

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه تبریز  
دانشکده علوم طبیعی  
گروه علوم جانوری

### پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست شناسی گرایش میکروبیولوژی

### موضوع:

جداسازی باکتریوفاژ علیه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین و بررسی  
اثربخشی آن در مدل موشی

اساتید راهنما :

دکتر غلامرضا زرینی

دکتر فرزام شیخ زاده حصارى

استاد مشاور:

دکتر سیدمهدی بانان خجسته

پژوهشگر:

سیما آقازاده

## چکیده

استافیلوکوکوس اورئوس، یکی از مهمترین باکتری های بیماریزای انسانی در دنیا است. هم اکنون گسترش سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی بیوتیک ها یک تهدید محسوب می شود. یکی از اشکال مقاوم این باکتری انواع مقاوم به متی سیلین (MRSA) است که مشکلات درمانی را به همراه دارد. برای درمان این اشکال مقاوم راهکارهای جدیدی مطرح است که یکی از این راهکارها استفاده از باکتریوفازها است. فازها با آلوده کردن سلول باکتری باعث لیز و کشته شدن آن می شوند. در این مطالعه، 15 سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA) از بیماران بستری در بیمارستان با روش های مرسوم و با استفاده از محیط ها و تست های بیوشیمیایی مناسب جداسازی گردید. سپس فاز اختصاصی علیه 15 سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از آب های فاضلاب جداسازی شده و با استفاده از کراسینگ فاز، مجموعه فازهای کارآمد علیه سویه های MRSA انتخاب گردید. در نهایت برای بررسی اثربخشی فاز از مدل موشی استفاده شد. برای این منظور عفونت تجربی در موش ها با باکتری MRSA ایجاد شده و فازهای با طیف اثر گسترده انتخاب کرده و جهت تیمار استفاده گردید.

نتایج به دست آمده از مدل موشی نشان داد که فاز اثر درمانی بهتری نسبت به آنتی بیوتیک مصرفی دارد و عفونت ایجاد شده را با موفقیت از بین می برد. هم چنین میزان بهبودی زخم و اپیتلیزاسیون در گروه دریافت کننده فاز نسبت به بقیه گروه ها بهتر بود. علاوه بر این مشخص شد که مصرف آنتی بیوتیک با عوارض جانبی همراه است در حالی که فاز عوارض جانبی ندارد و استفاده ترکیبی از باکتریوفاز و آنتی بیوتیک در این پژوهش، موثرتر از استفاده هر کدام از آن ها به تنهایی بود.

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
1	مقدمه
2	فصل اول - کلیات و بررسی منابع
3	1-1 استافیلوکوکوس
4	1-2 استافیلوکوکوس اورئوس
4	1-2-1 ویژگی های اصلی استافیلوکوکوس اورئوس
5	2-2-1 نقش استافیلوکوکوس اورئوس در پزشکی
6	3-2-1 عوامل دخیل در ویرولانسی و بیماری زایی استافیلوکوکوس اورئوس
6	1-3-2-1 فاکتور های بیماریزایی وابسته به دیواره سلولی
7	2-3-2-1 فاکتور های بیماریزایی خارج سلولی
9	4-2-1 پاتولوژی
11	5-2-1 مقاومت آنتی بیوتیکی
13	6-2-1 ژنوم استافیلوکوکوس اورئوس و SCCmec
15	3-1 انواع سویه های استافیلوکوکوس اورئوس
15	1-3-1 استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین یا MRSA
21	4-1 تشخیص آزمایشگاهی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین
22	5-1 راهکارهای جدید برای درمان باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک
23	6-1 باکتریوفاژ
24	1-6-1 نحوه تکثیر و چرخه زندگی باکتریوفاژها
27	7-1 فاژتراپی
28	1-7-1 تاریخچه فاژتراپی
30	2-7-1 کاربردهای بالینی باکتریوفاژها
30	1-2-7-1 درمان تجربی با استفاده از فاژهای زنده در انسان

- 32.....2-2-7-1) درمان با استفاده از فاژ و آنتی بیوتیک با هم
- 32.....3-2-7-1) درمان با محصولات فاژی یا اندولیزین ویروسی
- 33.....3-7-1) طریقه مصرف باکتریوفاژها
- 34.....4-7-1) ایمنی باکتریوفاژها و مزایای استفاده از فاژدرمانی
- 35.....5-7-1) محدودیت ها و مشکلات ناشی از فاژدرمانی
- 37.....8-1) فارماکوکینتیک فاژها
- 38.....9-1) فاژهایی که تا کنون برای درمان MRSA استفاده شده اند
- 39.....10-1) اهداف پژوهش

