

Identification of Virulence Genes in *Staphylococcus aureus* Isolates Segregated from Children's Wounds

Donya Taghizadeh Maleki¹, Zohreh Ghalavand¹, Bahram Nikmanesh², Ali Hashemi¹,
Hiva Kadkhoda¹, Gita Eslam^{1*}

1. Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2. Department of Lab Medical Sciences, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: 2018/10/15

Accept: 2018/11/17)

Abstract

Background: *Staphylococcus aureus* is an opportunistic pathogenic bacterium that can provide invasive conditions by secreting various toxins. It is involved in the development of skin infections, such as swollen and ulcers. Today, one of the main problems is the treatment of *Staphylococcus aureus* resistant strains. The aim of the current study was to detect virulence factors and antibiotic resistance among strains isolated from wound infections of children who referred to Tehran Children's Medical Hospital in 1396-97.

Materials and Methods: A total of 59 strains of *Staphylococcus aureus* isolated from wound infection were collected during one year. *Staphylococcus aureus* was detected using biochemical tests. For antibiotic susceptibility test, antibiotic disks (Mast, UK) were used according to the CLSI 2017. For detection of virulence genes, including *nuc*, *mecA*, *tsst-1*, *hla*, *hly*, *hld*, *eta*, *etb*, etc, PCR method was used.

Results: Vancomycin and linezolid were sensitives for all isolates and the highest resistance antibiotic was penicillin with 98.3%. The frequency distribution of genes *s*, *mecA*, *tsst-1*, *hla*, *hly*, *hld*, *eta*, *etb*, and *etd* were 59.3%, 37.7%, 71.2%, 57.6%, 96.6%, 100%, 11.9%, 27.1%, respectively.

Conclusion: All isolates were sensitive to vancomycin and linezolid, and these antibiotics were the best choices for the first line of treatment for *staphylococcus aureus* strains. Since all isolates of *Staphylococcus aureus* were obtained from children wound infections and all of them contained *oxfolitic A* gene, control and disinfection measures seem to be important among children, because these strains have the potential to spread this gene among hospitalized patients.

Keywords: *Staphylococcus aureus*; Hemolysins; Exfoliation; Wound infection

* Corresponding: Gita Eslami*
Email: g_eslami@yahoo.com

شناسایی ژن‌های ویروالانس در ایزوله‌های استافیلوکوک اورئوس جدا شده از زخم کودکان

دنیا تقی‌زاده ملکی^۱، دکتر زهره قلاوند^۱، دکتر بهرام نیک‌منش^۲، دکتر علی هاشمی^۱، هیوا کدخدای^۱
دکتر گیتا اسلامی^{۱*}

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، ایران
۲- گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۸/۲۶

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۷/۲۳

چکیده:

سابقه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس باکتری بیماری‌زای فرصت‌طلب بوده که با ترشح سموم مختلف شرایط تهاجم به میزبان را فراهم می‌کند و در ایجاد عفونت‌های پوستی مانند جوش، کفگیرک و زخم نقش دارد. امروزه یکی از معضلات پزشکی درمان ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به دارو است. هدف از مطالعه حاضر شناسایی ویروالانس فاکتورها و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین ایزوله‌های جدا شده از نمونه‌های زخم کودکان مراجعه‌کننده به بیمارستان مرکز طبی کودکان تهران ۱۳۹۶-۹۷ است.

مواد و روش‌ها: در مطالعه حاضر، تعداد ۵۹ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس از عفونت زخم طی یک سال جمع‌آوری شد. ابتدا با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی، باکتری استافیلوکوکوس اورئوس تشخیص داده شد. سپس تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی (Mast، انگلستان)، طبق دستورالعمل CLSI سال ۲۰۱۷ انجام شد. حضور ژن‌های *etd*، *eta+etb*، *hla*، *hnb*، *hld*، *tsst-1+hla*، *nuc*، *mecA* با استفاده از PCR بررسی و محصولات آن‌ها تعیین توالی شد. یافته‌ها: بیشترین حساسیت به ونکومايسين و لیزولید با ۱۰۰ درصد حساسیت و بالاترین مقاومت مربوط به پنی‌سیلین با ۹۸/۳ درصد بود. توزیع فراوانی ژن‌ها از قبیل *mecA*، *tsst*، *hla*، *hnb*، *hld*، *eta*، *etb*، *etd* به ترتیب شامل: ۳/۵۹، ۲۷/۷۱، ۳۷/۷۱، ۶/۵۷، ۶/۹۶، ۱۰۰/۱۱، ۱۱/۹، ۱۱/۲۷ درصد بود.

