایط زیستی ویژه پشه‌ها و لاروهای آنها محیط مناسبی برای رشد و تکثیر باکتری‌ها فراهم می‌کند. پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند که لارو پشه‌ها می‌توانند به عنوان مخازن طبیعی برای *استافیلوکوکوس اورئوس* عمل کنند و به انتقال آن در محیط‌های مختلف کمک کنند (۷). در منطقه سیستان، به دلیل شرایط اقلیمی و زیستی خاص، لارو پشه‌ها نقش مهمی در اپیدمیولوژی باکتری‌های مختلف از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* دارند. هدف این پژوهش بررسی حضور ژن‌های سندروم شوک سمی (TSST-1)، اکسفولیاتیو A/B و انتروتوکسین‌های A، B، C، D و E در *استافیلوکوکوس اورئوس*‌های مقاوم و حساس به متی‌سیلین جداشده از لارو پشه‌ها در منطقه سیستان به روش PCR بود. با توجه به اهمیت آگزوتوکسین‌ها در بیماری‌زایی و تأثیر مقاومت به متی‌سیلین بر شدت عفونت‌ها، شناسایی و مقایسه فراوانی این ژن‌ها در سویه‌های مقاوم و حساس می‌تواند به درک بهتر از اپیدمیولوژی و روند بیماری‌زایی *استافیلوکوکوس اورئوس* در این منطقه کمک کند.

مواد و روش‌ها

این مطالعه بر روی ۵۷ جدایه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* جداشده از لارو پشه‌ها در منطقه سیستان در مطالعه قبلی انجام شد. جدایه‌های مقاوم و حساس به متی‌سیلین با استفاده از روش آگار دیفیوژن و پلیت‌های حاوی اگزاسیلین شناسایی شده (۸) و DNA باکتری‌ها به روش جوشاندن استخراج گردید (۹). سپس با استفاده از

درجه به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمرها در ۵۶ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، گسترش در ۷۲ درجه به مدت ۱ دقیقه و گسترش نهایی در ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه انجام شد. تجزیه و تحلیل از محصولات PCR توسط ژل الکتروفورز انجام شد. در ژل آگارز ۱/۵ درصد، رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید، و تجزیه و تحلیل تصویر با استفاده از Gel Doc (Vilber Lourmat) فرانسه برای تعیین وجود باندهای خاص نشان‌دهنده ژن‌های مورد مطالعه است. در این مطالعه از نشانگر وزن مولکولی حداقل ۱۰۰ و حداکثر ۳۰۰۰ جفت باز شرکت فرمنتاز استفاده شد.

روش PCR و پرایمرهای اختصاصی، ژن‌های کدکننده سندروم شوک سمی (TSST)، اکسفولیاتیو (ETA, ETB)، و انتروتوکسین (SEA, SEB, SEC, SED, SEE)، (جدول ۱) در این باکتری مورد بررسی قرار گرفت.

واکنش PCR: برای انجام واکنش PCR برای ژن‌های مورد مطالعه، حجم کل ۲۰ میکرولیتر با افزودن ۲ میکرولیتر الگوی DNA، ۱۰ میکرولیتر (Amiqon) 2x Redmaster و ۱ میکرولیتر از هر آغازگر (۱۰ میکرومولار) و آب بدون نوکلئاز مخلوط شد. شرایط PCR شامل یک مرحله دناتوراسیون اولیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۰ چرخه شامل دناتوره شدن در ۹۵

