بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه تبریز

دانشکده علوم طبیعی

گروه علوم جانوری

پایان نامه:

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست شناسی گرایش ژنتیک

موضوع:

بررسی پلی‌مورفیسم ژن spa در استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از نمونه‌های دامی در تبریز

استادان راهنما :

دکتر محمدعلی حسین پور فیضی دکتر غلامرضا زرینی

استاد مشاور:

دکتر فرزام شیخ زاده حصاری

پژوهشگر:

مهدی طهماسبی

شهریور ۱۳۹۰

بسم الله الرحمن الرحیم هست کلید در گنج حکیم

سپاس بی کران پروردگار یکتا را که هستی مان بخشید و به طریق علم و دانش رهنمونمان شد و به همنشینی رهروان علم و دانش مفتخرمان نمود و خوشه چینی از علم و معرفت را روزیمان ساخت.

در آغاز وظیفه خود می دانم از جناب آقای دکتر محمد علی حسین پور فیضی استاد راهنمای خود که علاوه بر استادی، حق پدری بر گردنم دارند تشکر کنم. از جناب آقای دکتر غلامرضا زرینی استاد راهنمایم که تمام آموخته‌های خود در آزمایشگاه میکروبیولوژی را مرهون زحمات بی دریغ ایشان می دانم صمیمانه سپاسگذارم و قطعاً بدون راهنمایی های ارزنده ی شان، این مجموعه به انجام نمی رسید. از جناب آقای دکتر فرزام شیخ زاده مدیر گروه و مشاور محترم که مرا در تنگناها مشاوره دادند کمال امتنان را دارم و نیز از جناب آقای دکتر رضا صفر علیزاده که زحمت مطالعه و داوری پایان نامه را تقبل فرمودند و از توصیه های به جا و پخته ی ایشان استفاده کردم تشکر می کنم.

در فراز و نشیب های این پایان نامه سعادتمند بودم چرا که از راهنمایی‌های ارزنده ی هم کار آزمایشگاهی و هم کلاسی محترم خانم ریحانه روانبخش بهره مند گشتم که به حق ایشان را استاد راهنمای دیگرم می دانم.

در تهیه نمونه ها از افراد بسیاری که نام بردن یکایک آن ها در اینجا امکان پذیر نیست کمک گرفتم اما جای دارد از جناب آقای دکتر مسافری و آقای مهندس مهدوی به شکل ویژه تشکر نمایم.

همچنین بر خود واجب می دانم که از مساعدت کارشناسان محترم آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی و رادیوبیولوژی خانم ها خدایی و آذرفام و نیز دوست و هم کار خوبم در آزمایشگاه میکروبیولوژی آقای محسن اباذری تشکر کنم. از هم کلاسی‌های گرامی ام در دانشگاه تبریز آقایان عزیز خرمی و نیکوفتوحی و خانم زهرا نوری که افتخار بودن در یک کلاس با آن ها نصیبم شد بسیار سپاسگذارم.

تقدیم به پدر و مادرم

آنان که راستی قامتم در شکستگی قامتشان تجلی یافت و قفسوس جوانیشان به پای روشنایی حیات من سوخت. در برابر وجود گرانمایشان زانوی ادب بر زمین می نهم و با دلی سرشار از عشق و محبت بر دستان پر مهرشان بوسه می زنم.

تقدیم به خواهران عزیزم

که وجودشان شادی بخش و صفایشان مایه آرامش من است.

نام خانوادگی دانشجو: طهماسبی نام : مهدی

عنوان: بررسی پلی‌مورفیسم ژن spa در استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از نمونه‌های دامی در تبریز

استادان راهنما: دکتر محمدعلی حسین پور فیضی و دکتر غلامرضا زرینی

استاد مشاور: دکتر فرزام شیخ زاده حصاری

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد رشته: زیست‌شناسی گرایش: ژنتیک

دانشگاه: تبریز دانشکده: علوم طبیعی

تاریخ فارغ التحصیلی: ۱۳۹۰ تعداد صفحات:

واژگان کلیدی: : استافیلوکوکوس اورئوس، پروتئین A ، ژن spa، واکنش زنجیره ای پلیمراز، آنتی‌بیوگرام

چکیده:

استافیلوکوکوس اورئوس در سطح پوست و غشاهای موکوسی به خصوص در بخش فوقانی لوله‌ی تنفسی و گوارشی حیوانات یافت می‌شود. پروتئین A یکی از مهمترین فاکتورهای بیماری‌زایی استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد. این پروتئین سطحی، متصل به پپتیدوگلیکان بوده و جزء فاکتورهای بیماری‌زای تولید شده در فاز اول بیماری است. رابطه‌ای بین سطح بیان پروتئین A در ایزوله‌های طبیعی و مقاومت آن‌ها نسبت به فاگوسیتوز وجود دارد. ویژگی اصلی پروتئین A توانایی اتصال انتخابی به بخش Fc از ایمونوگلوبولینG (IgG) و آزاد گذاشتن جایگاه اتصال به آنتی‌ژن می‌باشد. ژن کد کننده‌ی پروتئین A (spa) دارای توالی پلی‌مورفی به نام ناحیه‌ی Xr می‌باشد که از تعداد متغیری از ۳ تا ۱۵ تکرار متوالی واحدهای bp ٢٤ ای تشکیل شده است. تعداد تکرارها با قدرت شیوع استافیلوکوکوس اورئوس رابطه دارد. سوش‌های با بیش از هفت تکرار در ناحیه‌ی Xr تمایل به اپیدمیک بودن دارند در حالی که سوش‌های با تعداد تکرار کمتر یا برابر هفت، سوش‌های غیر اپیدمیک هستند. در این مطالعه ۲۰ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس از شیر دام‌های با ورم پستان بالینی، تحت‌بالینی و سالم با روش‌های مرسوم و تست‌های بیوشیمیایی جداسازی گردید. به منظور ارزیابی پلی‌مورفیسم تعداد تکرار در ناحیه Xr ژن spa نمونه‌های جدا شده، از روش PCR استفاده شد. سپس مقدار مقاومت نمونه‌های جدا شده نسبت به چهار آنتی‌بیوتیک رایج به روش استاندارد انتشار دیسک ارزیابی گشت. در مجموع پنج دسته‌ی پلی‌مورف شناسایی شد و بزرگ‌ترین آن‌ها با طول bp ٣٦٥ توالی‌یابی گردید. فراوانی گروه‌های پلی‌مورف مختلف متفاوت می‌باشد و بیشترین فراوانی متعلق به گروه با ده تکرار و پس از آن گروه با هفت تکرار است. در مجموع ۸۰٪ سوش‌ها با

بیش از هفت تکرار در ناحیه‌ی Xr ژن spa و ۲۰٪ سوش‌ها دارای هفت تکرار بود که این داده‌ها با یافته‌های پیشین مطابق است. به دلیل این که پلی‌مورفیسم‌های حاشیه‌ای یعنی تعداد تکرارهای ٦–۲ و همچنین ۱۵–۱۲ دیده نشد، چنین می‌توان گفت که پلی‌مورفیسم‌های در محدوده‌ی متوسط (۱۱–۷) به طور مستقیم هدف انتخاب قرار می‌گیرند. نتایج تست آنتی‌بیوگرام نشان می‌دهد که مقاومت آنتی‌بیوتیکی سوش‌های جدا شده ارتباطی به نوع پلی‌مورفیسم آن‌ها ندارد و سوش‌های مقاوم و حساس در تمام پنج تایپ جداشده‌ی ژن spa به طور تصادفی حضور دارند. نمونه‌های مطالعه شده حداقل نسبت به یکی از آنتی‌بیوتیک‌های معمول حساس می‌باشند و برای کنترل بیماری می‌توان از آنتی‌بیوتیک مورد نظر استفاده کرد.