نتیجه‌گیری: آنتی‌بیوتیک‌های ونکومايسين و لیزولید با ۱۰۰ درصد حساسیت برای درمان عفونت‌های زخم ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس کاندیدا هستند. با توجه به اینکه همه ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از زخم کودکان دارای ژن اکسفولیاتیو A هستند، تدابیر کنترل و ضدعفونی زخم در بین کودکان برای پیشگیری از انتشار ایزوله‌هایی با پتانسیل توکسین‌زایی اهمیت می‌یابد.

واژگان کلیدی: استافیلوکوک اورئوس، همولیزین‌ها، اکسفولیاتیو توکسین، عفونت زخم.

مقدمه:

میکنند (۲، ۳). استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متیسیلین (MRSA) یک ایزوله اختصاصی از استافیلوکوک است که باعث ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی به بتالاکتام‌ها میشود. دلیل ایجاد این نوع مقاومت حضور ژن *mecA* بوده که کدکننده یک پروتئین متصل‌شونده به پنی‌سیلین 2PBP2a در استافیلوکوکوس اورئوس است (۲). امروزه گسترش ایزوله‌های MRSA به یکی از شاخص‌ترین چالش‌ها در حوزه درمان تبدیل شده است (۴). استافیلوکوکوس اورئوس میکروارگانیزمی است که در پوست انسان و مخاط بینی کلونیزه شده و توان بیان فاکتورهای چسبندگی

استافیلوکوک اورئوس، کوکسی گرم مثبت و کوآگولاز مثبت از خانواده استافیلوکوکاسیه است. افزایش روزافزون مقاومت به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها و شیوع بالای این باکتری در عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان و جامعه و دارا بودن فاکتورهای ویروالانس متنوعی که در زنده ماندن این باکتری در بدن میزبان دخالت دارند موجب اهمیت این باکتری در حوزه سلامت شده است (۱).

این باکتری طیف وسیعی از عفونت‌ها از قبیل آبسه، پنومونی، مسمومیت غذایی، عفونت‌های پوستی، عفونت‌های پس از جراحی، عفونت‌های زخم، عفونت‌های بافت نرم، استئومیلیت، سندرم شوک سمی، سپتی سمی، باکتری می‌واندوکار دیت را ایجاد

Methicillin-resistant Staphylococcus aureus	1
penicillin binding protein 2A	2

نویسنده مسئول: دکتر گیتا اسلامی

پست الکترونیکی: g_eshlami@yahoo.com

آنتی بیوتیکی در نمونه‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ آنالیز شد و مقادیر $0P \text{ value} \leq 0.05$ به عنوان معنادار در نظر گرفته شد. توالی پرایمر ژن‌های بررسی شده در این مطالعه:

منبع	(5' → 3') توالی پرایمر	اندازه قطعات (bp)	پرایمر
(۸)	F-GCGATTGATGGTGATACGGTT R-AGCCAAGCCTTGACGAAGCTAAAGC	۲۷۰	nuc
(۹)	F-GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA R-CCAATCCACATTGTTTCGCTCTAA	۳۱۰	mecA
(۱۰)	F-TTATCGTAAGCCCTTTTGTG R-TAAAGGTAGTCTATTGGAGTAGG	۳۹۸	tsst-1
(۱۱)	F-CTGATTACTATCCAAGAAATTCGATTG R-CTTCCAGCCTACTTTTTTATCAGT	۲۱۰	hla
(۱۱)	F-GTGCACTACTGACAATAGTGC R-GTTGATGAGTAGCTACCTTCAGT	۳۱۰	h1b
(۱۲)	F-GAATTTGTTCACTGTGTCG R-TTACACCACTCTCCTCAC	۳۵۷	h1d
(۱۳)	F-TTGTCTTCTTGATTGGATTG R-GATGTGTCGGTTTGATTGAC	۴۶۴	eta
(۱۱)	F-ACGGCTATATACATTCAATT R-TCCATCGATAATATACCTAA	۲۲۶	etb
(۱۳)	F-GGGGAGACTATAGCTTCTGGTGATTA R-TCCAACATGAATACCAACTAAGCTCT	۴۷۷	etd

یافته‌ها:

از تعداد ۵۹ نمونه بررسی شده، ۳۴ نفر دختر و ۲۵ نفر پسر بودند. تعداد ایزوله‌ها بر حسب بخشهای مختلف بیمارستان طبقه‌بندی شد و در جدول شماره یک ذکر شده است، همچنین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از زخم (جدول شماره ۲) نشان می‌دهد که بیشترین حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومايسين و لیزولید (۱۰۰ درصد) و بالاترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک پنیسیلین با ۹۸/۳ درصد بوده است. همچنین یافته‌های مطالعه حاضر حاکی از آن است که ۵۹/۳ درصد و ۴۰/۷ درصد بترتیب MRSA و MSSA بوده‌اند. توزیع فراوانی ژنهای ویبرولانس در جدول شماره ۳ نشان داده شده است.

سطحی و فاکتورهای بیماریزا مانند توکسینها، همولیزینها و فاکتورهای سیستم تنظیمی را دارا بوده که باعث عفونت‌های پوستی می‌شوند (۵). هدف از این مطالعه تعیین فاکتورهای ویبرولانس و حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از عفونت زخم کودکان مراجعه کننده به بیمارستان مرکز طبی کودکان در سال ۹۷-۹۶ است.

مواد و روش‌ها:

در این مطالعه توصیفی که از فروردین ۹۶ تا فروردین ۹۷ انجام شد، تعداد ۵۹ نمونه زخم جدا شده از کودکان زیر ۱۴ سال مراجعه کننده به مرکز طبی کودکان تهران از بخشهای مختلف بیمارستان (عفونی، گوارشی، بیماران سرپایی، نوزادان، هماتولوژی، نورولوژی، جراحی، نفرولوژی، تنفسی، اورژانس، قلب و بخش‌های مراقبت ویژه) وارد مطالعه شدند.

ابتدا با استفاده از تست‌های تعیین هویت شامل کاتالاز، کوآگولاز، DNase و تست تخمیر مانتیول، باکتری استافیلوکوکوس اورئوس تشخیص داده شد. سپس تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی طبق دستورالعمل موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (2017CLSI) و دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی (MAST، انگلستان) انجام شد. در این روش، سوپانسیون باکتری با کدورتی معادل استاندارد نیم مک فارلند در سرم فیزیولوژی تهیه شد، سپس با استفاده از سوآپ استریل روی سطح محیط مولر هیتون‌ناگار تلقیح شده و دیسکها با فاصله مناسب روی سطح محیط قرار داده شدند. هاله عدم رشد بعد از انکوباسیون به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بررسی شد. برای انجام این مطالعه، دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی (Mast، انگلستان) استفاده شد که شامل: اریترومايسين ۱۵ میکروگرم، کلیندامایسین ۲ میلی‌گرم، پنیسیلین ۱۰ یونیت، کوتریموکسازول ۲۳،۷۵/۱،۲۵ میکروگرم، لیزولید ۳۰ میکروگرم، سفوکسیتین ۳۰ میکروگرم، جنتامایسین ۱۰ میکروگرم، سفتراولین ۵ میکروگرم، سیپروفلوکساسین ۳۰ میکروگرم بودند. برای آنتی بیوتیک ونکومايسين، MIC با استفاده از نوارهای E-test Liofelchem، ایتالیا بررسی شد (۶، ۷). تایید گونه‌های استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از ژن nuc با تکنیک PCR انجام شد و ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 29523) به عنوان کنترل کیفی استفاده شد. بررسی فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت به متی‌سیلین با استفاده از دیسک سفوکسیتین و وجود ژن mecA به روش PCR انجام شد. برای بررسی پروفایل فاکتورهای ویبرولانس در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس روش PCR برای ژن‌های *hla*، *tsst-1*، *3*، *4*، *5 hlb*، *6 hld*، *7*، *8*، *9* انجام شد.

استخراج DNA از ایزوله‌های استافیلوکوک اورئوس، با استفاده از کیت (Roche)، آلمان (انجام شد و غلظت DNA با استفاده از دستگاه نانو دراپ (Denovix)، ایتالیا) ارزیابی شد.

