

جستجوی توکسین‌های استافیلوکوکی (توکسین شوک توکسیک، انتروتوکسین‌های آ، بی، سی، دی) در مایع گوش میانی بیماران مبتلا به اوتیت مدیا همراه با افوزیون: گزارش کوتاه

چکیده

ثمیله نوربخش^{۱*}

محمد فرهادی^۲

آذر دخت طباطبایی^۳

۱- گروه عفونی کودکان، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان. ۲- گروه گوش و حلق و بینی، مرکز تحقیقات گوش و حلق و بینی و سر و گردن. ۳- گروه میکروبی‌شناسی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان

۱، ۲ و ۳- بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص)، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، خیابان ستارخان، خیابان نیایش، بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص)، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان.

تلفن: ۰۲۱-۶۶۵۲۵۳۲۸

E-mail: samileh_noorbakhs@yaho.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۳/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۹/۲۵

زمینه و هدف: احتمال دارد سوپر آنتی‌ژن‌های استافیلوکوکی در ایجاد مایع گوش میانی نقش داشته باشند. هدف مطالعه ما جستجوی سوپر آنتی‌ژن‌های استافیلوکوکی در مایع گوش میانی بیماران مبتلا به اوتیت همراه با افوزیون بود. **روش بررسی:** این مطالعه مقطعی-تحلیلی در بیمارستان رسول (۸۹-۱۳۸۷) تهران در ۶۴ کودک با انجام کشت و بررسی توکسین‌های استافیلوکوکی در مایع گوش میانی انجام شد.

یافته‌ها: ۳۹٪ بیماران فاقد سوپر آنتی‌ژن بودند. انتروتوکسین-ب: در ۲۲٪ بیماران، نوع آ: ۱۷٪، نوع سی: ۱۵/۶٪، نوع دی: ۱۲/۵٪، توکسین شوک توکسیک (Toxic Shock Syndrome Toxin, TSST): ۷/۸٪ مشاهده شد. میانگین سن موارد TSST- مثبت: یک سال، انتروتوکسین-آ: پنج سال، بی: ۸/۶ سال، نوع سی: ۹/۶ سال، نوع دی: ۹/۶ سال بودند. عدم توافق بین مثبت شدن TSST با انتروتوکسین‌های ای و سی مشاهده شد اما TSST مثبت با توکسین نوع بی و دی توافق ضعیفی داشت سن بیماران با وجود سوپر آنتی‌ژن‌ها ارتباط داشت. بیماران با TSST مثبت یک سال در مقابل ۷/۹ سال موارد منفی بود ($P < 0.001$).

نتیجه‌گیری: توکسین‌های استافیلوکوکی با مکانیسم‌های ایمنولوژیک حتی با کشت منفی، موجب تجمع مایع گوش میانی می‌شود. وجود سوپر آنتی‌ژن‌ها در موارد مقاوم به استفاده از سرکوب کننده‌های ایمنی و یا کورتیکواستروئید کمک می‌کند.

کلمات کلیدی: انتروتوکسین‌های استافیلوکوکی (ای، بی، سی، دی)، توکسین شوک توکسیک، اوتیت میانی همراه با افوزیون، سوپر آنتی‌ژن.

مقدمه

انتروتوکسین آ را یکی از قوی‌ترین انتروتوکسین‌های تولید شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس می‌دانند.^۱ علاوه بر روش‌های الیزا و آگلوتیناسیون،^۲ واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) برای تعیین انتروتوکسین‌های استافیلوکوک به‌طور موفقیت‌آمیزی به‌کار رفته است.^۳ این توکسین‌ها در بیماری‌های مختلف تنفسی مانند التهاب مزمن گوش میانی، سینوس‌ها و پولیپ بینی نقش دارند.^۴ استفاده از آنتاگونیست‌های پپتیدی بر علیه سوپر آنتی‌ژن‌ها^۵ و یا مهار آن توسط آنتی‌بادی‌های مونوکلونال^۶ و مواد مختلف بر علیه سوپر آنتی‌ژن‌های باکتری در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است.^{۷-۱۰}

