بسم الله
الرحمن الرحیم

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد در رشته میکروب شناسی پزشکی

عنوان

مقایسه میزان فراوانی ژن های دخیل در تشکیل بیوفیلم بین ایزوله های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی سیلین

نگارش
عبدالمجید قاسمیان

استاد راهنما
دکتر شهین نجار پیرایه

استاد مشاور
دکتر بی تا بخشی

تابستان۱۳۹۲

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از
پایان‌نامه کارشناسی ارشد

آقای عبدالمجید قاسمیان رشته **میکروب شناسی پزشکی** پایان‌نامه **کارشناسی ارشد** خود را با عنوان « **مقایسه میزان فراوانی ژنهای دخیل در تشکیل بیو فیلم بین ایزوله های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی سیلین** » در تاریخ **۱۳۹۲/۴/۱۲** ارائه کردند.

بدینوسیله اعضای هیات داوران نسخه نهایی این پایان‌نامه را از نظر فرم و محتوا تایید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می‌کنند.

نام و نام خانوادگی و امضاء اعضای هیأت داوران:

دکتر شهین نجار پیرایه	(استاد راهنما)	
دکتربی تا بخشی	(استاد مشاور)	
دکتر مهدی فیض آبادی	(استاد ناظر)	
دکتر اشرف محبتی مبارز	(استاد ناظر ونماینده تحصیلات تکمیلی)	

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی

دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **عبدالمجید قاسمیان** دانشجوی رشته **میکروب شناسی پزشکی** ورودی سال تحصیلی **۹۱-۹۰** مقطع **کارشناسی ارشد** دانشکده **علوم پزشکی** متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم ».

امضا

تاریخ ۹۲/۶/۱۸

آئین‌نامه پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمی پژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱ : در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به‌طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ : در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

" کتاب حاضر، حاصل پایان‌نامه **کارشناسی ارشد** نگارنده در رشته **میکروب شناسی پزشکی** است که در سال **۱۳۹۲** در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **سرکار خانم دکتر نجار پیرایه** ، مشاوره **سرکار خانم دکتر بخشی** از آن دفاع شده است.

ماده ۳ : به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ : در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به‌عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵ : دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت‌های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶ : اینجانب **عبدالمجید قاسمیان** دانشجوی رشته **میکروب شناسی پزشکی** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

عبدالمجید قاسمیان

نام و نام خانوادگی

تاریخ و امضا ۹۲/۶/۱۸

تقدیم به

پدر و مادر عزیز و مهربان و سایر اعضای خانواده، اساتید گرامی، و همه ی دوستان و همکاران عزیزی که در دوران تحصیل و انجام این پروژه ما را یاری نمودند ...

تشکر و قدر دانی

خداوند بزرگ و مهربان شاکرم که به من توانایی داد تا بتوانم این دوره تحصیلی را به اتمام برسانم.

از استاد ارجمند سرکار خانم دکتر شهین نجار پیرایه که با صبر بردباری، در مراحل مختلف پایان نامه مرا راهنمایی فرمودند کمال تشکر و قدر دانی را دارم و برای ایشان آرزوی سلامتی و بهروزی می نمایم.

از استاد ارجمند سرکار خانم دکتر بی تا بخشی که امر مشاورت این پایان نامه را بر عهده داشته و مرا در مراحل پایان نامه راهنمایی فرمودند نهایت قدر دانی و تشکر می نمایم.

از استاد گرامی و ارجمند سرکار خانم دکتر محبتی مبارز که افتخار شاگردی را نزد ایشان داشتم و از سرمایه های علمی و اخلاقیشان بهره مند شده ام، نهایت تشکر و سپاسگزاری را دارم.

از کارشناس گروه سرکار خانم رفیعی که دلسوزانه ما را در انجام کار پایان نامه راهنمایی نمودند کمال تشکر را دارم.

از دوست و استاد گرامی و ارجمندم جناب آقای محسن میرزایی که در انجام پایان نامه همیشه در کنارم بودند نهایت تشکر و موفقیت را دارم.

از سایر همکاران و دوستان گرامی که هر کدام کمک فراوانی را در مراحل مختلف این پایان نامه به ما رساندند صمیمانه تشکر و آرزوی موفقیت روز افزون دارم.