برای انجام PCR، ابتدا در هر میکروتیوب، ۱۲/۵ لاند از مسترمیکس تک‌رش (Amplicon)، دانمارک، یک لاند از هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت، ۸/۵ لاند آب مقطر دیونیزه و دو لاند از DNA نمونه مورد نظر به میکروتیوب اضافه شد. برای اطمینان از صحت وجود ژن‌های ارزیابی شده در این بررسی از کنترل‌های مثبت مربوط به هر ژن و کنترل منفی استفاده شده است و کنترل مثبت‌ها شامل سویه‌های بالینی بودند که برای سکانس به شرکت Bioneer کره جنوبی ارسال شده و تعیین توالی شده و با توالی‌های موجود در بانک توالی ژنی ارزیابی شده بودند.

فراوانی ژنهای مورد نظر، اطلاعات دوگرافیک بیماران و نتایج تست حساسیت

toxic shock syndrome toxin-1	3
Alpha(α)-hemolysin	4
beta-hemolysins	5
Delta-hemolysins	6
exfoliative toxins alpha	7
exfoliative toxins beta	8
exfoliative toxins delta	9

جدول شماره ۳) فراوانی نسبی ژن‌های ویروالانس ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از زخم

ژن	فراوانی نسبی ژن‌ها
nuc	۱۰۰
eta	۱۰۰
hld	۹۶/۶
hla	۷۱/۲
mecA	۵۹/۳
hlyb	۵۷/۶
tsst-1	۳۷/۷
etd	۲۷/۱
etb	۱۱/۹

جدول شماره ۱) توزیع ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده بر حسب بخش‌های مختلف بیمارستان مرکز طبی کودکان تهران

بخش بیمارستان	فراوانی نسبی ایزوله‌ها
عفونی	۲۸/۸
جراحی	۱۸/۶
نوزادان	۱۱/۹
سرپایی	۱۰/۲
داخلی	۶/۸
اورژانس	۵/۱
گوارش	۵/۱
اعصاب	۳/۴
بخش مراقبت‌های ویژه	۳/۴
مراقبت‌های ویژه قلب	۳/۴
مراقبت ویژه نوزادان	۱/۷
نفرولوژی	۱/۷

بحث:

استافیلوکوکوس‌ها به عنوان بخشی از فلور نرمال عامل ایجادکننده بیماری‌های فرصت‌طلب و عفونتهایی از قبیل آبسه‌های پوستی و عفونتهای سیستمیک محسوب می‌شوند (۱۴، ۱۵). از مهم‌ترین راهکارهای مقابله با افزایش شیوع عفونت‌های استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی و درمان به موقع عفونتهای حاصل از آن است. در حال حاضر گسترش سویه‌های MRSA به یکی از اصلیت‌ترین چالش‌های درمانی تبدیل شده است و از آنجا که مرگ و میر ناشی از عفونتهای استافیلوکوکوس اورئوس رو به افزایش است، نیازمند درمان سریع عفونت‌ها و تعیین الگوی مناسب آنتی بیوتیکی است (۱۶).

تحقیق نشان می‌دهد که بیشترین حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومايسين و لینزولید (۱۰۰ درصد) و بالاترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین با ۹۸/۳ درصد است. Byeong و همکاران در سال ۲۰۱۵ از کره گزارش کردند که تمامی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متیسیلین حساس به ونکومايسين بوده و اریترومايسين با مقاومت ۵۶ درصدی و کوتریموکسازول با مقاومت ۱۸ درصدی گزارش شد (۱۷). سال ۲۰۱۶ در تهران براساس مطالعه‌ای که Goudarzi و همکاران انجام دادند، از میان ۱۲۸ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متیسیلین به این نتیجه رسیدند که ۹۷/۷ درصد نمونه‌ها مقاوم به پنیسیلین، ۷۸/۱ درصد نمونه‌ها مقاوم به سیپروفلوکساسین، ۶۰/۹ درصد نمونه‌ها مقاوم به جنتامايسين، ۵۸/۶ درصد نمونه‌ها مقاوم به اریترومايسين، ۴۶/۹ درصد به کلیندامایسین، ۳۶/۶ درصد به کوتریموکسازول و تمامی ایزوله‌ها به لینزولید و ونکومايسين حساس بودند (۱۸). در مطالعه حاضر نیز تمامی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متیسیلین به ونکومايسين و لینزولید حساس بودند. در گزارش دیگری از Hematian و همکاران بر روی ۸۰ نمونه بالینی مقاوم به متیسیلین، ۴۶/۶ درصد مقاوم به اریترومايسين، ۲۳ درصد مقاوم به اگزاسیلین، ۲۰ درصد مقاوم به کلیندامایسین و ۱۶/۶ درصد مقاوم به جنتامايسين بودند (۱۹).