#### 40..... فصل دوم – مواد و روش ها

- 41.....1-2) مواد و تجهیزات
- 41.....1-1-2) دستگاه ها
- 42.....2-1-2) مواد شیمیایی مورد استفاده
- 43.....2-2) روش ها
- 43.....1-2-2) نمونه برداری و جداسازی باکتری ها
- 43.....3-2) شناسایی باکتری ها
- 44.....1-3-2) محیط آگار خون دار
- 44.....2-3-2) محیط کشت مانیتول سالت آگار یا MSA
- 45.....3-3-2) رنگ آمیزی گرم
- 46.....4-3-2) تست کاتالاز
- 46.....5-3-2) تست کواگولاز
- 47.....6-3-2) آنتی بیوگرام
- 48.....7-3-2) تعیین MIC برای آنتی بیوتیک وانکومايسين
- 49.....8-3-2) تعیین MIC برای آنتی بیوتیک اگزايسيلين
- 49.....4-2) تهیه محیط های کشت

50	5-2	جمع آوری نمونه آب حاوی فاژ احتمالی
50	6-2	جداسازی باکتریوفاژ
51	7-2	بررسی وجود باکتریوفاژ و اثر آن بر باکتری ها
51	8-2	خالص سازی و نگهداری باکتریوفاژها
52	9-2	روش تهیه SM بافر
52	10-2	کراسینگ فاژها
52	11-2	مدل موشی
53	1-11-2	گروه بندی موش ها
54	2-11-2	مدل ایجاد زخم
55	3-11-2	روش تعیین غلظت باکتری تلقیح شده به موش
55	4-11-2	روش تیتراژ کردن باکتریوفاژ
56	5-11-2	نمونه برداری از زخم موش ها
57		<b>فصل سوم – نتایج</b>
58	1-3	نتایج شناسایی باکتریها
58	1-1-3	نتایج تست کاتالاز
58	2-1-3	نتایج کشت باکتری ها در محیط آگار خون دار
59	3-1-3	نتایج کشت باکتری ها در محیط مانیتول سالت آگار
60	4-1-3	نتایج تست کواگولاز
61	5-1-3	نتایج رنگ آمیزی گرم و مشاهدات میکروسکوپی
62	6-1-3	نتایج بررسی حساسیت به آنتی بیوتیک اگزاسیلین و سفوکسی تین
63	7-1-3	نتایج MIC برای آنتی بیوتیک اگزاسیلین
63	8-1-3	نتایج آنتی بیوگرام و حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری ها
65	2-3	نگهداری نمونه های باکتریایی تایید شده
65	3-3	باکتریوفاژهای جداسازی شده

67	نتایج کراسینگ فاژهای جداسازی شده
68	نتایج مدل موشی
69	نتایج کارآزمایی بالینی در موش های آزمایشگاهی
71	نتایج بررسی وضعیت عمومی گروه های موشی
72	نتایج اپیتلیزاسیون و روند بهبود زخم در گروه های موشی
78	<b>فصل چهارم - بحث و نتیجه گیری</b>
79	وضعیت مقاومتی MRSA های مورد بررسی نسبت به سایر آنتی بیوتیک ها
80	جداسازی باکتریوفاژ و کاربرد درمانی آن علیه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین
84	بررسی فاژدرمانی در دیگر عفونت های باکتریایی
86	نتیجه گیری
87	پیشنهاد ها
88	منابع و مأخذ

## مقدمه

امروزه عفونت های باکتریایی، تهدیدی جدی علیه سلامتی بشری محسوب می شوند. استفاده نامناسب و یا غیر ضروری از آنتی بیوتیک ها باعث مقاومت میکروارگانیسم ها و گسترش آنها شده است.

استافیلوکوکوس اورئوس، یکی از مهمترین باکتری های بیماریزای انسانی در دنیا است. حدود 20% از افراد سالم، ناقل دائمی و 60% ناقل متناوب استافیلوکوکوس اورئوس هستند. این گونه مهاجم ترین گونه استافیلوکوکوس است که قابلیت خود را به عنوان علت اصلی مرگ و میر به شکل مقاومت بالا به آنتی بیوتیک ها نشان می دهد.