چکیده:

استافیلوکوکوس اورئوس عامل طیف وسیعی از عفونت های چرکی نظیر لژیون های سطح پوست، ادراری، سپتیسمی، پنومونی، تورم مفاصل، مننژیت، اندوکاردیت و مسمومیت غذایی است. تشکیل بیوفیلم از عوامل بیماریزایی مهم بوده و باکتری را در برابر شرایط محیطی نامساعد و سیستم ایمنی میزبان محافظت می نماید. مقاومت آنتی بیوتیکی، مخصوصا" مقاومت به متی سیلین سبب مشکلات درمانی فوق العاده شده است. در این تحقیق فراوانی ژن های دخیل در تشکیل بیوفیلم بین ایزوله های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی سیلین مورد بررسی قرار گرفته است. ۱۲۰ ایزوله بالینی استافیلوکوکوس اورئوس از نمونه های مختلف کلینیکی جدا شد. آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن انجام گردید. ژن های دخیل در تشکیل بیوفیلم (۱۳ ژن) به همراه گروه های *agr* با پرایمر های اختصاصی به صورت PCR ساده، دابلکس و یا مولتی پلکس تعیین شدند و در سویه های مقاوم به متی سیلین، ژن *mecA* و تیپ های *SCCmec* تعیین شد. مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های مقاوم به متی سیلین به طور قابل توجهی بالاتر بود. همه ی سویه های مورد مطالعه به ونکومایسین حساس بودند. مقاومت به اگزاسیلین ۳۰٪ و در سویه های حساس به متی سیلین مقاومت به تتراسایکلین۶/۶۶٪، اریترومایسین۱۱/۱۱٪، کوتری موکسازول۴/۴۴٪، آموکسی سیلین۹۰٪، جنتامایسین۴/۴۴٪ و کلیندامایسین ۶/۶۶٪ تعیین شد. همچنین در سویه های مقاوم به متی سیلین مقاومت به تتراسایکلین۳۱/۱۱٪، اریترومایسین۷۷٪، تری متوپریم موکسازول۲۳/۳۳٪، آموکسی سیلین۸۷٪، جنتامایسین۵۶/۶۶٪ و کلیندامایسین ۷۶/۷٪ تعیین شد. ژن *mecA* نیز در ۳۰٪ ایزوله ها یافت شد. بیشترین تیپ ژنی *agr* متعلق به گروه ۱ (۵۶٪) بوده و تیپ ژنی *SCCmec* تیپ ۳، ۷۸٪ تعیین شد. فراوانی ژن های بیوفیلم در سویه های حساس به متی سیلین به این صورت است: ژن *eno* ۸۷٪، *cna* ۶۳٪، *ebps* ۹٪، *bbp* ۱/۰۷٪، *clfA,B* ۹۹٪، *fnbA* ۶۶٪، *fnbB* ۳۶/۵٪، *fib* ۵۷٪، *icaA* ۷۱٪، *icaB* ۴۱٪، *icaC* ۷۶٪، *icaD* ۸۹٪. در سویه های مقاوم به متی سیلین فراوانی ژن *eno* ۹۶٪، *ebps* ۲۲٪، *cna* ۵۵٪، *bbp* ۰٪، *clfA,B* ۱۰۰٪، *fnbA* ۸۱/۴٪، *fnbB* ۶۳٪، *fib* ۵۶٪، *icaA* ۷۴٪، *icaB* ۷۴٪، *icaC* ۶۳٪ و *icaD* ۷۴٪ تعیین شدند.

این تحقیق نشان داد فراوانی ژن های دخیل در تشکیل بیوفیلم در سویه های مقاوم و حساس به متی سیلین به طور معنی داری اختلاف ندارد.