توزیع فراوانی ژنهای ویروالانس در مطالعه حاضر شامل اکسفولیاتیو توکسین A با فراوانی ۱۰۰ درصد، همولیزین دلتا با فراوانی ۹۶/۶ درصد، همولیزین الفا با فراوانی ۷۱/۲ درصد، همولیزین بتا با فراوانی ۵۷/۶ درصد، سندرم شوک توکسیک با فراوانی ۳۷/۷ درصد، اکسفولیاتیو توکسین دلتا با فراوانی ۲۷/۱ درصد و اکسفولیاتیو توکسین بتا فراوانی

جدول شماره ۲) الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از مرکز طبی کودکان تهران

آنتی بیوتیک	فراوانی ایزوله‌های مقاوم تعداد درصد	فراوانی ایزوله‌های حدواسط تعداد درصد	فراوانی ایزوله‌های حساس تعداد درصد
پنی سیلین	58(3/98)	0	1(7/1)
اریترومايسين	28(5/47)	8(6/13)	23(39)
کلیندامایسین	27(5/48)	7(9/11)	25(4/42)
سفوکسیتین	33(9/55)	0	26(1/44)
کوتریموکسازول	11(6/11)	0	48(4/81)
لینزولید	0	0	59(100)
جنتامايسين	12(3/20)	0	47(7/79)
سفتراولین	4(8/6)	2(4/3)	53(8/89)
سیپروفلوکساسین	16(1/27)	2(4/3)	41(5/69)
ونکومايسين	0	0	59(100)

مطالعه حاضر نزدیک بوده است (۱۲).

نتیجه گیری:

از آنجا که توکسین اکسفولیاتیو A بالاترین شیوع را در بین فاکتورهای ویرولاکس استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده از نمونه های زخم کودکان داشته است، باید تمهیدات لازم برای جلوگیری از شیوع گسترده ایزوله های دارای ژن این توکسین در بخش های مختلف بیمارستان به کار گرفته شود. همچنین آنتی بیوتیک های ونکومايسين و لینزولید می توانند به عنوان داروهای انتخابی برای درمان عفونت های زخم ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس در نظر گرفته شود.

تشکر و قدردانی:

مقاله حاضر حاصل اجرای طرح تحقیقاتی مصوب در معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی با کد ثبت ۱۳۲۰۰ و (کد اخلاق: IR.SBMU.MSP.REC: ۱۳۹۷, ۱۸۶) است.

منابع:

- Stevens E, Laabei M, Gardner S, Somerville GA, Massey RC. Cytolytic toxin production by *Staphylococcus aureus* is dependent upon the activity of the protoheme IX farnesyltransferase. *Scientific Reports*. 2017;7(1):13744.
- kadkhoda H, ghalavand Z, Nikmanesh B, huori H, taghizadeh maleki D, eslami G. Virulence factors evaluation in methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from children referred to Tehran Children's Medical Center Hospital. *Research in Medicine*. 2018;42(1):59-64
- Morell EA, Balkin DM. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a pervasive pathogen highlights the need for new antimicrobial development. *The Yale journal of biology and medicine*. 2010;83(4):223-33.
- Dibah S, Arzanlou M, Jannati E, Shapouri R. Prevalence and antimicrobial resistance pattern of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated from clinical specimens in Ardabil, Iran. *Iranian journal of microbiology*. 2014;6(3):163.
- Kassam NA, Damian DJ, Kajeguka D, Nyombi B, Kibiki GS. Spectrum and antibiogram of bacteria isolated from patients presenting with infected wounds in a Tertiary Hospital, northern Tanzania. *BMC research notes*. 2017;10(1):757.
- Benvidi ME, Houry H, Ghalavand Z, Nikmanesh B, Azimi H, Samadi R, et al. Toxin production and drug resistance profiles of pediatric methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Tehran. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2017;11(10):759-65.
- Yadegarynia D, Taheri M, Arabmazar Z, Darvishi A. Evaluation of antimicrobial susceptibility among *Staphylococcus aureus* by E-test method at Khatam-ol-Anbia hospital during 2013–2015. *Res Med*. 2016;40(1):24-9.
- 8 Stuhlmeier R, Stuhlmeier K. Fast, simultaneous, and sensitive detection of staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*. 2003;56(10):782-5.
- McClure J-A, Conly JM, Lau V, Elsayed S, Louie T, Hutchins W, et al. Novel multiplex PCR assay for detection of the staphylococcal