جدول ۱- توالی پرایمرهای طراحی شده

Primer name	Sequence(5' → 3')	Length(bp)
Tsst-1-F	TTC ACTATTTG TAAAAGTGT CAGACCCACT	180
Tsst-1-R	TACTAATGAATTTTTTATCGTAAGCCCTT	
SEA-F	GAAAAAAGTCTGAATTGCAGGGAACA	560
SEA-R	CAAATAAATCGTAATTAACCGAAGGTTC	
SEB-F	ATTCTATTAAGGACACTAAGTTAGGGA	404
SEB-R	ATCCCGTTTCATAAGGCGAGT	
SEC-F	GTAAAGTTACAGGTGGCAAAACTTG	297
SEC-R	CATATCATACCAAAAAGTATTGCCGT	
SED-F	GAATTAAGTAGTACCGCGCTAAATAATATG	492
SED-R	GCTGTATTTTCTCCGAGAGT	
SEE-F	CAAAGAAATGCTTTAAGCAATCTTAGGC	482
SEE-R	CACCTTACCGCCAAAGCTG	
ETA-F	ACTGTAGGAGCTAGTGCATTTGT	190
ETA-R	TGGATACTTTTGTCTATCTTTTTCATCAAC	
ETB-F	CAGATAAAGAGCTTTATACACACATTAC	612
ETB-R	AGTGAACCTTATCTTTCTATTGAAAAACACTC	
Mec-F	AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC	533
Mec-R	AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC	

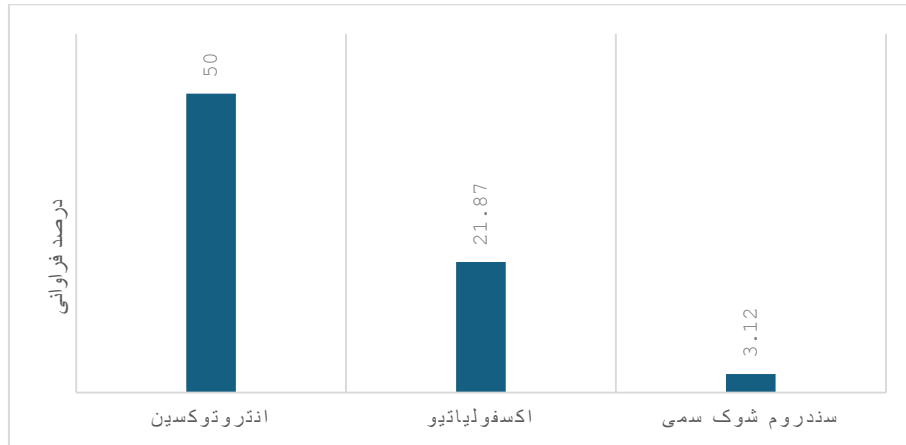
مقاوم به متی‌سیلین و ۲۵ جدایه حساس بودند. که طبق نتایج PCR، در ۳۲ جدایه MRSA مورد بررسی، ۲ جدایه (۶/۲۵ درصد) دارای ژن tsst-1، ۱۶ جدایه (۵۰ درصد)

نتایج

در این پژوهش از ۵۷ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس کشت داده شده در محیط مولر هینتون آگار، ۳۲ جدایه

ژن *sec* گزارش شد. ژن *sec* در هیچ‌یک از جدایه‌ها مشاهده نشد.

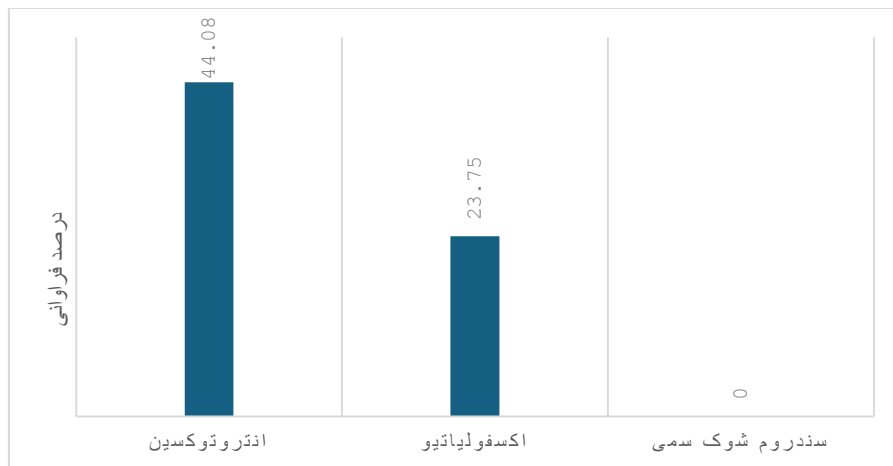
دارای ژن‌های انتروتوکسین که از این میان ۷ جدایه (۲۱/۸۷ درصد) ژن *sea*، ۴ جدایه (۱۲/۵ درصد) ژن *seb*، ۲ جدایه (۶/۲۵ درصد) ژن *sed* و ۲ جدایه (۶/۲۵ درصد)