فهرست مطالب

مقدمه ۱

۱-۱ استافیلوکوکوس اورئوس ۳

۱-۱-۱ ویژگی‌های اصلی ٤

۱-۱-۲ اهمیت پزشکی استافیلوکوکوس اورئوس ۵

۱-۱-۳ اهمیت استافیلوکوکوس اورئوس در دامپزشکی ۹

۱-۱-٤ روش‌های شناسایی بیماری‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس ۱۰

۱-۱-۵ کشت استافیلوکوکوس اورئوس ۱۲

۱-۱-٦ فاکتورهای موثر در بیماری‌زایی استافیلوکوکوس اورئوس ۱۲

۱-۲ ژنوم استافیلوکوکوس اورئوس ۱۷

۱-۳ روش‌های تایپینگ استافیلوکوکوس اورئوس ۲٤

۱-۳-۱ روش‌های بدون تکثیر DNA ۲۵

۱-۳-۲ روش‌های با تکثیر DNA ۳۱

۱-۳-۳ روش‌های بر پایه‌ی تعیین توالی مستقیم DNA ۳۹

۱-۳-٤ روش‌های مولکولی پربازده جدید ٤۲

۱-٤ بیماری ورم پستان ٤٤

۱-٤-۱ اشکال ورم پستان ٤۵

۱-٤-۲ بیماری‌زایی ٤٦

۱-۵ پروتئین A ۵۱

۱-۵-۱ عملکرد پروتئین A به عنوان یکی از فاکتورهای بیماری‌زایی ۵۲

۱-۵-۲ استفاده از پروتئین A در تکنیک‌های ایمونولوژی .....۵٦.....

۱-٦ ژن spa .....۵۷.....

۱-۷ مقاومت آنتی‌بیوتیکی .....۵۹.....

۱-۷-۱ مقاومت به پنی‌سیلین .....۵۹.....

۱-۷-۲ مقاومت به متی‌سیلین .....٦۰.....

۱-۷-۳ مقاومت به ونکومایسین .....٦۱.....

۲-۱ مواد و دستگاه‌ها .....٦۲.....

۲-۱-۱ دستگاه‌ها .....٦۲.....

۲-۱-۲ مواد مورد استفاده .....٦۳.....

مواد مصرفی عمومی .....٦۳.....

مواد مصرفی شیمیایی .....٦٤.....

مواد مصرفی شیمیایی استفاده شده جهت اجرای پایان‌نامه در جدول ۲-۳ آمده است. ٦٤.

۲-۲ روش‌ها .....٦۷.....

۲-۲-۱ نمونه‌گیری .....٦۷.....

۲-۲-۲ شناسایی باکتری .....٦۷.....

۲-۲-۳ کشت باکتری .....٦۸.....

۲-۲-٤ رنگ‌آمیزی گرم .....۷٦.....

۲-۲-۵ واکنش کاتالاز .....۷۸.....

۲-۲-٦ تست کوآگولاز .....۷۸.....

۲-۲-۷ طراحی پرایمر با استفاده از اطلاعات پایگاه داده‌ها (وب سایت NCBI) .۸۱.....

۲-۲-۸ استخراج DNA ژنومی ۸۱
۲-۲-۹ بررسی پلی‌مورفیسم ناحیه‌ی Xr ژن spa ۸۲
۲-۲-۱۰ آنتی‌بیوگرام ۹۲
۲-۲-۱۱ توالی‌یابی ۹٤
۳-۱ نتایج شناسایی باکتری ۹۵
۳-۱-۱ مشاهدات میکروسکوپی ۹۵
۳-۱-۲ مشاهدات ماکروسکوپی ۹٦
۳-۱-۳ نتایج تست کاتالاز ۹٦
۳-۱-٤ نتایج تست کوآگولاز ۹۷
۳-۲ تعداد نمونه‌های مثبت جدا شده ۹۸
۳-۳ نتایج بررسی پلی‌مورفیسم تعداد تکرار ناحیه‌ی Xr ژن spa ۹۸
۳-٤ نتایج تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی ۱۰۰
۳-۵ رابطه‌ی بین پلی‌مورفیسم ناحیه‌ی Xr ژن spa و مقاومت آنتی‌بیوتیکی سوش‌ها ... ۱۰۲
۳-٦ نتایج تعیین توالی ۱۰۳
۳-۷ توالی آمینواسیدی بخش Xr پروتئین A استافیلوکوکی (SpA) بدست آمده از روی توالی DNA ۱۰٤
٤-۱ اهمیت مطالعات اپیدمیولوژی ورم پستان ۱۰۵
٤-۲ اهمیت پلی‌مورفیسم ژن spa در شناسایی سوش‌های اپیدمیک ۱۰۵
٤-۳ تفسیر نتایج بررسی پلی‌مورفیسم ژن spa و ارتباط تکاملی آن ۱۰۷
٤-٤ ارتباط مقاومت آنتی‌بیوتیکی و نوع پلی‌مورفیسم ژن spa ۱۰۷

