تأییدیه اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیأت داوران نسخه نهایی پایان‌نامه **آقای عباس فرهادیان** رشته : **باکتری شناسی** را از نظر شکل(فرم) و محتوی بررسی نموده و پذیرش آن را برای دریافت درجه کارشناسی‌ارشد پیشنهاد می‌کنند.

ردیف	اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضا
۱	استاد راهنما			
۲	استاد مشاور			
۳	نماینده تحصیلات تکمیلی			
۴	استاد ناظر			
۵	استاد ناظر			

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 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 آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ٤- 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 ۸۷/٤/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/٤/۲۳ 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.

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 **باکتری شناسی** است که در سال **۱۳۸۸** در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **آقای دکتر بهزادیان نژاد** ، مشاوره **خانم دکتر شهین نجار پیرایه** 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 ٤ : در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به‌عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ٥ : 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 ٤ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ٦ : اینجانب **عباس فرهادیان** دانشجوی رشته **باکتری شناسی** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی

تاریخ و امضا

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

پایان نامه

کارشناسی ارشد در رشته باکتری شناسی پزشکی

بررسی مقاومت به ونکومایسین و متی سیلین در استافیلوکوکوس اورئوس با روش PCR در نمونه های بالینی

نگارش:

عباس فرهادیان

استاد راهنما :

دکتر قربان بهزادیان نژاد

استاد مشاور:

دکتر شهین نجار پیرایه

تابستان۱۳۸۸

تقدیر و تشکر

حمد و سپاس خدایی را که انسان را بیافرید و بواسطه نعمت عقل او را از سایر موجودات ممیز ساخت اکنون که به حول و قوه الهی ، مراحل تحقیق و تدوین این پایان نامه به اتمام رسیده، بر خود لازم می دانم که از تلاش و مساعدت های اساتید ، کارشناسان گروه و تمامی کسانی که مرا در این امریاری نموده اند تشکر و قدردانی کنم .

از جناب آقای دکتر بهزادیان نژاد که با راهنمائی های ارزنده شان در انجام این تحقیق مرا یاری کردند سپاسگزارم و برایشان آرزوی موفقیت روز افزون دارم.

از استاد ارجمند سرکار خانم دکتر شهین نجار پیرایه که با صبر و بردباری ، مراحل مختلف پایان نامه مراراهنمایی فرمودند کمال تشکر و قدردانی را دارم و برای ایشان آرزوی سلامتی و بهروزی را دارم .

از سایر اساتید گروه ؛ سرکار خانم دکتر محبتی مبارز و جناب آقای دکتر ستاری که در محضر این عزیزان افتخار شاگردی را داشته ام و از سرمایه های علمی و اخلاقیشان مستفیذ شده ام صمیمانه سپاسگزارم .

از کارشناس گروه سرکار خانم صمیمی که در انجام این تحقیق مرا یاری نموده اند صمیمانه قدردانی و تشکر می نمایم .

از جناب آقای دکتر آل بویه که در طی این تحقیق مرا یاری نمودند سپاسگزار بوده و آرزوی توفیق در تمامی مراحل زندگی را دارم.

همچنین همکلاسی های عزیزم علی الخصوص آقای فرزام وزیری که در طی این مدت مشوق بنده بودنده اند متشکرم و آرزوی توفیق روز افزون برای ایشان دارم.

تقدیم به :

پدر و مادر گرامی و مهربانم که دعای خیرشان همواره بدرقه را هم بوده و فداکاریهای بی دریغشان برایم پشتوانه محکمی در رویارویی با مشکلات بوده است .

همسر عزیزم که با صبر و شکیبائی مرا در تمامی مراحل زندگی یاری نموده است.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول : مقدمه و کلیات