نمودار ۱- نتایج فراوانی ژن‌های انتروتوکسین، اکسفولیاتیو و سندروم شوک سمی در جدایه مقاوم به متی‌سیلین

فراوانی ژن‌های انتروتوکسین، اکسفولیاتیو و سندروم شوک سمی به ترتیب ۴۴/۰۸، ۲۳/۷۵ و ۰ درصد گزارش شد (نمودار ۲).

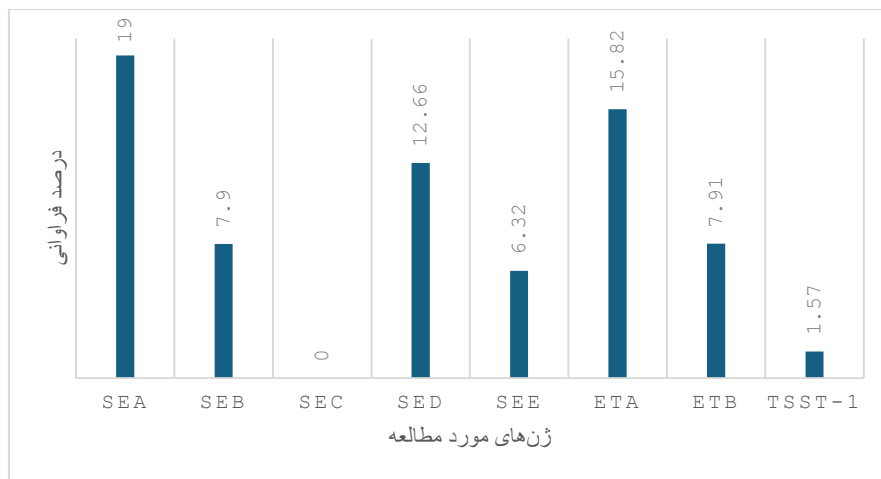
همچنین ۷ جدایه (۲۱/۸۷ درصد) دارای ژن‌های توکسین اکسفولیاتیو A و B بودند که به ترتیب فراوانی ژن *ETA* ۴ جدایه (۵/۱۲ درصد) و فراوانی ژن *ETB* ۳ جدایه (۳۷/۹ درصد) بود. و در جدایه حساس (MSSA)



نمودار ۲- فراوانی ژن‌های انتروتوکسین، اکسفولیاتیو و سندروم شوک سمی در جدایه‌های حساس به متی‌سیلین

۷/۹، ۱۲/۶۶ و ۶/۳۲ درصد بود.

نمودار ۳ نشان می‌دهد که فراوانی ژن‌های انتروتوکسین *sec*، *seb*، *sea*، *sed* و *see* به ترتیب ۹، ۱۹،



نمودار ۳- فراوانی ژن‌های مورد مطالعه در دو جدایه حساس و مقاوم به متی‌سیلین

بیماری‌ها و مقاومت آن به آنتی‌بیوتیک‌ها پرداخته‌اند. این مطالعات به‌ویژه بر اهمیت ژن‌های کدکننده آگزوتوکسین‌ها و مقاومت به متی‌سیلین تمرکز داشته‌اند. استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زا در انسان است که به‌واسطه تولید انواع آگزوتوکسین‌ها و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها، چالش‌های بسیاری در حوزه بهداشت و درمان ایجاد کرده است. این باکتری می‌تواند از طریق ناقلین مختلف، از جمله لارو پشه‌ها، منتقل شود و منجر به شیوع عفونت‌های مختلف در مناطق جغرافیایی متنوع گردد. هدف این مطالعه بررسی حضور ژن‌های کدکننده آگزوتوکسین‌ها در استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم و حساس به متی‌سیلین جداشده از لارو پشه‌ها در منطقه سیستان بوده است.