٤-٥ درمان ورم پستان ۱۰۸

٤-٦ رویکردهای درمانی جدید ۱۰۹

٤-٧ پیشنهادات ۱۱۱

منابع و مآخذ ۱۱۲

پیوست ۱۲۵

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس از باکتری‌های بیماری‌زایی است که توانایی ایجاد بیماری‌های مختلفی را در انواع متنوعی از میزبان‌ها دارد. ورم پستان در بین شایع‌ترین بیماری‌های گاوهای شیرده قرار دارد و استافیلوکوکوس اورئوس مسئول بخش قابل توجهی از موارد ورم پستان بالینی و ورم پستان تحت بالینی در احشام شیرده می‌باشد و همچنین پاتوژن اصلی نوع واگیر ورم پستان است که در هنگام شیردوشی در دام‌ها انتقال می‌یابد. این بیماری هر ساله زیان‌های اقتصادی فراوانی را در صنایع تولید لبنیات به همراه دارد. سوش‌های مختلف استافیلوکوکوس اورئوس در قابلیت انتشار و توانایی ایجاد عفونت در غدد پستانی متفاوت می‌باشند. در مطالعات اپیدمیولوژی یافتن سوش اپیدمیک و منبع آلودگی اهمیت دارد که برای این منظور از روش‌های تایپینگ استفاده می‌شود. در گذشته برای تشخیص منبع آلودگی از روش‌های فنوتیپی استفاده می‌شد. الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در یافتن منبع عفونت‌های استافیلوکوکوس اورئوس کمک کننده می‌باشد اما با محدودیت‌هایی روبه رو است. به دلیل پایداری بیشتر ویژگی‌های ژنوتیپی نسبت به فنوتیپ، روش‌های تایپینگ ژنوتیپی نتایج تکرار پذیر و قابل اعتمادتری به دست می‌دهند. بنابراین روش‌های تایپینگ ژنوتیپی که پلی‌مورفیسم‌های مختلف را در ژنوم باکتری ارزیابی می‌کنند، مورد توجه می‌باشند و امروزه بیشتر روش‌های تعیین تایپ مولکولی در بررسی‌های اپیدمیولوژی عفونت‌های استافیلوکوکوس اورئوس مورد استفاده قرار می‌گیرند. استافیلوکوکوس اورئوس فاکتورهای بیماری‌زایی بسیاری را تولید می‌کند که در بین آن‌ها پروتئین A نقش حیاتی در آلوده کردن غدد پستانی و ایجاد بیماری دارد. پروتئین A جزء متصل به دیواره‌ی سلولی استافیلوکوکوس اورئوس است. ویژگی اصلی پروتئین A توانایی اتصال انتخابی به

ایمونوگلوبولین‌ها به ویژه ایمونوگلوبولین G (IgG) می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی پلی‌مورفیسم ژن پروتئین A در استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از نمونه‌های شیر گاو در شهر تبریز و تعیین فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف می‌باشد. چون پروتئین A یکی از عوامل و فاکتورهای بیماری‌زای باکتری است بررسی پلی مورفیسم و رابطه‌ی آن با شدت بیماری‌زایی و یا مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌تواند از اهمیت بالایی برخوردار باشد. گزارشات متعددی از پلی‌مورفیسم ژن spa در نمونه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از انسان ارائه شده است ولی این گزارشات در مورد نمونه‌های دامی محدود بوده است. در ایران و به خصوص منطقه، بررسی پلی‌مورفیسم این ژن بسیار محدود بوده و از این رو انجام چنین بررسی به ویژه در نمونه‌های دامی لازم به نظر می‌رسد.