یکی از اشکال مقاوم این باکتری، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین<sup>1</sup> (MRSA) است که مشکلات درمانی عمده ای به همراه دارد. برای درمان این اشکال مقاوم راهکارهای جدیدی مطرح است که یکی از این راهکارها استفاده از باکتریوفاژها یا فاژ درمانی است. باکتریوفاژها، ویروس های اختصاصی باکتری ها هستند که با آلوده کردن سلول باکتری باعث لیز و کشته شدن آن می شوند. هدف از این مطالعه، جداسازی فاژهای مناسب علیه سویه های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA)، انتخاب مجموعه فاژی کارآمد علیه سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین جدا شده و در نهایت بررسی اثربخشی فاژها به صورت *In vivo*، در موش های دچار عفونت تجربی با استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA) می باشد.

برای تایید تاثیر فاژ بر روی عفونت تجربی ایجاد شده از مقایسه با آنتی بیوتیک هم استفاده می شود. این پژوهش در چهار بخش ارائه می گردد. فصل اول کلیات و بررسی منابع، فصل دوم مواد و روش های استفاده شده در پژوهش، فصل سوم نتایج حاصل از تحقیق و فصل چهارم بحث و مقایسه نتایج به دست آمده با پژوهش های پیشین است.

---

1 . Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*



## فصل اول

### کلیات و بررسی منابع

## 1-1) استافیلوکوکوس

استافیلوکوکوس ها تنها جنس از خانواده میکروکوکاسیه هستند که از نظر پزشکی اهمیت دارند. استافیلوکوکوس ها همانند استرپتوکوکوس ها به شکل کوکسی می‌باشند اما تقسیم آن‌ها در دو محور انجام می‌گیرد بنابراین، کوکسی های گرم مثبت به شکل خوشه انگور هستند که آنزیم کاتالاز تولید می‌کنند. با تست کاتالاز می‌توان استافیلوکوکوس‌ها را از استرپتوکوکوس‌ها و انتروکوکوس‌ها متمایز ساخت.

در دیواره سلولی آن‌ها پپتیدوگلیکان و اسید تیکوئیک وجود دارد. محتوای سیتوزین + گوانین در DNA آن‌ها، 30 تا 40 % مول است. گونه‌های استافیلوکوکوسی، بی‌هوازی اختیاری هستند. تمام گونه‌ها در حضور نمک‌های صغری رشد می‌کنند [1][2].

حداقل 40 گونه از این جنس شناسایی شده است. تعدادی از گونه‌ها شامل استافیلوکوکوس اینترمدیوس، هیکوس، اپیدرمیدیس، ساپروفیتیکوس، کاپری، اورئوس، دلفینی، لوتره، شلیفری، سودینترمدیوس و همولیتیکوس هستند که فقط سه مورد از آنها از نظر پزشکی اهمیت دارند. این سه گونه استافیلوکوکوس اورئوس، اپیدرمیدیس و ساپروفیتیکوس می‌باشند. بسیاری از گونه‌های استافیلوکوکوس، بی‌آزار هستند و در سطح پوست و مخاط بدن انسان و سایر جانوران زندگی می‌کنند. یکی از ویژگی‌های مهم جهت طبقه بندی استافیلوکوکوس‌ها تولید آنزیم کواگولاز است. کواگولاز آنزیمی است که خون را لخته می‌کند. براین اساس استافیلوکوکوس‌ها را به دو دسته کواگولاز مثبت و کواگولاز منفی دسته بندی می‌کنند [3]. مهمترین گونه کواگولاز مثبت، استافیلوکوکوس اورئوس<sup>1</sup> است و همین امر آن را از انواع دیگر استافیلوکوکوس‌ها متمایز می‌سازد. مهمترین گونه کواگولاز منفی، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس<sup>2</sup> است که به شکل همزیست بر روی پوست انسان زندگی می‌کند. در بیماری‌هایی که سیستم ایمنی آن‌ها سرکوب شده‌است یا از کاتترهای عروقی استفاده می‌کنند

1 Staphylococcus aureus

2 Staphylococcus epidermidis

می‌تواند موجب عفونت‌های شدیدی مثل اندوکاردیت شود. استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس<sup>1</sup>، گونه کواگولاز منفی دیگری است که به عنوان فلور عادی واژن در زنان محسوب می‌گردد. این باکتری در عفونت‌های مجرای تناسلی در زنان جوان نقش دارد. استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی را بطور اختصاری  $^{2}CoNS$  یا CNS می‌نامند [4].