اوتیت توأم با افوزیون (OME)، التهاب گوش میانی با تجمع مایع پشت پرده بدون هیچ‌گونه علائم عفونت حاد و پرده تمپان سالم است که در گذشته پروسه‌ی التهابی مطلق افوزیون استریل تلقی می‌شد و بعدها نقش عوامل عفونی اثبات گردید.^۱ فقط در ۲۰-۴۰٪ OME کشت مثبت است.^۲ سوپر آنتی‌ژن‌ها شامل اگزوتوکسین‌های ناشی از استافیلوکوک و استرپتوکوک و بدون دخالت سلول‌های نمایش‌گر آنتی‌ژن^۳ باعث فعالیت "سیستم سلولی T می‌شوند.^۴ Horsmon

مخصوص بلند (سر سوزن ضخیم) تمپانوستتزر در قسمت قدامی- تحتانی پرده‌ی تمپان انجام شد. حین عمل با میکرو سمپلر از مایع گوش میانی این کودکان نمونه‌برداری شد. مواد حاصله جهت کشت مستقیم و آنالیز حداکثر تا ۱۵ دقیقه بعد از گرفتن نمونه بدون نیاز به محیط انتقالی فرستاده شد. برای کشت مستقیم مواد روی پلیت‌های حاوی آگار خون گوسفندی و شکلات آگار برده شد و در حضور اکسیژن برای ۲۴ ساعت در حرارت 37°C نگه‌داری شد. تعیین باکتری اتوماتیک انجام گرفت. باقیمانده آن در محفظه مخصوص ریخته و در فریزر 20°C - مرکز تحقیقات برای انجام تست سوپر آنتی‌ژن نگه‌داری شد. بررسی انتروتوکسین‌های استافیلوکوک (سوپر آنتی‌ژن‌ها) با استفاده از روش آنزیم ایمنوناسی و کیت‌های شرکت ELISA ABCam; USA (دارای کنترل مثبت و منفی) بود. در نهایت داده‌های آزمایشگاهی در کامپیوتر ثبت شد. توسط نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۱/۵ آنالیز انجام شد. اطلاعات توصیفی به‌صورت فراوانی نسبی (درصد) و ارایه حدود اطمینان ۹۵٪ برای متغیرهای کیفی مانند جنس و مثبت و منفی بودن نوع سوپر آنتی‌ژن گزارش شد. برای متغیرهای کمی مانند سن از میانگین و انحراف‌معیار، شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از Student's t-test بود. مقایسه بین متغیرها با آزمون تست χ^2 و Fisher's exact test بود. $P < 0/05$ با ارزش تلقی گردید. مقایسه هم‌خوانی بین انواع سوپر آنتی‌ژن‌ها با آزمون محاسبه ضریب توافق (کاپا) انجام گرفت. بررسی رابطه آن با متغیرهای کمی از آزمون رگرسیون لجیستیک استفاده شد.

یافته‌ها

از ۶۴ بیمار ۵۶/۳٪ (۳۶ نفر) پسر، ۴۳/۸٪ (۲۸ نفر) دختر، بین یک سال تا ۱۵ سال با میانگین ۷/۴۲ سال و انحراف‌معیار چهار سال بود. ۲۵ نفر (۳۹٪) فاقد هر نوع سوپر آنتی‌ژن بوده و در ۶۱٪ بقیه یک یا چند نوع سوپر آنتی‌ژن مثبت شد. میانگین سن بیماران با سوپر آنتی‌ژن مثبت هفت سال در مقایسه با موارد منفی هشت سال تفاوت معنی‌داری نداشت. فراوانی سوپر آنتی‌ژن‌ها و ارتباط آن‌ها و با سن در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است. سن بیماران با وجود سوپر آنتی‌ژن‌ها ارتباط داشت. میانگین سن بیماران که TSST مثبت داشتند یک سال بسیار کم‌تر از ۷/۹ سال موارد منفی بود $P < 0/0001$ میانگین

عفونت‌های تنفسی در کودکان ایران شایع است^{۱۱،۱۲} مطالعات متعددی در مورد عوامل اتیولوژیک عفونت‌های تنفسی فوقانی و تحتانی در کشور صورت گرفته است.^{۱۳،۱۴} به تازگی نقش سوپر آنتی‌ژن‌های استافیلوکوکی در مبتلایان به پولیپ بینی نشان داده شده است.^{۱۵} هدف ما بررسی نقش سوپر آنتی‌ژن‌های استافیلوکوکی در بیماران مبتلا به اوتیت توام با افوزیون بود.