۱-۱.استافیلوککها.....۲

۱-۱-۱ . تاریخچه.....۲

۱-۱-۲ . تعریف.....۳

۱-۱-۳ . محل استقرار طبیعی.....۴

۱-۱-۴ . مرفولوژی.....۵

۱-۱-۵ . مشخصات رشد و شکل کلنی.....۶

۱-۱-۶ . پوشش سلولی.....۷

۱-۱-۷ . غشاء سیتوپلاسمی.....۹

۱-۱-۸ . دیواره سلولی.....۱۰

۱-۱-۸-۱ . پپتیدوگلیکان.....۱۱

۱-۱-۸-۲ . اسیدهای تایکوئیک و لیپوتایکوئیک.....۱۲

۱-۱-۸-۳. پروتئینA ۱۳

۱-۱-۸-۴ . پلی ساکاریدA ۱۴

۱-۱-۹ . مولکولهای چسبنده سطح سلولی ۱۴

۱-۱-۱۰. کپسول ۱۵

۱-۱-۱۱ . مود خارج سلولی ۱۶
۱-۱-۱۱-۱. آنزیمهای خارج سلولی ۱۶
۱-۱-۱۱-۲. سموم مترشحه توسط استافیلوککها ۱۹
۱-۱-۱۲. متابولیسم کربوهیدراتها ۲۵
۱-۱-۱۳. تنفس ۲۵
۱-۱-۱۴. ساختمان آنتی ژنتیک ۲۶
۱-۱-۱۴-۱. پلی ساکارید A ۲۷
۱-۱-۱۴-۲. پروتئین A ۲۷
۱-۱-۱۴-۳. آنتی ژن کپسولی ۲۷
۱-۱-۱۵. ژنتیک ۲۷
۱-۱-۱۶. پلاسمید ۲۸
۱-۱-۱۷. باکتریوفاژها ۲۸
۱-۱-۱۸. ترانسپوزونها ۲۹
۱-۱-۱۹.مکانیسمهای ژنتیکی ۲۹
۱-۱-۱۹-۱. کونژوگاسیون ۲۹
۱-۱-۱۹-۲. ترانسدوکشن ۳۰
۱-۱-۱۹-۳. ترانسفورمیشن ۳۰
۱-۱-۲۰. بیماریزائی ۳۱
۱-۱-۲۰-۱. عفونتهای جلدی ۳۱
۱-۱-۲۰-۲. سندرم شوک سمی ۳۳
۱-۱-۲۰-۳. استئومیلیت ۳۳
۱-۱-۲۰-۴. پنومونی ۳۳

۱-۱-۲۰-۵. مسمومیت غذایی ۳۴
۱-۱-۲۰-۶. انتروکولیت استافیلوککی ۳۴
۱-۱-۲۱. تشخیص آزمایشگاهی ۳۴
۱-۱-۲۱-۱. نمونه برداری ۳۵
۱-۱-۲۱-۲. آزمایش میکروسکوپی ، کاتالاز ، کوآگولاز ، مانیتول سالت آگار ۳۵
۱-۱-۲۱-۳. کشت ۳۵
۱-۱-۲۱-۴. شناسائی استافیلوکک از میکروکک ۳۶
۱-۱-۲۱-۵. آزمایش حساسیت به نووبیوسین ۳۶
۱-۱-۲۲. درمان ۳۶
۱-۱-۲۳. عوامل ضد میکروبی ۳۷
۱-۱-۲۳-۱. داروهای موثر در درمان ۳۸
۱-۱-۲۳-۱-۱. داروهای دسته بتالاکتام ۳۸
۱-۱-۲۳-۱-۲. سایر داروها ۳۹
۱-۱-۲۴. مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی بیوتیکها ۳۹
۱-۱-۲۴-۱. مقاومت به آنتی بیوتیکهای دسته بتالاکتام ۳۹
۱-۱-۲۴-۲. مقاومت به تتراسایکلین ۴۱
۱-۱-۲۴-۳. مقاومت به آمینوگلیکوزیدها ۴۱
۱-۱-۲۴-۴. مقاومت به تری متوپریم ۴۱
۱-۱-۲۴-۵. مقاومت به فلوروکینولون ها ۴۲
۱-۱-۲۴-۶. مقاومت به فلزات سنگین ۴۲
۱-۱-۲۴-۷. مقاومت به آنتی بیوتیکهای گلیکوپپتیدی ، تیکوپلانین ، ونکومایسین ۴۲
۱-۱-۲۴-۸. مقاومت به اریترومایسین ۴۳