کلمات کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، مقاومت به متی سیلین، پاتوژنز، بیوفیلم

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته ۱

۱-۱. استافیلوکوک ها ۲

۱-۱-۱. طبقه بندی ۲

۱-۱-۲. تعریف ۲

۱-۱-۳. محل استقرار طبیعی ۳

۱-۱-۴. مورفولوژی سلولی ۳

۱-۱-۵. مشخصات رشد و شکل کلونی ۴

۱-۱-۶. پوشش سلولی ۴

۱-۱-۶-۱. غشای سلولی ۵

۱-۱-۶-۲. دیواره سلولی ۶

۱-۱-۶-۳. پروتئین A ۸

۱-۱-۶-۴. مولکول های چسبنده سطح سلولی و تشکیل بیوفیلم ۹

۱-۱-۶-۴-۱. تاریخچه و تعریف بیوفیلم ۹

۱-۱-۶-۴-۲. مهار کننده های تشکیل بیوفیلم ۱۳

۱-۱-۶-۵. کپسول ۱۵

۱-۱-۷. مواد خارج سلولی ۱۷

۱-۱-۷-۱. آنزیم های ترشحی باکتری ۱۷

۱-۱-۷-۲. سموم ترشح شونده ۲۱

۱-۱-۸. متابولیسم کربوهیدرات ها ۲۳

۱-۱-۹. تنفس ۲۴
۱-۱-۱۰. ساختمان آنتی ژنی..... ۲۴
۱-۱-۱۰-۱. پروتئین A ۲۵
۱-۱-۱۰-۲. پلی ساکارید A ۲۵
۱-۱-۱۰-۳. آنتی ژن های کپسولی ۲۶
۱-۱-۱۱. ژنتیک و مکانیسم های ژنتیکی... ..... ۲۶
۱-۱-۱۱-۱. پلاسمید ها ۲۷
۱-۱-۱۱-۲. جزایر پاتوژنز ۲۷
۱-۱-۱۱-۳. ترانسپوزون ها..... ۲۸
۱-۱-۱۲. سیستم های تنظیمی عمومی استافیلوکوکوس اورئوس..... ۲۸
۱-۱-۱۲-۱. سیستم *agr* ۲۹
۱-۱-۱۲-۲. پروتئین های متصل شونده به DNA و دیگر تنظیم کننده ها ۳۰
۱-۱-۱۳. بیماری زایی ۳۰
۱-۱-۱۴. تشخیص آزمایشگاهی..... ۳۳
۱-۱-۱۴-۱. آزمایش میکروسکوپی با رنگ آمیزی گرم ۳۳
۱-۱-۱۴-۲. آزمایش کاتالاز..... ۳۳
۱-۱-۱۴-۳. کواگولاز ۳۳
۱-۱-۱۴-۴. تخمیر مانیتول ۳۳
۱-۱-۱۴-۵. تولید آنزیم دزوکسی ریبونوکلئاز (DNase)..... ۳۴
۱-۱-۱۴-۶. کشت..... ۳۴
۱-۱-۱۴-۷. شناسایی استافیلوکوک از میکروکوک..... ۳۴
۱-۱-۱۴-۸. حساسیت به نووبیوسین ۳۴
۱-۱-۱۴-۹. روش مولکولی تشخیص استافیلوکوکوس اورئوس ۳۴

۱-۱-۱۵. درمان.....۳۵
۱-۱-۱۵-۱. داروهای دسته بتالاکتام ۳۵
۱-۱-۱۵-۲. سایر آنتی بیوتیک ها ۳۵
۱-۱-۱۶. مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس به آنتی بیوتیک ها.....۳۶
۱-۱-۱۶-۱. مقاومت به بتالاکتام ها ۳۶
۱-۱-۱۶-۲. مقاومت به متی سیلین ۳۷
۱-۱-۱۶-۳. مقاومت به ونکومایسین ۳۸
۱-۱-۱۶-۴. سایر مکانیسم های مقاومت به آنتی بیوتیک ها ۳۸
۱-۱-۱۷. مروری بر مطالعات انجام شده ۳۹
۱-۱-۱۷-۱. مطالعات انجام شده در داخل کشور.....۳۹
۱-۱-۱۷-۲. مطالعات انجام شده در خارج از کشور ۴۱
فصل دوم : مواد و روش ها.....۴۹
۲-۱. جمع آوری نمونه های بالینی.....۵۰
۲-۲. ذخیره سازی نمونه ها در محیط تریپتی کیس سوی براث.....۵۰
۲-۳. تایید هویت ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس ۵۱
۲-۳-۱. مواد مورد نیاز برای تایید هویت میکروارگانیسم ۵۱
۲-۳-۲. رنگ آمیزی گرم و مشاهده مستقیم.....۵۱
۲-۳-۳. آزمایش کاتالاز ۵۱
۲-۳-۴. آزمایش کواگولاز به روش لوله ای ۵۱
۲-۳-۵. تخمیر مانیتول.....۵۲
۲-۳-۶. تولید آنزیم دزوکسی ریبونوکلئاز (DNase) ۵۲
۲-۴. مواد و وسایل لازم برای انجام آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی.....۵۲