روش بررسی

این مطالعه مقطعی- تحلیلی در درمانگاه، بخش کودکان و گوش و حلق و بینی بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تهران در سال‌های ۸۹-۱۳۸۷، با تایید کمیته اخلاق مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تهران و متعهد به اصول عهدنامه هلسینکی انجام شد.

در ۴۰۶ کودک تشخیص اوتیت میانی داده شد که در صورت نیاز تحت درمان آنتی‌بیوتیک‌های مناسب بر اساس سن قرار گرفتند بعد از دو هفته مجدداً بررسی شدند. ۳۰۱ نفر در عرض یک هفته بهبود یافته و نیاز به اسپیراسیون گوش میانی نداشتند. در بررسی مجدد در مابقی موارد، اوتیت میانی با افوزیون تشخیص داده شد که در ۱۵ نفر مایع فوق جذب شده و نیاز به عمل جراحی نداشتند (نمودار ۱) در ۶۴ نفر که مایع گوش میانی هنوز جذب نشده بود، اسپیراسیون صورت گرفت و سوپر آنتی‌ژن‌ها در مایع گوش میانی بررسی گردید. فرم موافقت‌نامه توسط والدین امضا شد. برای اثبات وجود افوزیون، شنوایی‌سنجی (Impedance) و تمپانومتري در این بیماران انجام گرفت. سپس برای انجام اسپیراسیون مایع گوش میانی به متخصص گوش و حلق و بینی ارجاع شدند پرسش‌نامه شامل مشخصات فردی، جنس، سن و غیره تکمیل شد.

نتایج معاینات بالینی و سیر بیماری، نتایج تست‌های آزمایشگاهی: اسمیر، کشت مایع گوش میانی ذکر مثبت یا منفی بودن سوپر آنتی‌ژن‌های استافیلوکوک شامل انتروتوکسین‌های آ و بی و سی، توکسین- شوک توکسیک (Toxic Shock Syndrome Toxin-1, TSST-1) استافیلوکوکی- ۱ در مایع گوش میانی در پرسش‌نامه درج گردید. معیارهای خروج عبارت بودند از ناکافی بودن مایع گوش میانی، عدم رضایت به انجام پونکسیون، به وسیله سوزن‌های

جدول ۱: بررسی فراوانی موارد مثبت و منفی سوپر آنتی‌ژن‌های استافیلوکوک در مایع گوش میانی

نوع سوپر آنتی‌ژن	آنتروتوکسین نوع-دی	توکسین- شوک توکسیک استافیلوکوکی- ۱	آنتروتوکسین نوع-ب	آنتروتوکسین نوع آ	آنتروتوکسین نوع سی
مثبت	۸(۱۲/۵)	۵(۷/۸)	۱۴(۲۲)	۱۱(۱۷)	۱۰(۱۵/۶)
منفی	۵۶(۸۷/۵)	۵۹(۹۲/۲)	۵۰(۷۸)	۳۴(۸۳)	۵۴(۸۴/۴)
مجموع	۶۴	۶۴	۶۴	۶۴	۶۴

جدول ۲: رابطه سن بیماران و نوع سوپر آنتی‌ژن در مایع گوش میانی

نوع سوپر آنتی‌ژن / میانگین سن بیمار (سال)	سوپر آنتی‌ژن A	سوپر آنتی‌ژن B	سوپر آنتی‌ژن C	سوپر آنتی‌ژن D	سوپر آنتی‌ژن TSST1	تمام سوپر آنتی‌ژن‌ها
مثبت	پنج سال	۸/۶ سال	۹/۶ سال	۹/۸ سال	یک سال	هفت سال
منفی	۷/۹ سال	هفت سال	هفت سال	هفت سال	۷/۹ سال	هشت سال
P	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۶	۰/۰۷	۰/۰۰۰	۰/۱