## 2-1) استافیلوکوکوس اورئوس

### 1-2-1) ویژگی‌های اصلی استافیلوکوکوس اورئوس

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهمترین باکتری‌های پاتوژن انسانی است که برای اولین بار در سال 1880 توسط الکساندر اگستون<sup>3</sup> در آبردین، انگلستان گزارش شد [5]

استافیلوکوکوس اورئوس کوکسی گرم مثبت با قطر 0/5 تا 1/5 میکرون به شکل خوشه انگور، فاقد اسپور و حرکت، هوازی یا بی‌هوازی اختیاری و احیای نیترات مثبت است. از نظر متابولیسمی فعال بوده و قادر است کربوهیدرات‌ها را تخمیر کرده و اسید لاکتیک بدون گاز تولید کند. غلظت بالای نمک (10% NaCl) را تحمل کرده و در دمای 18 تا 40 درجه سانتی‌گراد رشد می‌کند [6].

این باکتری، آنزیم کاتالاز تولید می‌کند. آنزیم کاتالاز موجب تجزیه پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) به آب و اکسیژن می‌شود. از این تست برای تمایز استافیلوکوکوس‌ها از استرپتوکوکوس‌ها و انتروکوکوس‌ها استفاده می‌شود. استافیلوکوکوس اورئوس، آنزیم کواگولاز هم تولید می‌کند. این آنزیم، خون را لخته می‌کند. سایر گونه‌های استافیلوکوکوس از نظر کواگولاز، منفی هستند [7].

استافیلوکوکوس اورئوس توانایی رشد در محیط‌های آگار خون دار، نوترینت آگار، تریپتون سوی آگار و مانیتول سالت آگار را دارد و معمولاً طی 24 ساعت پس از انکوباسیون در 37 درجه سانتی‌گراد کلنی‌هایی با قطر 1-3 میلی‌متر، صاف و کمی برآمده به رنگ سفید تا زرد طلایی تولید می‌کند.

1 Staphylococcus saprophyticus

2 coagulase-negative staphylococci

3 Alexander Ogston

رنگ طلایی به علت تولید پیگمان های کاروتنوئیدی است و به نظر می رسد از باکتری در مقابل اشعه ماوراء بنفش محافظت می کند. کلنی ها در محیط کشت آگار خون دار همولیز بتا ایجاد می کنند [8].

### 1-2-2) نقش استافیلوکوکوس اورئوس در پزشکی

استافیلوکوکوس اورئوس در طبیعت گسترش فراوانی دارد. این باکتری فلور نرمال پوست، دستگاه تنفسی فوقانی و قسمت قدامی بینی انسان است . معمولا حدود 25-30 % از افراد سالم جمعیت، به طور موقت یا دائم، حامل استافیلوکوکوس اورئوس روی پوست و یا حفره های بینی هستند [9]. وجود استافیلوکوکوس اورئوس در این شرایط به معنای عفونت نیست و نیازی هم به درمان در این گونه موارد ندارد. استافیلوکوکوس اورئوس ممکن است روی سطوح خشک برای هفته ها تا ماه ها زنده بماند. با این حال استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان پاتوژن فرصت طلب انسان در نظر گرفته می شود و اگر سد دفاعی بدن در اثر زخم یا جراحی آسیب ببیند می تواند از سد دفاعی بدن عبور کرده، وارد بافت زمینه ای شده و قدرت مهاجمی پیدا کند. استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان عامل اکثر عفونت های اکتسابی از بیمارستان به خصوص عفونت بعد از جراحی و پنومونی شناخته شده است [10].

استافیلوکوک اورئوس، گستره وسیعی از عفونت ها، از بیماری های خفیف و عفونت های ساده پوستی و بافت نرم مانند دمل<sup>1</sup>، آبسه<sup>2</sup>، سلولیت<sup>3</sup>، کفگیرک<sup>4</sup>، زرد زخم<sup>5</sup>، گل مزه و سندرم فلسی شدن پوست<sup>6</sup> گرفته تا بیماری های تهدید کننده زندگی مانند باکتریمی<sup>7</sup>، پنومونی<sup>8</sup>، اندوکاردیت حاد<sup>9</sup>،

---

1 Boil

2 Abscess

3 Cellulitis

4 Furuncle

5 Impetigo

6 Scalded skin syndrome

7 Bacteremia

8 Pneumonia

9 Endocarditis

استئومیلیت<sup>1</sup>، مننژیت<sup>2</sup>، سندرم شوک سمی<sup>3</sup>، سپتی سمی و مسمومیت غذایی<sup>4</sup> ایجاد می کند. استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یکی از 5 عامل شایع ایجاد کننده عفونت های بیمارستانی به ویژه عفونت های زخم پس از جراحی است [8].