۱-۱-۲۵. استافیلوککهای مقاوم به متی سیلین ۴۳
۱-۱-۲۵-۱. ژنتیک در MRSA ۴۴
۱-۱-۲۵-۲. عملکرد ژن mecA ۴۶
۱-۱-۲۵-۳. منشأ ژن mecA ۴۷
۱-۱-۲۵-۴. تنظیم ژن mecA ۴۸
۱-۱-۲۶. شیوع استافیلوککهای اورئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA) در بیمارستانها ۴۸
۱-۱-۲۷. شناسائی مقاومت به اگزاسیلین (متی سیلین) در استافیلوککها ۴۹
۱-۱-۲۸. استافیلوککهای مقاوم به ونکومایسین ۵۰
۱-۱-۲۸-۱. منشأ ژن van ۵۱
۱-۱-۲۸-۲. ژنتیک van ۵۱
۱-۱-۲۸-۳. مکانیسم عمل ژن van ۵۳
۱-۱-۲۸-۴. مکانیسم عمل VISA وhVISA ۵۴
۱-۱-۲۸-۵. شناسائی VRSA وVISA در آزمایشگاه ۵۶

فصل دوم : مطالعات انجام گرفته

۲-۱. مروری بر مطالعات انجام شده ۵۸
۲-۱-۱. مروری بر مطالعات انجام گرفته در کشورهای خارجی ۵۸
۲-۱-۲. مروری بر مطالعات انجام گرفته در داخل کشور ۶۰

فصل سوم : مواد و روشها

۳-۱. جمع آوری نمونه های بالینی ۶۳
۳-۲. ذخیره سازی نمونه های جدا شده ۶۳
۳-۲-۱. روش تهیه محیط Skim milk پرل دار ۶۳
۳-۲-۲. طرز تهیه محیط های مولر هینتون آگار ۶۴

۳-۳. تائید سویه های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده ۶۴
۳-۳-۱. مواد مورد نیاز..... ۶۴
۳-۳-۲. رنگ آمیزی گرم و مشاهده مستقیم..... ۶۴
۳-۳-۳. آزمایش کاتالاز ۶۵
۳-۳-۴. آزمایش کواگولاز به روش لوله ای ۶۵
۳-۳-۵. آزمایش مانیتول سالت آگار ۶۵
۳-۴. مواد و وسایل لازم جهت انجام آزمایشهای تعیین حساسیت ۶۶
۳-۵. آزمایش دیسک دیفیوژن ۶۶
۳-۵-۱. محیط کشت ۶۶
۳-۵-۲. روش تهیه محلول استاندارد ۰/۵ مک فارلند..... ۶۶
۳-۵-۳. آماده سازی سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک فارلند ۶۷
۳-۵-۴. کنترل کیفی دیسکها ۶۷
۳-۳-۵. انجام آزمایش تعیین حساسیت به آنتی بیوتیک ۶۷
۳-۶. آزمایش MIC ۶۸
۳-۶-۱. مواد مورد نیاز ۶۸
۳-۶-۲. تهیه محیط کشت مولر هینتون آگار ۶۸
۳-۶-۳. کنترل کیفی نوارهای Etest مورد استفاده ۶۸
۳-۷. انجام آزمایش PCR ۶۹
۳-۷-۱. مواد و وسایل لازم ۶۹
۳-۷-۲. تهیه محلول ها و مخلوط های لازم برای واکنش PCR ۷۰
۳-۸. آنالیز داده ها ۷۳