آگزوتوکسین‌های تولید شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس نقش کلیدی در بیماری‌زایی این باکتری دارند (۱۰). سوپر آنتی‌ژن‌ها مانند TSST-1 با تحریک غیر طبیعی و گسترده سلول‌های T، منجر به ترشح مقادیر زیاد سیتوکین‌ها می‌شوند که می‌تواند به شرایط بالینی پیچیده‌ای مانند سندروم شوک سمی منجر گردد (۱۱). اکسفولیاتیو توکسین‌ها و انتروتوکسین‌ها نیز با اثرات مختلف خود می‌توانند آسیب‌های شدیدی به میزبان وارد کنند. مقاومت به متی‌سیلین (MRSA) یکی از چالش‌های اصلی در درمان عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس

در مطالعه حاضر در مجموع ژن‌های انتروتوکسین بیشترین فراوانی و سندروم شوک سمی کمترین فراوانی را داشت. این نتایج نشان داد که شیوع جدایه‌های مقاوم به متی‌سیلین و جدایه‌هایی که توانایی حمل ژن‌های انتروتوکسین و اکسفولیاتیو را دارند در منطقه سیستان بالا بوده است. این یافته‌ها بر اهمیت کنترل و پیشگیری از گسترش سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین در این منطقه تأکید می‌کنند.

بحث و نتیجه‌گیری

استافیلوکوکوس اورئوس به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زا در انسان، نیازمند بررسی‌های دقیق و جامع برای فهم بهتر مکانیزم‌های بیماری‌زایی و ارائه راهکارهای مؤثر برای کنترل عفونت‌های ناشی از آن است. بررسی حضور ژن‌های کدکننده آگزوتوکسین‌ها در سویه‌های مقاوم و حساس به متی‌سیلین جداشده از لارو پشه‌ها در منطقه سیستان، به درک بهتر از اپیدمیولوژی و روند بیماری‌زایی این باکتری کمک می‌کند. نتایج این پژوهش نشان داد که شیوع سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین و ژن‌های کدکننده آگزوتوکسین‌ها در این منطقه بالا بوده است که این امر نیازمند توجه ویژه و اقدامات مدیریتی مناسب برای کنترل و پیشگیری از عفونت‌های ناشی از این باکتری می‌باشد. مطالعات متعددی در سراسر جهان به بررسی نقش استافیلوکوکوس اورئوس در ایجاد

اورئوس است. MRSA به دلیل مقاومت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های رایج، درمان عفونت‌های ناشی از آن را پیچیده‌تر و پرهزینه‌تر می‌کند. ژن *mecA* که کدکننده پروتئین PBP2a است، اصلی‌ترین عامل مقاومت به متی‌سیلین در این باکتری است (۱۲). این پروتئین با تغییر ساختار دیواره سلولی باکتری، از تأثیر آنتی‌بیوتیک‌ها جلوگیری می‌کند، در نتیجه باکتری به حیات خود ادامه می‌دهد. پشه‌ها و لاروهای آنها می‌توانند به‌عنوان ناقلین میکروارگانیسم‌های مختلف از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* عمل کنند. شرایط زیستی ویژه پشه‌ها و لاروهای آنها محیط مناسبی برای رشد و تکثیر باکتری‌ها فراهم می‌کند. در منطقه سیستان، به دلیل شرایط اقلیمی و زیستی خاص، لارو پشه‌ها نقش مهمی در اپیدمیولوژی باکتری‌های مختلف از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* دارند (۱۳).