۲-۴-۱. محیط کشت ۵۳
۲-۴-۲. روش تهیه محلول استاندارد ۰/۵ مک فارلند ۵۳
۲-۴-۳. آماده سازی سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک فارلند..... ۵۳
۲-۴-۴. کنترل کیفی دیسک ها..... ۵۳
۲-۴-۵. تهیه سالین استریل ۵۴
۲-۴-۶. آزمایش دیسک دیفیوژ..... ۵۴
۲-۴-۷. بررسی مقاومت القایی به کلیندامایسین ۵۴
۲-۶. استخراج DNA ۵۴
۲-۷. آزمایش PCR ۵۵
۲-۷-۱. مواد و وسایل لازم..... ۵۵
۲-۷-۲. تعیین ژن *mecA* ۵۵
۲- ۷-۳. تعیین تیپ های ژنی *SCCmec* ۵۶
۲-۷-۴. تعیین تیپهای *agr* با روش دابلکس PCR ۵۷
۲-۷-۵. تعیین ژن های اتصالی و دخیل در تشکیل بیوفیلم..... ۵۸
۲-۷-۵-۱. تعیین ژن های *eno*، *ebps*، *cna* و *bbp* با روش مولتی پلکس PCR ۵۹
۲-۷-۵-۲. تعیین *clfA,B*، *fnbA,B* و *fib* با روش مولتی پلکس PCR ۵۹
۲-۷-۵-۳. تعیین ژن های *icaA.B,C,D* با روش مولتی پلکس..... ۶۰
۲-۸. تهیه بافر های PCR ۶۰
۲-۸-۱. بافر TAE ۶۰
۲-۸-۲. بافر TBE ۶۱
۲-۹. آنالیز آماری ۶۱
فصل سوم: نتایج و یافته ها ۶۲
۳-۱. جمع آوری نمونه های بالینی ۶۳

۳-۲. نتایج حساسیت آنتی بیوتیکی در ایزوله های جمع آوری شده.....۶۴
۳-۲-۱. مقاومت القایی به کلیندامایسین.....۶۵
۳-۳. نتایج PCR برای ایزوله ها.....۶۹
۳-۳-۱. تعیین ژن *mecA* ۷۰
۳-۳-۲. فراوانی تیپ های ژنی *SCCmec* ۷۱
۳-۳-۳. فراوانی گروه های ژنی *agr* ۷۲
۳-۳-۴. ارتباط گروه های ژنی agr با مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله ها ۷۳
۳-۳-۵. فراوانی ژن های دخیل در تشکیل بیوفیلم در ایزوله های بالینی ۷۴
۳-۳-۶. فراوانی ژن های دخیل در تشکیل بیوفیلم در سویه های حساس به متی سیلی.....۷۷
۳-۳-۷. فراوانی ژن های فوق در سویه های مقاوم به متی سیلین.....۷۹
۳-۳-۸. فراوانی ژن های دخیل در تشکیل بیوفیلم در ایزوله های جدا شده از نمونه خون.....۷۹
۳-۴. ارتباط گروه های ژنی *agr* با ژن های دخیل در تشکیل بیوفیلم ۸۰
۳-۴-۱. ارتباط گروه ژنی *agr* تیپ۱ با ژن های دخیل در تشکیل بیوفیلم.....۸۰
۳-۴-۲. ارتباط گروه ژنی *agr* تیپ۲ با ژن های دخیل در تشکیل بیوفیلم.....۸۰
۳-۴-۳. ارتباط گروه ژنی *agr* تیپ۳ با ژن های دخیل در تشکیل بیوفیلم.....۸۰
۳-۴-۴. ارتباط گروه ژنی *agr* تیپ۴ با ژن های دخیل در تشکیل بیوفیلم.....۸۰
فصل چهارم: نتیجه گیری، بحث و پیشنهاد ها.....۸۲
۴-۱. آزمایش آنتی بیوگرام ۸۳
۴-۲. مقاومت به متی سیلین ۸۵
۴-۳. مقاومت القایی به کلیندامایسین ۸۶
۴-۴. فراوانی تیپ های ژنی *SCCmec* ۸۶
۴-۵. فراوانی گروه های ژنی *agr* ۸۶
۴-۶. فراوانی ژن های اتصالی و دخیل در تشکیل بیوفیلم ۸۸