### 1-2-3) عوامل دخیل در ویرولانسی و بیماری زایی استافیلوکوکوس اورئوس

عوامل دخیل در ویرولانسی و بیماری زایی، فاکتور های وابسته به دیواره سلولی و فاکتورهای خارج سلولی می باشد

#### 1-3-2-1) فاکتور های بیماری زایی وابسته به دیواره سلولی

پپتیدوگلیکان : پلیمر ساکاریدی است که واحدهای آن به وسیله پل عرضی پنتا گلیسین به هم چسبیده و اسکلت خارجی محکمی را در دیواره سلولی فراهم می سازد. پپتیدوگلیکان فعالیت شبه آندوتوکسینی دارد و باعث تحریک و تولید تب زهای آندوژن، فعال سازی سیستم کمپلمان، تولید اینترلوکین 1 از منوسیتها و تجمع لکوسیت های چند هسته ای یا پلی مورفونوکلئار و تشکیل آبسه می شود.

اسید تیکوئیک: در استافیلوکوکوس اورئوس از جنس ریبتول فسفات است که به پپتیدوگلیکان متصل بوده و خاصیت آنتی ژنی دارد. آنتی بادی های آنتی تیکوئیک اسید در بیماران مبتلا به اندوکاردیت استافیلوکوکی فعال به اثبات رسیده است. اسید تیکوئیک یک جزء اصلی به عنوان گیرنده فاز در استافیلوکوکوس اورئوس است. در استافیلوکوکوس اورئوس های جهش یافته که فاقد اسید تیکوئیک هستند، مقاومت به فاز مشاهده شده است. اسید تیکوئیک با تنظیم محیط کاتیونی سلول باکتری، فعالیت آنزیم های اتولیتیک را کنترل می کند.

---

1 Osteomyelitis  
2 Meningitis  
3 Toxic shock syndrome  
4 Food poisoning

پروتئین A: سطح استافیلوکوکوس اورئوس از پروتئین A پوشیده شده است. پروتئین A از طریق آنزیم ترانسپیتیدازی به نام سورتاز به پپتیدوگلیکان متصل می شود. این پروتئین ها در سایر استافیلوکوکوس ها و میکروکوکوس ها وجود ندارد [11]. از خصوصیات منحصر به فرد پروتئین A توانایی بروز واکنش های غیر اختصاصی با ایمونوگلوبولین ها است. پروتئین A به گیرنده FC ایمونوگلوبولین های IgG1, IgG2 و IgG4 (به جزء IgG3) اتصال می یابد، بخش Fab از مولکول IgG که به پروتئین A متصل است، آزاد بوده و به یک آنتی ژن اختصاصی می تواند اتصال یابد. دیگر کلاس های ایمونوگلوبولین که پروتئین A به آن ها متصل می شود IgA, IgM و IgE پلی کلونال می باشد [12]. پروتئین A یک فاکتور بیماریزایی است به دلیل این که از فاگوسیتوز سلول باکتری توسط اپسونیزاسیون ممانعت می کند و می تواند ازدیاد حساسیت، فعال سازی کمپلمان و آزادسازی هیستامین از بازوفیل ها را القا کند. جهش در ژن این پروتئین باعث کاهش بیماریزایی باکتری می شود [13]. تعداد معدودی از سوش ها، کپسول یا لایه لعابی تولید می کنند که قدرت بیماریزایی ارگانسیم ها را افزایش می دهد. کپسول از طریق مهار فاگوسیتوز، ارگانسیم ها را از لکوسیت های پلی مورفونوکلئار حفاظت می کند و لایه لعابی باکتری ها را به بافت ها و اعضای خارجی مثل کاتترها، پیوندها، دریچه مصنوعی مفاصل و شنت ها متصل می کند.

### 1-2-3-2) فاکتورهای بیماریزایی خارج سلولی

#### آنزیم ها

آنزیم کواگولاز: موجب لخته شدن خون و در نتیجه عدم فاگوسیت شدن توسط گلبول های سفید می شود.

آنزیم هیالورونیداز: اسید هیالورونیک موجود در بافت همبند را تجزیه کرده و موجب گسترش باکتری در بدن می شود.

آنزیم دزوکسی ریبونوکلئاز (DNase) : DNA را تجزیه می‌کند.

آنزیم لیپاز: باعث هضم چربی می‌شود.

آنزیم استافیلوکیناز: فیبرین را تجزیه و حل کرده و موجب گسترش باکتری در بدن می‌شود.