فصل اول

بررسی منابع

۱-۱ استافیلوکوکوس اورئوس[1]

استافیلوکوکوس اورئوس در فوق‌فرمانروی Bacteria، شاخه‌ی Firmicutes، کلاس Bacilli، رده‌ی Bacillales، خانواده‌ی Staphylococcaceae و جنس Staphylococcus طبقه‌بندی می‌شود [۱]. استافیلوکوکوس اورئوس در بین شایع‌ترین باکتری‌های پاتوژن و پاتوژن فرصت‌طلب قرار دارد. در حال حاضر ۳۷ گونه استافیلوکوکوس شناخته شده است که نه گونه دارای دو زیرگونه و یک گونه دارای سه زیرگونه می‌باشند [۲]. برخی اعضای جنس استافیلوکوکوس مربوط به انسان و بعضی دیگر فقط در حیوانات یافت می‌شوند. بر پایه‌ی توانایی تولید کوآگولاز آزاد استافیلوکوکوس‌ها به صورت سنتی به دو گروه تقسیم می‌شوند: گونه‌های کوآگولاز مثبت که بیماری‌زا در نظر گرفته می‌شوند و گونه‌های کوآگولاز منفی که خطر کمتری دارند. استافیلوکوکوس اورئوس که پاتوژن انسان و نیز حیوانات است مطرح‌ترین گونه‌ی کوآگولاز مثبت می‌باشد. حیوانات میزبان گونه‌های کوآگولاز مثبت دیگر غیر از استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشند [۲]. گونه‌های باکتریایی جنس استافیلوکوکوس که به عنوان پاتوژن مهم انسان و حیوانات شناخته می‌شوند، عامل تعدادی از بیماری‌های عفونی شدید می‌باشند. این گونه‌ها استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس[2] و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس[3] می‌باشند. استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت بوده و همین امر آن را از انواع دیگر استافیلوکوکوس‌ها متمایز می‌سازد [۳]. استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز منفی جز فلور طبیعی بدن انسان هستند و گاهی موجب عفونت می‌شوند که اغلب در ارتباط با عفونت در اندام‌های مصنوعی و تدابیر پزشکی به ویژه در کودکان، سالمندان و بیماران مبتلا به نارسایی ایمنی می‌باشد. حدود ۷۵٪ از

[1] - Staphylococcus aureus
[2] - Staphylococcus epidemidis
[3] - Staphylococcus saprophyticus

عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز منفی توسط استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ایجاد می‌شوند و عفونت سایر استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز منفی شایع نیست. استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس عامل عفونت مجرای ادراری در زنان است. به دلیل افزایش بیماری‌زایی و گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی خصوصیات استافیلوکوکوس اورئوس و قدرت بیماری‌زایی آن بسیار مورد مطالعه واقع شده است [۳].

۱-۱-۱ ویژگی‌های اصلی

استافیلوکوکوس اورئوس از پاتوژن‌های مهم انسان است که برای اولین بار توسط الکساندر اگستون[1] در سال ۱۸۸۱ گزارش شد [٤]. اگستون پس از آنالیز عفونت‌های چرکی موفق به شناسایی خوشه‌هایی از سلول‌های طلایی شد و توانست با تلقیح مواد عفونی از بیماران به افراد سالم عفونت را تکرار نماید [۵]. استافیلوکوکوس اورئوس همسفره‌ی معمول پوست و سطوح موکوسی لوله‌های تنفسی انسان است. این باکتری گرم مثبت ۱/۵-۰/۵ میکرون قطر داشته و به صورت منفرد، دوتایی و در خوشه‌هایی نامنظم دیده می‌شود. استافیلوکوکوس اورئوس غیرمتحرک و غیراسپورزا می‌باشد، همچنین بی‌هوازی اختیاری است و فعالیت کاتالاز نشان می‌دهد ولی در شرایط هوازی رشد بهتری دارد. توانایی رشد در غلظت ۱۰٪ سدیم‌کلرید و دامنه‌ی دمایی ٤۰-۱۸ درجه‌ی سانتی‌گراد را دارد و نسبت به لیزوستافین حساس است و در حضور این ماده لیز می‌شود [٦]. استافیلوکوکوس اورئوس توانایی رشد در محیط آگار خون‌دار غیرانتخابی، نوترینت آگار، تریپتون سوی آگار (TSA) ، Brain heart infusion agar را دارد و کلنی‌ها معمولاً طی ۲٤ ساعت بعد از انکوباسیون در ۳۷-۳۵ درجه‌ی