این پژوهش با هدف بررسی حضور ژن‌های سندروم شوک سمی (TSST-1)، اکسفولیاتیو A/B و انتروتوکسین‌های A, B, C, D, E در *استافیلوکوکوس اورئوس*‌های مقاوم و حساس به متی‌سیلین جداشده از لارو پشه‌ها در منطقه سیستان به روش PCR انجام شد. نتایج نشان داد که فراوانی ژن‌های انتروتوکسین، اکسفولیاتیو و سندروم شوک سمی در جدایه‌های مقاوم به ترتیب ۵۰، ۲۱/۸۷، ۳/۱۲ درصد و در جدایه‌های حساس به ترتیب ۱۰/۷۱، ۷/۱۴ و ۰ درصد مشاهده شد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که سوپر آنتی‌ژن‌ها نقش مهمی در بیماری‌زایی *استافیلوکوکوس اورئوس* دارند. به‌عنوان مثال، مطالعه‌ای که توسط Gasemi و همکاران (۲۰۱۸) انجام شد، نشان داد که TSST-1، یکی از مهم‌ترین سوپر آنتی‌ژن‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، می‌تواند منجر به سندروم شوک سمی شود. این یافته‌ها با نتایج پژوهش حاضر که نشان‌دهنده حضور ژن TSST-1 در ۹ درصد از جدایه‌های مقاوم به متی‌سیلین بود (۱۴)، همخوانی دارد.

مطالعات متعددی نشان داده‌اند که سویه‌های MRSA

نسبت به MSSA توانایی بیشتری در تولید اگزوتوکسین‌ها دارند. به عنوان مثال، مطالعه‌ای که توسط Lina و همکاران (۲۰۰۴) انجام شد، نشان داد که سویه‌های MRSA بیشتر مستعد تولید سوپر آنتی‌ژن‌ها و اگزوتوکسین‌ها هستند. نتایج پژوهش حاضر نیز تأیید می‌کند که جدایه‌های مقاوم به متی‌سیلین در مقایسه با جدایه‌های حساس به متی‌سیلین، فراوانی بیشتری از ژن‌های اگزوتوکسین دارا هستند (۱۵). مطالعات منطقه‌ای نیز نشان‌دهنده تفاوت‌هایی در شیوع و نوع ژن‌های اگزوتوکسین در مناطق مختلف هستند. به‌عنوان مثال، مطالعه‌ای که در منطقه خاور میانه توسط Al-Talib و همکاران انجام شد، نشان داد که فراوانی ژن‌های انتروتوکسین در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* بالاست (۱۶). در پژوهش حاضر، فراوانی ژن‌های انتروتوکسین در جدایه‌های مقاوم به متی‌سیلین ۵۰ درصد و در جدایه‌های حساس ۱۰/۷۱ گزارش شد که با نتایج مطالعه Al-Talib همخوانی دارد. مطالعاتی که در سایر نقاط جهان انجام شده‌اند نیز نشان‌دهنده شیوع بالای ژن‌های اگزوتوکسین در سویه‌های MRSA هستند. به‌عنوان مثال، مطالعه‌ای که توسط Chambers and DeLeo (۲۰۰۹) در ایالات متحده انجام شد، نشان داد که سویه‌های MRSA بیشتر مستعد حمل ژن‌های اگزوتوکسین هستند. این مطالعه همچنین بر اهمیت کنترل و پیشگیری از گسترش سویه‌های MRSA تأکید دارد که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد (۱۷).

مطالعاتی که به بررسی تأثیرات زیست محیطی بر شیوع سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین پرداخته‌اند، نشان می‌دهند که شرایط اقلیمی و زیست محیطی می‌توانند نقش مهمی در گسترش این سویه‌ها داشته باشند. به‌عنوان مثال، مطالعه‌ای که توسط Otter و French (۲۰۱۰) انجام شد، نشان داد که مناطق با شرایط زیست محیطی خاص مانند مناطق گرم و مرطوب، می‌توانند میزان شیوع سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین را افزایش دهند. این یافته‌ها با نتایج پژوهش حاضر که در منطقه