آنزیم بتالاکتاماز: باعث مقاومت آنتی بیوتیکی می‌شود [14].

### توکسین ها

#### اگزوتوکسین TSST-1 یا توکسین سندرم شوک سمی :

سویه‌هایی که اگزوتوکسین TSST-1 را تولید می‌کنند، موجب بیماری بالقوه مهلک و کشنده‌ای به

نام سندرم شوک سمی<sup>1</sup> می‌شوند .

#### انتروتوکسین :

تا کنون 8 نوع انتروتوکسین شناسایی شده که به حرارت و آنزیم‌های روده‌ای مقاوم هستند. توکسین

سندرم شوک سمی و انتروتوکسین استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان سوپر آنتی ژن‌های سمی تب‌زا

<sup>2</sup> (PTSAGs) شناخته می‌شوند. این سوپر آنتی ژن‌ها با فعال‌سازی کلون‌های لنفوسیت‌های T

واکنش دهنده علیه خود، می‌توانند بیماری‌های اتوایمیون را در انسان القاء کنند [15].

#### همولیزین ها:

همولیزین آلفا، همولیزین بتا، همولیزین گاما و همولیزین دلتا که خاصیت همولیزین دارند و گلبول

های قرمز خون را لیز می‌کنند.

#### توکسین پنتون – والننن لکوسیدین:

این توکسین دو جزیی است و لکوسیت‌ها را تخریب می‌کند. توکسین پنتون - والننن، نومونی نکروز

دهنده شدید در کودکان ایجاد می‌نماید. ژن این توکسین بر روی باکتریوفاژ قرار دارد که از طریق

1 Toxic shock syndrome

2 Pyrogenic toxin superantigens (PTSAGs)

آلوده شدن باکتری به فاز، به آن انتقال پیدا می‌کند. توکسین پنتون - والنن، بیشتر در سویه‌های MRSA اکتسابی از جامعه (CA-MRSA) دیده شده است [16].

### توکسن اکسفولیاتیو<sup>1</sup> :

این توکسین نوعی پروتئاز است که پوست را تجزیه می‌کند. استافیلوکوکوس اورئوس با تولید این توکسین در کودکان، عفونت شدید به نام سندرم پوستی فلسی شونده استافیلوکوکی (SSSS)<sup>2</sup> را ایجاد می‌کند [17][18][19][20].

### پیگمان:

استافیلوکوکوس اورئوس رنگدانه طلایی کاروتنوئیدی به نام استافیلوزانتین<sup>3</sup> تولید می‌کند که به عنوان ماده آنتی اکسیدان عمل کرده و موجب در امان ماندن باکتری در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود [21][22]. رادیکال‌های آزاد اکسیژن توسط سیستم ایمنی (گلوبول‌های سفید) میزبان، برای کشتن باکتری‌ها تولید می‌شوند.

### 1-2-4) پاتولوژی

استافیلوکوکوس اورئوس از طریق تولید توکسین و یا به واسطه تهاجم مستقیم و تخریب بافت بیماری ایجاد می‌کند.

بیماری‌های ناشی از توکسین استافیلوکوکوس اورئوس عبارتند از:

**سندرم فلسی شدن پوست (SSSS):** این بیماری به واسطه توکسین اکسفولیاتیو ایجاد می‌شود و بیشتر نوزادان و کودکان کم سن و سال را درگیر می‌کند. قرمزی و التهاب اطراف دهان از مشخصات این بیماری است و در مراحل بعدی ویزیکول یا تاول‌های پوستی ظاهر شده و سپس پوسته ریزی

1 Exfoliative toxin

2 Staphylococcal scalded skin syndrome

3 Staphyloxanthin



اپیتلیوم دیده می شود. تاول ها فاقد باکتری و لکوسیت هستند چون به واسطه توکسین ایجاد می شوند.

**مسمومیت غذایی استافیلوکوکوسی:** یکی از شایعترین بیماری های منتقله از طریق مواد غذایی که به واسطه وجود سم در غذا ایجاد می شود مسمومیت غذایی استافیلوکوکوسی است. استافیلوکوکوس اورئوس با تولید انتروتوکسین در غذا موجب گاستروانتریت و مسمومیت غذایی می شود. مسمومیت غذایی خود محدود شونده است و به درمان خاصی نیاز ندارد. بیمار پس از 8 تا 24 ساعت بهبود پیدا می کند. علائم مسمومیت غذایی شامل تهوع، اسهال، استفراغ، درد شکمی، تعریق و سردرد بدون تب است [23].