۴-۶-۱. فراوانی ژن های *fnbA,B*،*clfA,B* و *fib* در ایزوله های بالینی ۸۸

۴-۶-۲. فراوانی ژن های *fnbA,B* ،*clfA,B* و *fib* در نمونه های خون ۹۱

۴-۷. فراوانی ژن های *eno*، *ebps*، *bbp* و *cna* در ایزوله ها ۹۱

۴-۸. فراوانی ژن های *icaA,B,C,D* در ایزوله های بالینی ۹۴

۴-۹. ارتباط نوع نمونه های بالینی با فراوانی ژن های دخیل در تشکیل بیوفیلم ۹۵

۴-۱۰. پیشنهاد ها..... ۹۶

فهرست منابع ۹۷

چکیده انگلیسی..... ۱۱۶

فهرست جداول

جدول ۲-۱. پرایمر های اختصاصی ژن *mecA* ۵۵

جدول ۲-۲. پرایمر های قطعات ژنی *SCCmec* ۵۶

جدول ۲-۳. پرایمر های گروه های ژنی *agr* ۵۷

جدول ۲-۴. پرایمر های اختصاصی ژن های اتصالی و دخیل در تشکیل بیوفیلم..... ..... ۵۸

جدول ۳-۱. درصد مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های حساس و مقاوم به متی سیلین..... ۶۸

جدول ۳-۲. درصد فراوانی ژن های دخیل در تشکیل بیوفیلم بین سویه های مقاوم و حساس به متی سیلین ۷۶

جدول ۳-۳. فراوانی ژن های دخیل در تشکیل بیوفیلم در نمونه های بالینی مختلف ۷۹

فهرست نمودار ها

نمودار ۳-۱. درصد توزیع نمونه های بالینی.....۶۳

نمودار ۳-۲. درصد مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله های بالینی در دیسک دیفیوژن ۶۶

نمودار ۳-۳. درصد مقاومت ایزوله های مقاوم به متی سیلین به آنتی بیوتیک ها ۶۷

نمودار ۳-۴. درصد مقاومت سویه های حساس به متی سیلین به آنتی بیوتیک ها ۶۷

نمودار ۳-۵. درصد مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله های جدا شده از لوله تراشه ۶۹

نمودار ۳-۶. درصد مقاومت ایزوله های جدا شده از خون به آنتی بیوتیک ها ۶۹

نمودار ۳-۷. درصد مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله های جدا شده از زخم ۷۰

نمودار ۳-۸. تیپ های ژنی *SCCmec* ۷۲

نمودار ۳-۹. فراوانی گروههای ژنی *agr* در ایزوله های بالینی.....۷۴

نمودار ۳-۱۰. درصد فراوانی ژنهای اتصالی و دخیل در تشکیل بیوفیلم در ایزوله ها.....۷۹