فصل چهارم : نتایج

۴-۱. جمع آوری نمونه های بالینی ۷۵

۴-۲.نتایج حاصل ازآزمایش تعیین حساسیت به روش دیسک دیفیوژن برروی سویه جداشده..۷۸

۴-۳. نتایج حاصل از آزمایش تعیین حساسیت به روش Etest ۸۰

۴-۴. نتایج حاصل از آزمایش PCR بر روی سویه های جدا شده ۸۲

فصل پنجم : بحث , نتیجه گیری و پیشنهادها

بحث و نتیجه گیری نتایج.....۸۶

فهرست منابع ۹۴

چکیده انگلیسی.....۱۰۶

شکلها

عنوان صفحه

شکل ۱-۱. مقایسه دیواره سلول در باکتری های گرم مثبت..... ۱۲

شکل ۱-۲. چهار تیپ SCCmec در MRSA..... ۴۵

شکل ۱-۳. مکانیسم عمل ژن mecA..... ۴۶

شکل ۱-۴. ترانسپوزون Tn1546..... ۵۱

شکل ۱-۵. کلاستر ژن vanA..... ۵۲

شکل ۱-۶. نحوه عملکرد ژن vanA..... ۵۳

شکل ۱-۷. مکانیسم مقاومت به ونکومایسین..... ۵۴

شکل ۱-۸. مقاومت نسبی به ونکومایسین..... ۵۵

شکل ۳-۱. نوار E-test..... ۶۹

شکل ۴-۱. توزیع فراوانی نسبی ایزوله های جمع آوری شده در مراکز استانها..... ۷۵

شکل ۴-۲. توزیع فراوانی سن بیماران ۷۷

شکل ۴-۳. توزیع فراوانی جنس بیماران ۷۷

شکل ۴-۴. توزیع فراوانی ایزوله ها در نمونه های مختلف بالینی ۷۸

شکل ۴-۵. دیسک دیفیوژن ۷۸

شکل ۴-۶. فراوانی مقاومت ایزوله های جدا شده به آنتی بیوتیکها در روش دیسک دیفیوژن..... ۷۹

شکل ۴-۷. فراوانی نسبی مقاومت ایزوله های جدا شده از خون در روش دیسک دیفیوژن..... ۷۹

شکل ۴-۸. فراوانی نسبی مقاومت ایزوله های جدا شده از ادرار در روش دیسک دیفیوژن..... ۸۰

شکل ۴-۹. فراوانی نسبی مقاومت ایزوله های جدا شده از زخم در روش دیسک دیفیوژن..... ۸۰

شکل ۴-۱۰. Etest ۸۱

شکل ۴-۱۱. فراوانی نسبی مقاومت به ونکومایسین ومتی سیلین باتعیینMICبا روشEtest..۸۱
شکل ۴-۱۲. نتیجه واکنش PCR برای ژن mecA با اندازه 533 pb ۸۲
شکل ۴-۱۳. نتیجه واکنش PCR برای ژن vanB با اندازه 628 pb ۸۳
شکل ۴-۱۴. نتیجه واکنش PCR برای ژن vanA با اندازه 1036 pb ۸۳
شکل ۴-۱۵. فراوانی نسبی ژن مقاومت به ونکومایسین و متی سیلین در ایزوله های مقاوم.....۸۴
شکل ۴-۱۶. فراوانی نسبی ژن مقاومت به ونکومایسین و متی سیلین در ۲۵۰ ایزوله ۸۴

چکیده :

استافیلوکوک اورئوس بعنوان یکی از شایعترین عوامل عفونت های بیمارستانی مطرح می باشد . امروزه گزارشهای وجود دارد که نشان میدهد شیوع مقاومت به متی سیلین در استافیلوکوکوس اورئوس درمناطق مختلف جهان در حال افزایش می باشد. هچنین تعدادی گزارش در مورد شیوع مقاومت به ونکومایسین درمیان سویه های استافیلوکوکوس اورئوس وجود دارد. . بر این اساس هدف از این مطالعه بررسی وجود مقاومت به متی سیلین و ونکومایسین در استافیلوکوک اورئوس می باشد. مقاومت به متی سیلین بوسیله ژن mecA کد میشود که نوعی PBP2a را کد میکند که میل ترکیبی پایینی به بتالاکتامازها دارند . بنابراین پپتیدوگلیکان در حضور آنتی بیوتیک های بتالاکتامی ساخته می شود. مقاومت گلیکوپپتیدی بوسیله کسب ژن vanA تسهیل می شود. منشا ژن vanA انتروکک بوده و باعث تولید آنزیمهای می شود که باعث تغییر در پپتیدوگلیکان شده که در نهایت عدم اتصال ونکومایسین را منجر می شود. بررسی ایزوله های VISA و hVISA تغییر در ضخامت دیواره سلولی را نشان می دهد. این تغییر با افزایش دی-آلانیل-دی-آلانین در لایه های خارجی همراه است و باعث می شود مولکولهای بزرگ ونکومایسین قادر به ورود بدرون باکتری نباشند. در نتیجه با جلوگیری از دسترسی دارو به سایت هدف از غلظت مهار کنندگی دارو جلوگیری میکنند.