**سندرم شوک سمی:** سندرم شوک سمی به واسطه توکسین TSST-1 ایجاد می شود. عفونت کشنده ای که بافت نرم و جلد را درگیر می کند. علائم بیماری شامل تب بالا، کاهش فشار خون، ناخوشی، گیجی و در نهایت از کار افتادن اندامهای داخلی بدن، کما و مرگ است. راش های شبیه آفتاب سوختگی در مراحل اولیه بیماری در لب، چشم، دهان، کف دست و پا دیده می شوند. در صورت درمان، بیمار پس از چند هفته، سلامتی خود را باز می یابد در غیر این صورت، در عرض چند ساعت خواهد مرد. این سندرم به میزان 3 تا 4 مورد از هر 100 هزار زنی که از تامپون های واژنی در زمان قاعدگی استفاده می کنند، دیده شده است. در صورت راهیابی باکتری به واژن، در حضور تامپون در آنجا تکثیر پیدا کرده و توکسین TSST-1 را تولید می کند. توکسین از آنجا وارد خون می شود و در سرتاسر بدن پخش خواهد شد [24][25].

عفونت های پوستی که در اثر تهاجم باکتری در پوست و بافت نرم ایجاد می شود عبارتند از:

**زرد زخم تاولی:** زرد زخم تاولی شکل موضعی سندرم فلسی شدن پوست است با این تفاوت که تاول حاوی باکتری است چون در اثر تهاجم باکتری ایجاد می شود.

**فولیکولیت:** عفونت چرکی فولیکول مو است. در این بیماری پوستی قاعده فولیکول مو قرمز و برجسته می شود. اگر چنین حالتی در پایه پلک اتفاق بیافتد گل مژه ایجاد می شود.

**کورک و کفگیرک:** کورک یا جوش در واقع فولیکولیت توسعه یافته همراه با ندول برجسته و درد است. با به هم پیوستن کورک ها به یکدیگر و توسعه آن ها به بافت عمیق تر زیر جلد، کفگیرک ایجاد می شود. در این حالت تب و لرز هم دیده می شود.

بیماری های دیگر *استافیلوکوکوس اورئوس* عبارتند از: باکتری می (عفونت خون)، آندوکاردیت (عفونت دریچه های قلب)، نومونی (عفونت ریه و دستگاه تنفسی)، مننژیت (عفونت پرده های مننژ مغز) و استئومیلیت (عفونت استخوان ها) [26].

### 5-2-1) مقاومت آنتی بیوتیکی

پس از کشف و معرفی پنی سیلین در سال 1940، میزان مرگ و میر ناشی از بیماری های *استافیلوکوکوس اورئوس* به طور معنی داری کاهش یافت. ولی در کمتر از 10 سال، به علت کاربرد وسیع پنی سیلین، اغلب سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* به علت ترشح بتالاکتاماز یا پنی سیلیناز (آنزیمی که حلقه بتالاکتام آنتی بیوتیک های بتالاکتام مثل پنی سیلین را تجزیه می کند) نسبت به پنی سیلین مقاوم شد. به طوری که در سال 1950، 40 درصد سویه های بیمارستانی به پنی سیلین مقاوم شدند و این میزان در سال 1960 به 80 درصد رسید [28]. بنابراین به دلیل مشکلات ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* های مقاوم به پنی سیلین، از آنتی بیوتیک های جدیدتر یعنی پنی سیلین های نیمه سنتتیک مقاوم به بتالاکتاماز مانند اگزاسیلین، کلواگزاسیلین، نفیسیلین و متی سیلین استفاده شد [29]. متأسفانه *استافیلوکوکوس اورئوس* ها به مرور به این آنتی بیوتیک ها هم مقاومت نشان دادند. این نوع مقاومت آنتی بیوتیکی ژنتیکی است. مقاومت به متی سیلین و سایر پنی سیلین های

مقاوم به پنی سیلیناز به دلیل فعالیت اوپرون *mec*، بخشی از کاست کروموزومی استافیلوکوکی<sup>1</sup> (SCC*mec*) است.