مایع گوش میانی به دست نیامد. حداقل یک یا چند توکسین استافیلوکوک در مایع گوش میانی حدود ۷۰٪ بیماران که کشت منفی داشتند به دست آمد. از نظر وجود سوپر آنتی‌ژن‌های استافیلوکوکی در مایع گوش میانی، مطالعه فعلی با مطالعات Bachert^۵، Wang^۶ هم‌خوانی دارد. Wang نشان داد آنتروتوکسین‌های استافیلوکوکی و TSST-1 در بافت پولیپ افزایش دارند، درصد لنفوسیت‌های T Vβ lymphocyte در بافت پولیپ در مواردی که آزمایش الیزا برای سوپر آنتی‌ژن‌ها در فراخوانی لنفوسیت‌های T در بافت پولیپ نقش موثر داشته باشند و به طور غیر مستقیم فرضیه دخالت سوپر آنتی‌ژن‌ها در پاتوژنز پولیپ را اثبات می‌نماید. در تحقیق فعلی وجود سوپر آنتی‌ژن‌ها در مایع گوش میانی ۶۱٪ بیماران اثبات شد. توکسین شوک توکسیک با ۷/۸(۵/۶۴)٪ کم‌ترین فراوانی را داشت. آنتروتوکسین نوع-بی بالاترین فراوانی را داشت و در مایع گوش میانی ۲۲(۶۴/۱۴)٪ بیماران یافت شد. بیش‌تر بیماران انواعی از آنتروتوکسین‌ها را داشتند که توافق و هم‌خوانی با وجود TSST در مایع گوش میانی نداشت (کاپا منفی) ارتباط بین وجود انواع آنتروتوکسین‌ها با توکسین بسیار ضعیف و در مواردی حتی کاپا منفی بود. در مطالعه فعلی، بیماران که دارای آنتروتوکسین-آ بودند در رنج سنی حدود پنج سال بودند. Floret^۳ علائم بالینی بیماری‌های ناشی از توکسین‌های ایجاد شده توسط عفونت‌های استرپتوکوک و استافیلوکوک را گزارش کرد.^۳

سن بیماران که آنتروتوکسین-آ مثبت داشتند به طور قابل توجهی کم‌تر از بیماران فاقد آن بود. (پنج سال در مقابل ۷/۹ سال). $P=0/03$ میانگین سن بیماران که آنتروتوکسین-بی مثبت داشتند بالاتر از موارد منفی بود. (۸/۶ سال در مقابل ۷/۸ سال) اما تفاوت معنی‌دار نبود. $P=0/2$ میانگین سن بیماران که آنتروتوکسین-سی و دی مثبت داشتند بالاتر از موارد منفی بود. (۹/۶ سال در مقابل هفت سال) اما تفاوت معنی‌دار نبود. $P=0/06$ ، $P=0/07$ بین وجود آنتروتوکسین‌های-آ و ب و سی و توکسین شوک توکسیک هم‌خوانی و توافق بسیار ضعیف و در مواردی حتی کاپا منفی بود. اما بین آنتروتوکسین ب و دی، و توکسین شوک توکسیک، نزدیکی بیش‌تری وجود داشت اگرچه خیلی قوی و با ارزش نبود. تعداد کم بیماران می‌تواند توجیه‌کننده باشد. کاپا = ۰/۱ و ۰/۲۵ بود.

بحث

نکته با ارزش در مطالعه فعلی مشخص نمودن نقش سوپر آنتی‌ژن‌های استافیلوکوک در مایع گوش میانی بیماران است. اگرچه کشت برای استافیلوکوک منفی بود اما توکسین‌های آزاد شده از استافیلوکوک در تعداد قابل توجهی از بیماران به دست آمد. فقط در ۲۵ نفر (۳۹٪) از کل بیماران هیچ نوع سوپر آنتی‌ژن استافیلوکوکی در

مستقیم در مایع گوش میانی بررسی می‌کند. سوپر آنتی‌ژن‌ها به عنوان یکی از عوامل القا کننده واکنش التهابی آبشاری در مایع گوش میانی است که منجر به فراخوانی لکوسیت‌ها و حوادث ایمونولوژیک بعدی خواهد شد. آیا این سوپر آنتی‌ژن‌ها در نواحی خارج از گوش میانی (به عنوان مثال پوست بیمار یا سیستم تنفسی) تولید و به ارگان هدف منتقل می‌گردند و یا در محل به طور مستقیم تولید می‌شوند؟ استفاده از آنتاگونیست‌های سوپر آنتی‌ژنی در اوتیت‌های مزمن مانند سایر بیماری‌های سیستمیک ناشی از توکسین استافیلوکوک نیاز به بررسی وسیع‌تر دارد.^{۱۰-۸} کمبود نمونه کافی از مایع گوش میانی از محدودیت‌های طرح بود.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات گوش و حلق و بینی و سر و گردن در سال ۱۳۸۷ با کد: ۴۱۶۲ تحت عنوان "بررسی نقش عوامل عفونی و سوپر آنتی‌ژن‌ها در مایع گوش میانی کودکان مبتلا به اوتیت میانی توام با افزون" می‌باشد که با همکاری مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان (پردیس همت) و با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است.