نمودار ۳-۱۱. درصد فراوانی ژن های دخیل در تشکیل بیوفیلم در MSSA و MRSA ۸۰

فهرست شکل ها

شکل ۳-۱. دیسک دیفیوژن ۶۵

شکل ۳-۲. مقاومت القایی به کلیندامایسین ۶۶

شکل ۳-۳. ژن *mecA* ۷۱

شکل ۳-۴. ژن های *SCCmec* ۷۲

شکل ۳-۵. تیپ های ژنی *agr* ۱ و ۴. ..... ۷۳

شکل ۳- ۶. تیپ های ژنی *agr* ۲ و ۳. ..... ۷۷

شکل ۳-۷. ژن های *eno*، *cna*، *bbp* ۷۸

شکل ۳-۸. ژن های *clfA,B*، *fnbA,B* و *fib* ۷۸

شکل ۳-۹. ژن *icaA* ۷۹

شکل ۳-۱۰. ژن های *icaB*، *icaC* و *icaD* ۸۰

فصل اول

مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱. استافیلوکوک ها

۱-۱-۱. طبقه بندی

جنس استافیلوکوکوس[1] در خانواده استافیلوکوکاسه قرار داشته و در دسته وسیع باسیلوس– استرپتوکوک با GC درصد پایین (۳۲/۸٪) قرار دارد. بر اساس سکانس نوکلئوتیدی ۱۶S rRNA در ارتباط با جنس های سالینی کوکها، انتروکوکها، پلانوکوکها، باسیلوسها و لاکتوباسیل ها می باشد. استافیلوکوک‌ها دارای حداقل ۴۰ گونه و حدود ۲۵ زیرگونه می‌باشند. بسیاری از گونه‌های استافیلوکوک، بی آزار هستند و در سطح پوست و مخاط بدن انسان و سایر جانوران زندگی می‌کنند. درصد G+C در استافیلوکوکوس اورئوس حدود ۳۰ تا ۳۵ و در میکروکوکها ۶۵ تا ۷۵ است [۱].

۱-۱-۲. تعریف

جنس استافیلوکوک هوازی – بیهوازی اختیاری بوده و غیر متحرک است . محیط های انتخابی رشد آن شامل مانیتول سالت آگار، لیپاز سالت مانیتول آگار، کلومبیا- کلیستین نالیدیکسیک اسید آگار، برد پارکر آگار غنی شده با زرده تخم مرغ و تلوریت می باشند . این محیط ها از رشد گرم منفی ها جلوگیری کرده و رشد

1 - *Staphylococcus*

استافیلوکوک ها و برخی گرم مثبت های خاص را افزایش می دهد . در کشت اندازه سلول های آن ۵/ تا ۱/۵ میکرومتر است و سلول ها در هنگام تقسیم در بیش از یک صفحه تقسیم می شوند که دسته های غیر منظمی تشکیل می دهند. برخی واریانت های استافیلوکوک، کلونی کوچک تشکیل می دهند که در ارتباط با مقاومت آنتی بیوتیکی است، رشد اندکی داشته و فاقد پیگمان اند، به ویتامین K و همین نیازی نداشته و ممکن است با کشت مجدد به سویه وحشی برگردند . این واریانتها فاقد قدرت بیان فاکتورهای ویرولانس اصلی هستند و نسبت به برداشت جنتامایسین محدودیت دارند و در محیط حاوی این آنتی بیوتیک رشد می کنند، ایجاد این موتاسیون پایدار می باشد. اغلب گونه های استافیلوکوک در دمای ۴۰-۱۸ درجه سانتی گراد و محیط های حاوی ۱۰ درصد کلرید سدیم رشد می کنند. این باکتری ها نسبت به فورازولیدون حساس و به باسیتراسین مقاوم می باشند. آنزیم لیزواستافین با تجزیه پیوند عرضی گلایسین- گلایسین دیواره سلولی موجب لیز برخی استافیلوکوک ها می شود [۲].

استافیلوکوکوس اورئوس که بر روی اغلب محیط های کشت رشد می کند. این گونه کاتالاز مثبت، اکسیداز منفی، احیائ نیترات و DNase مثبت است. همچنین گلوکز و مانیتول را در شرایط هوازی و بیهوازی مورد استفاده قرار می دهد.

۱-۱-۳. محل استقرار طبیعی

استافیلوکوکوس اورئوس روی سطح پوست (به ویژه سطوح چین دار و غدد چربی) و غشاهای مخاطی افراد سالم و نیز برخی حیوانات به صورت فلور زندگی می کند. اما یکی از مهم ترین عوامل عفونت های شدید در افراد دچار نقص ایمنی و سالخورده است. افراد ناقل با توجه به اینکه در بینی خود حامل این گونه باکتری هستند، به عنوان عامل خطر محسوب می شوند. انتقال پایدار آن بر اساس گزارش های مختلف، متفاوت است. حدود ۲۰ درصد افراد ناقل پایدار، ۳۰ درصد ناقل متوسط و ۵۰ درصد نیز ناقل نمی باشند و در صورت آلودگی به سرعت باکتری از بین می رود. افراد ناقل پایدار تنها حامل یک سویه هستند، در حالی که ناقلین متوسط چند