ژن *mecA*، پروتئین متصل شونده به پنی سیلین با نام PBP2a را کد می‌کند که متفاوت از سایر پروتئین‌های متصل شونده به پنی سیلین است و میل پیوندی پایینی برای آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام دارد. پروتئین‌های متصل شونده به پنی سیلین<sup>2</sup> (PBP) در ساخت و ساز دیواره سلولی باکتریایی نقش دارند. آنتی بیوتیک‌ها با تاثیر بر روی این پروتئین‌ها و غیر فعال کردن آن‌ها از سنتز دیواره سلولی جلوگیری کرده و باعث مرگ باکتری می‌شوند. ولی باکتری با تولید PBP2a فعالیت آنزیمی ترانس پپتیدازی خود را حفظ کرده و به پنی سیلین متصل نمی‌شود. از این رو، وجود چنین پروتئین جدیدی تحت تاثیر آنتی بیوتیک نخواهد بود و باکتری به راحتی به زندگی خود ادامه می‌دهد. ژن *mecA* به وسیله ترانسپوزون‌ها و پلاسمیدها و از طریق انتقال افقی ژن بین سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس انتقال پیدا می‌کند. این سویه‌ها را استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین<sup>3</sup> (MRSA) می‌گویند [30][31].

برای درمان استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA)، از آنتی بیوتیک‌های دیگری به نام وانکومایسین و همچنین از آنتی بیوتیک جدیدی به نام لینزولید استفاده شد. آنتی بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی مانند جنتامیسین، استرپتومایسین و کانامایسین زمانی به خوبی علیه استافیلوکوکوس‌ها جواب می‌دادند اما استافیلوکوکوس اورئوس به مرور زمان به این آنتی بیوتیک‌ها نیز مقاوم شد. این آنتی بیوتیک‌ها با اتصال به زیر واحد S30 ریبوزومی منجر به مرگ باکتری می‌شوند [32]. مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در استافیلوکوکوس‌ها به سه شکل دیده شده است: تولید آنزیم‌های تغییر دهنده آمینوگلیکوزیدها که موجب تغییر ساختار آنتی بیوتیک و غیر فعال سازی آن

1 Staphylococcal cassette chromosome *mec*

2 Penicillin-binding protein

3 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

می‌شود. جهش‌ها یا موتاسیون‌های ریبوزومی که موجب تغییر در جایگاه هدف اتصال آنتی بیوتیک خواهند شد. بنابراین، آنتی بیوتیک دیگر نمی‌تواند به هدف خود متصل شود و پمپ‌های افلاکس در غشای باکتری که بطور فعال آنتی بیوتیک را از داخل باکتری به خارج از آن، پمپ می‌کنند. مقاومت به وانکومایسین و سایر آنتی بیوتیک‌های گلیکوپپتیدی نیز بر اثر کسب ژن *vanA* ایجاد می‌شود. این ژن از انتروکوکوس‌ها به استافیلوکوکوس‌ها و از طریق کونژوگاسیون انتقال می‌یابد. انتروکوکوس‌ها پپتیدوگلیکان تغییر یافته دارند که به وانکومایسین متصل نمی‌شود. این ژن طوری پپتیدوگلیکان را تغییر می‌دهد که وانکومایسین دیگر نتواند به آن متصل شود. به این سویه‌ها، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به وانکومایسین<sup>1</sup> (VRSA) می‌گویند. سویه‌های دیگری نیز گزارش شده اند که بطور میانه به وانکومایسین مقاوم<sup>2</sup> (VISA) هستند. سویه‌های اخیر اولین بار در سال 1996 از ژاپن گزارش شدند [33][34].

### 1-2-6) ژنوم استافیلوکوکوس اورئوس و SCCmec

ژنوم استافیلوکوکوس اورئوس حدود 2800 kb طول دارد و از یک کروموزوم حلقوی که شامل پروفاز، پلاسمید و ترانسپوزون است، تشکیل شده است [35]. ژن‌های کنترل کننده بیماری و مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها بر روی کروموزوم اصلی و عناصر خارج کروموزومی یافت می‌شوند. این ژن‌ها بین سوش‌ها و گونه‌های استافیلوکوکوسی از طریق عناصر ژنتیکی متحرک<sup>3</sup> (MGES) جابجا می‌شوند [36]. SCCmec یک جزیره ژنومی با منشا ناشناخته و شامل ژن *mecA* یا ژن مقاومت به متی‌سیلین و سایر آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام است. SCCmec علاوه بر ژن *mecA*، کد کننده رپرسور *MecI*، انتقال دهنده پیام *MecR1* و ریکامبینازهای *CcrA* و *CcrB* است. در حال حاضر 8 نوع SCCmec منحصر به فرد در اندازه‌های 21-67 kb شناسایی شده اند [37][28]. 8 نوع

1 Vancomycin-resistant *S. aureus*

2 Vancomycin-intermediate *S. aureus*

3 Mobile Genetic Elements