Horsmon نوع - آنتروتوکسین را از قوی‌ترین آنتروتوکسین‌های استافیلوکوک می‌داند.^۲ Kum ایجاد سندرم شوک توکسیک با سوپر آنتی‌ژن‌های به غیر از TSST-1 مانند آنتروتوکسین آ و بی و سی را محتمل می‌داند.^۹ سن بیماران دارای TSST-1 ما بسیار کم‌تر از موارد دیگر و حدود یک سال بود. هر چه سن بیمار پایین‌تر بود (حدود یک سالگی) استافیلوکوک قادر به تولید توکسین شوک توکسیک کشنده بود و در سنین بالاتر (پنج سال) نوع آ بیش‌تر بود. Floret مخملمک استافیلوکوکی را ناشی از شوک توکسیک یا آنتروتوکسین نوع سی می‌داند که فرم ناقص سندرم توکسیک شوک را ایجاد می‌کند.^۳ خوشبختانه در این مطالعه نوع سی کم بود. استافیلوکوک از بیماران رینوسینوزیت و پولیپوز جدا شده است.^{۷-۵} نقش سوپر آنتی‌ژن‌های استافیلوکوکی توسط Bachert مطرح شد^۵ Kaempfer استفاده از آنتاگونیست‌های سوپر آنتی‌ژن را گزارش داد.^۸ Van Zele، نشان داد که سنتز موضعی آنتی‌بادی IgE ضد آنتروتوکسینی (استافیلوکوکی) در پولیپ افزایش می‌یابد.^۶ در مطالعه اخیر ایرانی هم سوپر آنتی‌ژن‌ها در بافت پولیپ بینی مبتلایان به رینوسینوزیت مزمن مشاهده شد.^{۱۵} مطالعه فعلی از محدود مطالعاتی است که سوپر آنتی‌ژن‌ها را به طور

References

- Poetker DM, Lindstrom DR, Edmiston CE, Krepel CJ, Link TR, Kerschner JE. Microbiology of middle ear effusions from 292 patients undergoing tympanostomy tube placement for middle ear disease. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2005;69(6):799-804.
- Kilty SJ, Desrosiers MY. The role of bacterial biofilms and the pathophysiology of chronic rhinosinusitis. *Curr Allergy Asthma Rep* 2008;8(3):227-33.
- Floret D. Clinical aspects of streptococcal and staphylococcal toxic diseases. *Arch Pediatr* 2001;8 Suppl 4:762s-768s.
- Horsmon JR, Cao CJ, Khan AS, Gostomski MV, Valdes JJ, O'Connell KP. Real-time fluorogenic PCR assays for the detection of entA, the gene encoding staphylococcal enterotoxin A. *Biotechnol Lett* 2006;28(11):823-9.
- Bachert C, Zhang N, Patou J, van Zele T, Gevaert P. Role of staphylococcal superantigens in upper airway disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2008;8(1):34-8.
- Van Zele T, Vanechoutte M, Holtappels G, Gevaert P, van Cauwenberge P, Bachert C. Detection of enterotoxin DNA in *Staphylococcus aureus* strains obtained from the middle meatus in controls and nasal polyp patients. *Am J Rhinol* 2008;22(3):223-7.
- Wang M, Shi P, Chen B, Zhang H, Jian J, Chen X, et al. The role of superantigens in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2008;70(2):97-103.
- Kaempfer R. Peptide antagonists of superantigen toxins. *Mol Divers* 2004;8(2):113-20.
- Kum WW, Chow AW. Inhibition of staphylococcal enterotoxin A-induced superantigenic and lethal activities by a monoclonal antibody to toxic shock syndrome toxin-1. *J Infect Dis* 2001; 183(12):1739-48.
- Clark GC, Basak AK, Titball RW. The rational design of bacterial toxin inhibitors. *Curr Computer Aided Drug Design* 2007;3(1):1-12.
- Noorbakhsh S, Rimaz Sh. The frequency and clinical manifestations of RSV infection in children with ARTI, Rasoul-e-Akram hospital. *Iran Univ Med Sci J* 2004;4(Suppl 2):1051-6.
- Barati M, Noorbakhsh S, Tabatabaei A, Taj F, Ebrahimi Talebi Taher M. Adenovirus, influenza virus A, B and respiratory syncytial virus infection in children. *Int J Infectious Dis* 2008;12:e66.
- Noorbakhsh S, Farhadi M, Ebrahimi Taj F, Hojaji Z, Tabatabaei A. Serum pneumolysin antibody and urinary pneumococcal antigens (Binax) level in children with upper respiratory tract infection versus normal controls. *Tehran Univ Med J (TUMJ)* 2010;68(8):451-8.
- Noorbakhsh S, Farhadi M, Tabatabaei A. Rapid urinary antigen test (Binax NOW) for diagnosis of *S. pneumoniae* in children with upper and lower respiratory tract infections. *Eastern J Med* 2011;16:26-31.
- Farhadi M, Tabatabaei A, Shekarabi M, Noorbakhsh S, Javadi Nia Sh, Ghavami Y. Superantigens in polyp tissue of patients with chronic rhino-sinusitis, a comparative study: a brief report. *Tehran Univ Med J (TUMJ)* 2012;70(7):452-6.