[1] - Alexander Ogston

سانتی‌گراد پدیدار می‌شوند. کلنی‌های استافیلوکوکوس اورئوس با قطر ۳-۱ میلی‌متر معمولاً درشت هستند و به طور کلی صاف، کمی برآمده و در بلاد آگارهای معمولی همولیتیک می‌باشند. کلنی بیشتر سوش‌ها رنگی است و رنگ آن از زرد کرمی تا نارنجی متغیر است [۷]. رنگ طلایی حاصل از کاروتنوئیدها معمولاً قابل رویت است و به نظر می‌رسد از باکتری در مقابل اشعه فرابنفش محافظت می‌کند. از خصوصیات فنوتیپی استافیلوکوکوس اورئوس که به شناسایی آن کمک می‌کند می‌توان به تولید آنزیم کوآگولاز، آنزیم دئوکسی ریبونوکلئاز و تولید اسید از برخی کربوهیدرات‌ها مثل ترهالوز، مانیتول و مالتوز اشاره کرد [۷]. کوآگولاز معمولاً به عنوان علامتی مبنی بر بیماری‌زا بودن استافیلوکوکوس اورئوس استفاده می‌شود اما شواهد کمی نشان می‌دهد که واقعاً یک فاکتور بیماری‌زایی است. تست کوآگولاز اسلایدی و لوله‌ای معمولاً به عنوان روش‌های مرسوم استاندارد شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس استفاده می‌شوند. چندین تست برای شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس به صورت تجاری در دسترس می‌باشند. این تست‌ها شامل هماگلوتینین و آگلوتیناسیون ذرات لاتکس و آنتی‌بادی‌های منوکلونال پلی‌ساکاریدهای کپسول می‌باشند. آزمایشگاه‌های بالینی بزرگ ممکن است از کیت‌های شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس و یا سیستم‌های اتوماتیکی مثل Microscan، Vitek و یا BD Phoenix برای مقاصد تشخیصی استفاده کنند [۱۰-۸].

۱-۱-۲ اهمیت پزشکی استافیلوکوکوس اورئوس

استافیلوکوکوس اورئوس در طبیعت گسترش فراوان دارد هرچند معمولاً به صورت زنده روی پوست و غشاهای موکوسی پستانداران یافت می‌شود. ممکن است در دهان، غدد پستانی، روده و لوله‌های ادراری تناسلی و تنفسی فوقانی یافت شود. معمولاً حدود ۳۰-۲۵ ٪ از افراد سالم جمعیت

حامل استافیلوکوکوس اورئوس روی پوست و یا حفره‌ی بینی می‌باشند [۱۱]. با این حال استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان پاتوژن فرصت‌طلب انسان در نظر گرفته می‌شود و به عنوان یک پاتوژن مهم در سرایت‌های بیمارستانی علت اصلی گسترش بیماری و مرگ و میر است. عفونت‌های ایجاد شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس عموماً حاد و چرکی است و ممکن است به بافت‌های اطراف گسترش یابد و یا از طریق گردش خون به جایگاه‌های ثانویه سرایت کند. انواع اشکال بالینی عفونت‌های پوستی استافیلوکوکوس اورئوس شامل دمل[۱]، کفگیرک[۲]، آماس بافت همبند[۳]، زردزخم[۴] و یا عفونت‌های زخم بعد از جراحی نواحی مختلف است. استافیلوکوکوس اورئوس همچنین عفونت‌های بسیار جدی‌تری مثل باکتریمی، پنومونی، اندوکاردیت حاد، استئومیلیت[۵]، میوکاردیت[۶]، پریکاردیت[۷]، سربریت[۸]، کوریوآمنیونیت[۹]، سندرم فلسی شدن پوست[۱۰]، منتژیت[۱۱] و آبسه‌ی ماهیچه‌ها، لوله‌های ادراری تناسلی، سیستم عصبی مرکزی (CNS) و ارگان‌های درون شکمی متنوعی را ایجاد می‌نماید [۷]. انتروکولیت استافیلوکوکی اصولاً در انسان بعد از درمان طولانی با آنتی‌بیوتیک مثلاً بعد از جراحی روده، دیده می‌شود [۱۲]. مسمومیت غذایی نوع دیگری از عفونت‌های استافیلوکوکوس اورئوس در جامعه است. از آنجایی که بسیاری از سوش‌های استافیلوکوکوس اورئوس انتروتوکسین‌ها را تولید می‌کنند حضور استافیلوکوکوس اورئوس در مواد غذایی سلامت عمومی را به مخاطره می‌اندازد [۱۳]. علائم اصلی مسمومیت غذایی ایجاد شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس،