جامع برای فهم بهتر مکانیزم‌های بیماری‌زایی و ارائه راهکارهای مؤثر برای کنترل عفونت‌های ناشی از آن است. این پژوهش نشان داد که شیوع سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین و ژن‌های کدکننده آگزوتوکسین‌ها در منطقه سیستان بالا بوده است که این امر نیازمند توجه ویژه و اقدامات مدیریتی مناسب برای کنترل و پیشگیری از عفونت‌های ناشی از این باکتری می‌باشد. با توجه به اهمیت یافته‌های این پژوهش، ادامه تحقیقات در این زمینه و بررسی‌های گسترده‌تر و دقیق‌تر ضروری است تا بتوان به راهکارهای مؤثرتری برای مقابله با چالش‌های مرتبط با استافیلوکوکوس اورئوس و MRSA دست یافت.

سیستان با شرایط اقلیمی خاص انجام شد، همخوانی دارد (۱۸). نتایج پژوهش حاضر با بسیاری از مطالعات پیشین در زمینه شیوع ژن‌های آگزوتوکسین و مقاومت به متی‌سیلین همخوانی دارد. به‌طور خاص، یافته‌های مربوط به فراوانی بالای ژن‌های انترتوکسین و اکسفولیاتیو در سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین، با نتایج مطالعات مشابه در مناطق دیگر جهان تطابق دارد. این امر نشان‌دهنده یک الگوی جهانی در مقاومت به متی‌سیلین و توانایی تولید آگزوتوکسین‌ها توسط سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس است.

استافیلوکوکوس اورئوس به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زا در انسان، نیازمند بررسی‌های دقیق و

References

- 1- Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG JR. Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev.* 2015; 28(3): 603-61.
- 2- Tsuji T. [Modulation of Host Immune System by Staphylococcal Superantigen-like (SSL) Proteins]. *Yakugaku Zasshi.* 2021; 141(4): 579-589.
- 3- Xu SX, McCormick JK. Staphylococcal superantigens in colonization and disease. *Front Cell Infect Microbiol.* 2012; 2: 52.
- 4- Chen H, Zhang J, He Y, Lv Z, Liang Z, Chen J, et al. Exploring the Role of Staphylococcus aureus in Inflammatory Diseases. *Toxins.* 2022; 14(7): 464.
- 5- Ali Alghamdi B, Al-Johani I, Al-Shamrani JM, Musamed Alshamrani H, Al-Otaibi BG, Almazmomi K, et al. Antimicrobial resistance in methicillin-resistant staphylococcus aureus. *Saudi J Biol Sci.* 2023; 30(4): 103604.
- 6- Kmiha S, Jouini A, Zerriaa N, Hamrouni S, Thabet L, Maaroufi A. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Strains Isolated from Burned Patients in a Tunisian Hospital: Molecular Typing, Virulence Genes, and Antimicrobial Resistance. *Antibiotics.* 2023; 12(6): 1030.
- 7- Souza RS, Virginio F, Riback TIS, Suesdek L, Barufi JB, Genta FA. Microorganism-Based Larval Diets Affect Mosquito Development, Size and Nutritional Reserves in the Yellow Fever Mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Front Physiol.* 2019; 10: 152.
- 8- Abuseraia NSA, AlBaker AAH, Aljabri ASA, Abdelrahman HA, Al-Mana H, Wilson GJ, et al. Rapid Visual Detection of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Human Clinical Samples via Closed LAMP Assay Targeting mecA and spa Genes. *Microorganisms.* 2024; 12(1): 157.
- 9- Mkhize S, Amoako DG, Shobo CO, Zishiri OT, Bester LA. Genotypic and Phenotypic Characterizations of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) on Frequently Touched Sites from Public Hospitals in South Africa. *Int J Microbiol.* 2021; 2021: 6011045.
- 10- G Abril A, G Villa T, Barros-Velázquez J, Cañas B, Sánchez-Pérez A, Calo-Mata P, et al. Staphylococcus aureus Exotoxins and Their Detection in the Dairy Industry and Mastitis. *Toxins (Basel).* 2020; 12(9): 537.
- 11- Krakauer T. Staphylococcal Superantigens: Pyrogenic Toxins Induce Toxic Shock. *Toxins (Basel).* 2019; 11(3): 178.
- 12- Dhungel S, Rijal KR, Yadav B, Dhungel B, Adhikari N, Shrestha UT, et al. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA): Prevalence, Antimicrobial Susceptibility Pattern, and Detection of mecA Gene among Cardiac Patients from a Tertiary Care Heart Center in Kathmandu, Nepal. *Infect Dis (Auckl).* 2021; 14: 11786337211037355.