در این تحقیق در ابتدا ۲۵۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس با آزمایشهای تشخیصی شامل : رنگ آمیزی گرم , کاتالاز , کوآگولاز و مانیتول سالت آگار مورد بررسی قرار گرفتند . سپس مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله ها به روش دیسک دیفیوژن مورد بررسی قرار گرفت ، درصد مقاومت آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن بشرح ذیل بود : متی سیلین ۴۶٪، ونکومایسین ۰٪ (۵٪ ایزوله ها دارای مقاومت نسبی به ونکومایسین)، پنی سیلین ۸۶٪ , اریترومایسین۴۲٪ ، سیپروفلوکساسین ۲۹٪ , جنتامیسین ۳۹٪ و کلیندا مایسین ۳۳٪ بوده است . در مرحله دوم برای ایزوله های مقاوم به ونکومایسین و متی سیلین از روش E-test استفاده گردید. نتایج حاصله از تعیین MIC به روش E-test نشان داد که ۴۳٪ ایزوله ها به متی سیلین مقاوم بودند و ۴٪ ایزوله ها دارای مقاومت نسبی به ونکومایسین بوده اند (با MIC ≤۴µg/ml) . در مرحله سوم از واکنش زنجیره ای پلیمراز جهت آنالیز ژنهای mecA و vanA و vanB استفاده گردید.

شیوع ژنهای مقاومت در ایزوله های مقاوم بشرح ذیل می باشد : mecA 95% , vanA 0% , vanB 0%.

این تحقیق نشان داد که مقاومت نسبتا بالائی به متی سیلین ، اریترومایسین , جنتامیسین , پنی سیلین و کلیندامایسین وجود دارد ولی علیرغم مقاومت نسبی به ونکومایسین , ونکومایسین کماکان آنتی بیوتیک با ارزش در درمان عفونتهای استافیلوکوکوس اورئوس است.

گل واژه : استافیلوکوک اورئوس – MRSA– VRSA – VISA – E-test و PCR

فصل اول

کلیات

۱-۱ . استافیلوککها

۱-۱-۱ . تاریخچه

Ogston نام استافیلوکوکوس را برای میکروکوکس عامل عفونت , التهاب و ترشحات چرکی بکار برد . پاستور مشاهده کرد که باکتریهای کروی کوچک در چرک و استنومیلیت حضور دارند و فکر کرد که این باکتری ها ممکن است بیماریزا باشند . در واقع پاستور باکتریهای را که ogston شرح داده بود مشاهده کرد .

اولین بار Rosenbach جنس استافیلوکک را شرح داد و آن را به دو گروه S.albus و S.aureud تقسیم کرد . Passet سومین گونه را بنام S.citreus به آن اضافه کرد .

Von Daranyi در سال ۱۹۲۵ اولین فردی بود که به ارزش انعقاد پلاسما جهت تشخیص استافیلوکوکوس اورئوس در آزمایشگاه توجه کرد. (تست کوآگولاز).

Bradford , Evans و Viven در سال ۱۹۵۵ پیشنهاد کردند که استافیلوکوکوس و میکروکوکوس برمبنای تست OF از هم تفریق داده شوند. کوکسیهای بیهوازی اختیاری در جنس استافیلوکوکوس و کوکسی های هوازی اجباری در جنس میکروکوکوس جای داده شدند.

در سال ۱۹۶۳ Barid – Parker با استفاده از خصوصیات مورفولوژیک , فیزیولوژیک و بیوشیمیائی استافیلوکک ها را از میکروکوک ها جدا نمودند. سالهای بعد Barid – Parke در سالهای ۱۹۷۴-۱۹۶۵ گونه های استافیلوکوکوس اورئوس[1] , اپیدرمیدیس و ساپروفیتیکوس را شناسائی کردند .

1-Staphylococcus aureus

Prevot در سال ۱۹۶۱ بیان داشت کوکسی گرم مثبت و کاتاز مثبت که DNA آن ۳۹-۳۰ درصد G+C دارد مشخص کننده استافیلوکوکوس است در حالیکه میزان C+G میکروکوکس ۷۳-۶۳ درصد است .

جدیدترین مطالعه سیستماتیک در سالهای ۱۹۸۶-۱۹۷۲, استافیلوکوکس و میکروکوکس و دیگر باکتریها را بر مبنای ترکیبات دیواره سلولی , سیتوکرومها , مناکینون ها , اسیدهای چرب , لیپیدهای قطبی , هیبریدیزاسیون DNA و مقایسه 16 SrRNA از هم افتراق داد [۲و۱] .