---

1 - Boil
2 - Furuncle
3 - Cellulitis
4 - Impetigo
5 - Osteomyelitis
6 - Myocarditis
7 - Pericarditis
8 - Cerebritis
9 - Chorioamnionitis
10 - Scaled skin syndrome
11 - Meningitis

استفراغ و اسهال ٤-۲ ساعت بعد از مصرف ماده‌ی غذایی آلوده می‌باشد. بیماری ممکن است نسبتاً ملایم باشد و پس از چند ساعت بهبودی حاصل شود اما در برخی موارد بیمار نیاز به بستری شدن دارد. توانایی استافیلوکوکوس اورئوس برای بقا و رشد در مواد غذایی با استرس یونی و اسمزی بالا ناشی از بالا نگه داشتن غلظت درون‌سلولی حفاظت کننده‌های اسمزی[1] و توانایی در جذب این مواد از محیط با فعالیت چندین سیستم انتقالی در پاسخ به استرس می‌باشد [١٤]. سندرم شوک سمی یک بیماری اکتسابی از جامعه است که توسط عفونت‌های استافیلوکوکوس اورئوس ایجاد می‌شود. سندرم شوک سمی یک بیماری حاد و کشنده است که با تب بالا، راش‌های اریتروماتوز پراکنده، کاهش فشار خون[2]، پوسته پوسته شدن پوست ۲-۱ هفته بعد از وقوع بیماری و درگیری سه یا تعداد بیشتری از اندام‌ها همراه می‌باشد [١٦،١٥]. توکسین سندرم شوک سمی (TSST1) و انتروتوکسین‌های استافیلوکوکی به عنوان سوپرآنتی‌ژن‌های سمی تب‌زا[3] (PTSAgs) شناخته می‌شوند که سموم خارج سلولی ترشحی می‌باشند. PTSAgs با فعال‌سازی کلون‌های سلول‌های T واکنش دهنده علیه خود، می‌توانند القا کننده‌ی بیماری‌های خودایمنی در انسان باشند. آثار بیولوژیکی PTSAgs که ممکن است موجب افت فشار خون در TSS شوند شامل القای آزادسازی سایتوکاین‌ها [۱۷]، القای TNF [۱۸] و اثر مستقیم روی سلول‌های اندوتلیال می‌باشد [۱۹]. به علاوه استافیلوکوکوس اورئوس تعدادی مولکول سایتوتوکسیک شامل چهار همولیزین (آلفا، بتا، گاما و دلتا)، توکسین اکسفولیاتیو[4] و پانتون والنتین لوکوسیدین[5] (PVL) را تولید می‌کند [۲۰]. توکسین‌های همولیتیک به غشای اریتروسیت‌ها و تعدادی از سلول‌های دیگر گونه‌های متنوعی از میزبان‌ها حمله می‌کنند. ژن hla که

[1] - Osmoprotectants
[2] - Hypotension
[3] - Pyrogenic toxin superantigens (PTSAgs)
[4] - Exfoliative toxin
[5] - Panton-Valentin Leucocidin