Staphylococcal superantigens; toxic shock syndrome toxin-1 and enterotoxins in pediatric otitis media effusion: *a brief report*

Samileh Noorbakhsh M.D.^{1*}
Mohamad Farhadi M.D.²
Azardokht Tabatabaei M.Sc.¹

1- Department of Pediatric Infectious Disease, Research Center of Pediatric Infectious Diseases, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Department of ENT, Research Center for Diseases of Ear, Nose, Throat, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- Department of Microbiology, Research Center of Pediatric Infectious Diseases, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

* Corresponding author: Research Center of Pediatric Infectious Diseases, 4th floor Hazrat Rasoul Hospital, Niayesh St., Satarkhan Ave., Tehran, Iran.
Tel: +98- 21- 66525328
E-mail: samileh_noorbakhsh@yahoo.com

Abstract

Received: May 28, 2012 Accepted: December 15, 2012

Background: Staphylococcal superantigens (SAG's) may have some role in otitis media with effusion (OME). The aim of this study was the search of staphylococcal SAG's in middle ear effusion of children with OME.

Methods: This cross sectional-analytic study was done in ENT & pediatric wards upon 64 children with otitis media with effusion (OME) between 1-15 years, (mean age=7.42+4 years) of Rasoul Akram University Hospital, Tehran, Iran in 2009-2011. Fifty six percent (36) of cases were male, 43.8% (28) were female. Staphylococcal SAG's; Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (TSST-1), Staphylococcal enterotoxin A, B, C, D (Enzyme immune assay, AB Cam, USA) were detected in middle ear effusion samples after conventional culture.

Results: None type of SAG's found in 39% of OME cases, enterotoxin B found in: 22%; enterotoxin A: 17%, enterotoxin C: 15.6%, enterotoxin D: 12.5%, Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (TSST-1): 7.8% Mean age of cases with positive TSST-1, enterotoxin A, B, C, and D was: 1, 5, 8.6, 9.6 and 9.6 years respectively. Positive TSST had no agreement with positive enterotoxin A and C but had weak agreement with type B and D. Mean age of cases with positive TSST was one years which had significant difference with (7.9 years) in cases with negative TSST test ($P<0.0001$).

Conclusion: At least one or more type of staphylococcal toxins had found in middle ear effusion of 70% of OME cases with negative culture for *Staphylococcus aureus*. Even in culture negative cases, staphylococcal toxins might have some immunologic role in middle ear effusion forming. Finding the SAG's (at least one type) are important for treatment of immunosuppressive or corticosteroid in cases with resistant OME.

Keywords: Otitis media with effusion, staphylococcal enterotoxin, super antigens (SAG's), toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1).