۱-۱-۲ . تعریف :

واژه استافیلوکوکس از دو کلمه یونانی استافیل به معنای خوشه انگور و کوکوس به معنای دانه تشکیل شده است . چون این باکتریها گرد بوده و شبیه خوشه انگور پهلوی هم قرار می گیرند به آنها استافیلوکک می گویند .

اعضای جنس استافیلوکک , کوکسی های گرم مثبت کروی شکل هستند , که در جهات مختلف تقسیم شده و تمایل به آرایش شبیه خوشه انگور دارند . اما برخی سلول ها به صورت تکی , دوتائی و زنجیره ای کوتاه نیز دیده می شوند . شبیه سایر کوکسی های مهم پزشکی فلاژل ندارند , غیر متحرکند و تشکیل اسپور نمی دهند . استافیلوکک ها در شرایط هوازی به خوبی رشد می کنند اما بی هوازی اختیاری هستند و می توانند کربوهیدراتهای مختلفی را اکسید و یا تخمیر نمایند .

این باکتریها حدود ۱/۵-۰/۵ میکرومتر قطر دارند . نوترینت براث یا آگار غنی شده می تواند رشد باکتری را حمایت کند متوسط زمان تقسیم این باکتری در حدود ۲۰ دقیقه است . استافیلوکک ها بر خلاف استرپتوکک ها کاتالاز مثبت هستند ولی مواردی از کاتالاز منفی نیز گزارش شده است . اغلب گونه های استافیلوکک در ۴۰-۱۸ درجه سانتی گراد و محیط های حاوی ۱۰ درصد کلرورسدیم رشد می کنند . استافیلوکک نسبت به فورازولیدون حساس اما به باسیتراسین مقاوم می باشند . لیزواستافین با تجزیه پیوند عرضی گلایسین – گلایسین دیواره سلولی باعث لیز استافیلوکک ها نسبت به لیزوزیم مقاومت دارد.

جنس استافیلوکک حداقل ۳۰ گونه دارد , سه گونه مهم از نظر بالینی استافیلوکوکوس اورئوس , استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس , استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس هستند .

استافیلوکوکوس اورئوس بر روی اکثر محیطهای کشت از قبیل آگار غذائی و غیره بخوبی رشد می کند . کلنی های این باکتری غالبا" به صورت مات , گرد , اندکی محدب و به رنگ زرد و قطر آنها بین ۱ الی ۴ میلی متر است . استافیلوکوکوس اورئوس کاتالاز مثبت , اکسیداز منفی , احیاء نیترات و DNase مثبت است . گلوکز و مانیتول را در شرایط هوازی و بی هوازی مورد استفاده قرار می دهد [۵و۳] .

۱-۱-۳ . محل استقرار طبیعی

استافیلوکوکها گروه بزرگی از باکتری ها هستند که در پوست , غشاء مخاطی پستانداران جایگزین می شوند . در انسان استافیلوککهایی که روی پوست زندگی می کنند , در کانالهای فولیکولی , مجرای خروجی غدد عرق , غدد سباسه یافت می شوند . این باکتریها روی سطح پوست بصورت میکروکلونی وجود دارند . پوست سر و صورت , مجرای خروجی گوش, بخش قدامی سوراخهای بینی , نواحی مرطوب و چین دار پوست محلهایی برای استقرار استافیلوککها هستند . سوراخهای بینی و ناحیه پرینه از عمده ترین مراکز استقرار استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس می باشد . استافیلوککها به سلولهای اپی تلیال این نواحی می چسبند . چسبندگی استافیلوکوکوس اورئوس به سلولهای اپی تلیال مجرای بینی ناقلین این باکتری خیلی بیشتر از افراد غیر ناقل می باشد .

میزان ناقل بودن استافیلوکک قبل از سن بلوغ بیشتر از بالغین است . در بالغین میزان ناقل بودن از ۱۰ تا ۴۰ درصد متغیر است . استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس همیشه در بخش قدامی مجاری بینی یافت می شود و گونه غالب این محل می باشد . هر چند روی پوست انسان نیز به میزان زیادی مستقر است . سویه های معینی از استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس قادرند برای ماهها یا سالها در پوست اقامت داشته باشند . استافیلوکوکوس هومینیس می تواند بطور وسیعی روی پوست انسان استقرار یابد که معمولا" از استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس کمتر است . هر دو این باکتریها میزان بالای اسیدهای چرب