کد کننده آلفاهمولیزین است در سال ۱۹۸٤ از کروموزوم استافیلوکوکوس اورئوس کلون‌سازی شد و توالی‌یابی گردید [۲۱]. آلفاهمولیزین به طور ویژه بر اریتروسیت‌های خرگوش عمل کرده، درمونکروتیک و نوروتوکسیک است و به صورت مونومری از سلول‌های استافیلوکوکوس اورئوس ترشح می‌شود. این الیگوپپتیدها به غشای سلول متصل شده سپس یک حلقه‌ی هپتامری تشکیل داده و منفذی را در غشاء ایجاد می‌نمایند. منفذ ایجاد شده به راحتی اجازه‌ی انتقال یون‌ها و سایر مولکول‌های کوچک محلول در آب را به داخل و خارج سلول می‌دهد [۲۲]. این سم تحت کنترل یک تنظیم‌کننده‌ی اضافی (agr) قرار دارد و بنابراین در مرحله‌ی تأخیری لگاریتمی[1] تولید می‌شود. بتاتوکسین یا اسفنگومیلیناز C استافیلوکوکوس اورئوس برای اولین بار در سال ۱۹۳۵ توسط گلنی و استیونز[2] شناسایی شد [۲۳]. اسفنگومیلیناز C یک آنزیم وابسته به Mg است و به وسیله‌ی ژن hlb که در کروموزوم جای دارد کد می‌شود. حساسیت اریتروسیت‌ها به این توکسین به دلیل محتوای اسفنگومیلین غشای آن‌هاست. بیش از ۵۰٪ از سوش‌های استافیلوکوکوس اورئوس دلتاتوکسین تولید می‌کنند که یک پپتید ۲٦ آمینواسیدی سایتولیتیک است و شباهت ساختاری به متیلین زهر زنبور عسل دارد [۲٤]. دلتاتوکسین توسط ژن hld کد می‌شود و بیان آن نیز تحت کنترل سیستم تنظیم‌کننده‌ی اضافی (agr) می‌باشد و در کشت مایع بالاترین بیان را در مرحله‌ی بعدلگاریتمی[3] دارد. این سم قادر به آسیب زدن به غشای تعداد متنوعی از سلول‌های پستانداران و همچنین ساختارهای زیرسلولی مثل ارگانل‌های محدود به غشاء، اسفروبلاست و پروتوپلاست می‌باشد [۲۵]. گاماتوکسین و PVL، سایتوتوکسین‌هایی هستند که توسط تعدادی از سوش‌های استافیلوکوکوس اورئوس آزاد می‌شوند.

[1] - Late exponential phase
[2] - Glenny & Stevens
[3] - Post exponential phase

آن‌ها از دو یا سه زنجیره‌ی پلی‌پپتیدی تشکیل شده‌اند که در رابطه با آسیب به غشای لوکوسیت‌ها فعالیت می‌کنند [۲۶].

۱-۱-۳ اهمیت استافیلوکوکوس اورئوس در دامپزشکی

استافیلوکوکوس اورئوس در سطح پوست و غشاهای موکوسی به خصوص در بخش فوقانی لوله‌ی تنفسی و گوارشی حیوانات یافت می‌شود. بیماری‌های ایجاد شده در دام‌ها همانند بیماری‌های انسان فراوان و متنوع می‌باشند و این باکتری فنوتیپ‌های متفاوتی را ایجاد می‌نماید. عفونت‌های درون‌زاد فراوان‌اند ولی عفونت‌های با منشأ بیرونی هم رخ می‌دهند. انتقال معمولاً با تماس مستقیم و یا به همراه ذرات صورت می‌گیرد. سوش‌های همسفره‌ی فراوان قابلیت حمله به بافت‌ها و تولید آبسه، کورک، عفونت‌های چرکی متنوع دیگر و گهگاهی باکتریمی و سپتی‌سمی را دارند. پاسخ التهابی به عفونت باعث تحریک انتقال نوتروفیل‌ها به محل عفونت می‌شود که خود منجر به پاسخ چرک‌زا و تب‌زا می‌گردد. این امر منجر به تشکیل آبسه و به دنبال آن پاره‌گی پوست و خروج چرک می‌شود. محصولات خارج سلولی استافیلوکوکوس اورئوس منجر به توسعه این عفونت‌ها می‌شوند. کپسول و پروتئین A استافیلوکوکوس اورئوس هر دو به شدت ضد فاگوسیتوز می‌باشند. ازدیاد حساسیت تأخیری به نظر می‌رسد نقشی در آسیب بافتی موضعی در عفونت‌های استافیلوکوکوس اورئوس دارد. لوکوسیدین، همولیزین‌ها و دیگر آنزیم‌ها و توکسین‌های استافیلوکوکوس اورئوس عامل آسیب به سلول‌های خونی، ماکروفاژها، سلول‌های اپیتلیال و انواع دیگر سلول‌های بدن هستند. محصولات خارج سلولی استافیلوکوکوس اورئوس ممکن است عامل بقای ارگانیسم در سطح پوست باشد و در حمله به بافت‌ها کمک نماید. مثلاً لیپاز تولید شده توسط باکتری عامل محافظت در مقابل لیپیدهای