13- Chersoni L, Checcucci A, Malfacini M, Puggioli A, Balestrino F, Carrieri M, et al. The Possible Role of Microorganisms in Mosquito Mass Rearing. *Insects*. 2021; 12(7): 645.

14- Ghasemi P, Mahdavi S. Study of Prevalence of Toxic Shock Syndrome Toxin (TSST-1) and Methicillin Resistance (MecA) Genes of *Staphylococcus aureus* Isolates from Local Cheese in Northwest of Iran. *Gene Cell Tissue*. 2018; 5(4): e82372.

15- Agnieszka M, Ewelina P, Dagmara SP, Renata UC, Łukasz S. Association Between the Methicillin Resistance of *Staphylococcus aureus* Isolated from Slaughter Poultry, Their Toxin Gene

Profiles and Prophage Patterns. *Current Microbiology*. 2018; 75: 1256–1266.

16- Al-Talib H, Yean CY, Al-Khateeb A, et al. A pentaplex PCR assay for the rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and Pantone-Valentine Leucocidin. *BMC Microbiol*. 2009; 9: 113.

17- Chambers HF, Deleo. FRWaves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol*. 2009; 7(9): 629-41.

18- Otter JA, French GL. Molecular Epidemiology of Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. 2010.



Prevalence of genes encoding exotoxins in methicillin-resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* isolated from mosquito larvae in Sistan region by PCR method

Parisa Hasanein^{1*}, Vahideh Hamidnia²

1- Department of Biology, faculty of Basic Sciences, University of Zabol, Zabol, Iran.

2- Master's student, Department of Pathobiology, faculty of Veterinary, University of Zabol, Zabol, Iran.

Receive: June 5, 2024; Revise: June 8, 2024; Accept: June 8, 2024

 10.22034/NFVM.2024. 461253.1247

Summary

Staphylococcus aureus produces a wide range of exotoxins that makes diseases in the host. Pyrogenic superantigens are a group of exotoxins produced by *Staphylococcus aureus*. This group includes toxic shock syndrome toxin, exfoliative and all enterotoxins of this bacterium. Identifying these factors is essential in understanding the pathogenic process of bacteria. The aim of this study was to investigate the presence of toxic shock syndrome (TSST-1), exfoliative A/B and enterotoxins A, B, C, D, E genes in methicillin-resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* isolated from mosquito larvae in Sistan region by PCR method. This research was conducted on 57 isolates of *Staphylococcus* bacteria. Methicillin-resistant and sensitive isolates were identified using agar diffusion method and oxacillin-containing DNA plates. Bacteria were extracted by boiling method. Using PCR method and specific primers, genes encoding toxic shock syndrome (tst), exfoliative (eta, etb) and enterotoxin (sea, seb, sec, sed, see) were investigated in this bacterium. Out of a total of 57 *Staphylococcus aureus* isolates, 32 resistant isolates and 25 methicillin sensitive isolates were identified. The frequency of enterotoxin, exfoliative and toxic shock syndrome genes in resistant isolates was 50%, 21.87%, 3.12% respectively and in sensitive isolates 44.08%, 23.75% and 0% respectively. The results showed that the prevalence of methicillin-resistant isolates and isolates capable of carrying enterotoxin and exfoliative genes was high in Sistan region.

Keywords: antibiotic resistance, *Staphylococcus aureus*, mosquito larvae, methicillin, enterotoxin