

جداسازی و شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس های انتروتوکسوژنیک تایپ A به وسیله Multiplex PCR

بابک براتی^۱ M.Sc.*، مجتبی سعادتی^۲ Ph.D.، میرزاخلیل بهمنی^۳ Ph.D.

آدرس مکاتبه: *گروه علوم زیستی، دانشگاه امام حسین (ع)، تهران، ایران.

تاریخ اعلام قبولی مقاله: ۱۵/۱۰/۱۹

تاریخ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۵/۹/۲۰

تاریخ اعلام وصول: ۱۵/۶/۲۸

خلاصه

مقدمه: استافیلوکوکوس اورئوس سموم پروتئینی و فاکتورهای بیماریزایی خارج سلولی مختلفی تولید می کند. یکی از مهمترین پروتئین های خارج سلولی، انتروتوکسین می باشد که عامل ایجاد مسمومیت غذایی به وسیله این گونه از باکتری است. این توکسین ها از دستگاه گوارش به دستگاه گردش خون وارد شده، سپس مرکز عصبی غیرارادی استفراغ را تحریک کرده، باعث ایجاد حالت تهوع، استفراغ، دل پیچه و اسهال می شود که می تواند باعث کم آب شدن بدن گردد. روش های مستقیم متعددی برای شناسایی انتروتوکسین ها وجود دارد (الایزا، روش های ایمنی اگلوتیناسیون لاتکس و ...)، اما با روش های تکثیر DNA [واکنش های زنجیره ای پلیمرز (PCR)] می توان حضور سویه های استافیلوکوکوس اورئوس انتروتوکسوژنیک را قبل از بیان انتروتوکسین و بر اساس توالی اختصاصی ژن نشان داد.

مواد و روش کار: در این مطالعه سویه های استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شده از نمونه های بیماران، ناقلین سالم و محیطی با آزمایش های بیوشیمیایی شناسایی شدند. سپس نسبت به طراحی پرایمرهای مورد نظر اقدام و در واکنش PCR، ژن انتروتوکسین استافیلوکوکی تایپ A (sea) و ژن نوکلئاز استافیلوکوکی (nuc) تکثیر گردید. قطعات تکثیر یافته DNA برای ژن نوکلئاز استافیلوکوکی، ۲۷۹ جفت باز و برای ژن انتروتوکسین استافیلوکوکی تایپ A، ۵۵۲ جفت باز بود که توسط هضم آنزیمی مورد تأیید قرار گرفت. باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به عنوان کنترل منفی در این واکنش مورد استفاده قرار گرفت که فاقد هرگونه محصول در واکنش PCR بود.

نتایج: در این تحقیق ۹۸ سویه مورد بررسی قرار گرفتند که ۸۹ سویه جداسازی شده با استفاده از واکنش Multiplex PCR به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس مورد تأیید قرار گرفته، وجود ژن انتروتوکسین مورد ارزیابی قرار گرفت. شش سویه (۶/۷۴٪) از استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده، واجد ژن انتروتوکسین تایپ A بودند. نه سویه جداسازی شده (۹/۱۸٪) که در آزمایش های بیوشیمیایی به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی شده بودند در بررسی مولکولی مورد تأیید واقع نشدند.

بحث: این روش سریع، حساس، اختصاصی، ارزان و متفاوت نسبت به سنجش های مرسوم بیوشیمیایی و سرولوژیکی بوده، قادر است عامل تولید کننده ی انتروتوکسین استافیلوکوکی تایپ A را شناسایی نماید.

واژگان کلیدی: شناسایی، استافیلوکوکوس اورئوس، انتروتوکسین تایپ A، Multiplex PCR.