۱۱/۹ درصد به دست آمد که با بررسی Zarei Kooshaa و همکاران در ۲۰۱۳ بر روی ایزوله های استافیلوکوکوس جدا شده از عفونت زخم دیابتیها، با فراوانی ۴/۹۴ درصد توکسین A و ۶/۷ درصد توکسین B مشابهت دارد (۱۲). اما از بین ۱۳۳ نمونه ای که Sabouni و همکاران در ایران از بیماران بستری در بیمارستان جدا کردند شیوع پایین تری از فاکتورهای ویرولاکس tsst1 (۱۲/۸ درصد)، eta (۱۱/۳ درصد)، etb (۹ درصد) مشاهده شد (۲۰). همچنین Esmaeili Benvidi و همکاران، از بین ۱۰۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، شیوع ژن tsst-1 را ۱۷ درصد گزارش کردند (۶). شیوع پایین تر فاکتورهای ویرولاکس بررسی شده در این دو مطالعه می تواند به دلیل تفاوت نمونه ها در این دو مطالعه نسبت به بررسی حاضر باشد. Zarei Kooshaa و همکاران در سال ۲۰۱۴ در شمال ایران، از بین ۱۹۷ نمونه ای که از بیمارستان های شمال ایران جمع آوری شد، میزان شیوع ژن های eta ۸۸/۲ درصد، etb ۱۱/۸ درصد گزارش کردند که به میزان شیوع

virulence marker Pantone-Valentine leukocidin genes and simultaneous discrimination of methicillin-susceptible from-resistant staphylococci. *Journal of clinical microbiology*. 2006;44(3):1141-4.

Benvidi ME, Houry H, Ghalavand Z, Nikmanesh B, Azimi H, Samadi R, et al. Toxin production and drug resistance profiles of pediatric methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Tehran. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2017;11(10):759-65..

Suryadevara, M., et al., Molecular Characterization of Invasive *Staphylococcus aureus* Infection in Central New York Children: Importance of Two Clonal Groups and Inconsistent Presence of Selected Virulence Determinants. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 2012. 2(1): p. 30-39.

Kiran MD, Akiyoshi DE, Giacometti A, Cirioni O, Scalise G, Balaban N. OpuC—an ABC transporter that is associated with *Staphylococcus aureus* pathogenesis. *The International journal of artificial organs*. 2009;32(9):600-10.

13 Koosha RZ, Fooladi AAI, Hosseini HM, Aghdam EM. Prevalence of exfoliative toxin A and B genes in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens. *Journal of infection and public health*. 2014;7(3):177-85.

Franke GC, Böckenholt A, Sugai M, Rohde H, Aepfelbacher M. Epidemiology, variable genetic organization and regulation of the EDIN-B toxin in *Staphylococcus aureus* from bacteraemic patients. *Microbiology*. 2010;156(3):860-72.

Jarraud S, Mougél C, Thioulouse J, Lina G, Meugnier H, Forey F, et al. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. *Infection and immunity*. 2002;70(2):631-41.

Turlej A, Hryniewicz W, Empel J. Staphylococcal cassette chromosome mec (Sccmec) classification and typing methods: an overview. *Pol J Microbiol*. 2011;60(2):95-103.

Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clinical microbiology reviews*. 1997;10(4):781-91.

Jung BS, Lee YJ, Lee N-K, Kim HW, Oh M-H, Paik H-D. Virulence

factors of *Staphylococcus aureus* isolated from Korean pork bulgogi: Enterotoxin production and antimicrobial resistance. Korean journal for food science of animal resources. 2015;35(4):502.

Goudarzi M, Seyedjavadi SS, Nasiri MJ, Goudarzi H, Nia RS, Dabiri H. Molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated from patients with bacteremia based on MLST, SCCmec, spa, and agr locus types analysis. Microbial pathogenesis. 2017;104:328-35.

Hematian A, Monjezi A, Abiri R, Mohajeri P, Farahani A, Soroush

S, et al. Clonal lineage diversity, antibiotic resistance, and virulence determinants among methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolated from nurses at a teaching hospital in Ilam, Iran: Successful nares decolonization by mupirocin. Journal of global infectious diseases. 2018;10(2):67.

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 research perspectives. 2014;5(2):96-100.