فاژتایپینگ ۱۸۶ سوش استافیلوکوک کواگولاز مثبت

جدا شده از منابع مختلف در استان مرکز و سایر استانهای ایران*

دکتر توران زیرک زاده
وجیهه مجیدی
فرزانه قریشی

خلاصه :

بعلت اهمیت فراوانی‌که امروزه فاژتایپینگ استافیلوکوک‌های کواگولاز مثبت ازجهت روشن کردن مسائل اپیدمیولوژی مربوط باین میکرب خصوصا " عفونت‌های بیمارستانی و مسمومیت‌های‌غذائی‌کسب نموده است بخش باکتریولوژی آزمایشگاه رفرانس برنامه‌ای‌جهت انجام‌فاژتایپینگ‌تعدادی‌ازسوشهای‌استافیلوکوک‌کواگولاز مثبت جدا شده از منابع گوناگون در استانهای مختلف کشور تهیه و بمورد اجرا گذاشت . برای این منظور طی بخشنامه‌ای ازآزمایشگاههای استانهای مختلف تقاضای‌ارسال سوش‌های استافیلوکوک‌کواگولاز مثبت‌جدا شده‌ازمنابع‌گوناگون‌رانمودکه‌این سوشها در طی یک سال جمع آوری گردیده و موردآزمایش قرارگرفتند . ولی قبل‌ازاینکه راجع به طرز انجام آزمایش و نتایج بدست آمده بحث‌شود مختصری‌راجع به فاژتایپینگ استافیلوکوک واهمیت آن در کمک به حل مسائل اپیدمیولوژی پزشکی نوشته میشود .

فاژتایپینگ استافیلوکوک :

باوجودیکه‌اپیدمیهای‌خیلی‌بزرگ نظیر اپیدمی (وبا ـ طاعون) توسط‌استافیلوکوک ایجاد نمیشود ولی همه ساله در تمام دنیا اپیدمی‌های کوچک زیادی دراجتماعات بسته‌یا نیمه‌بسته‌مانند‌محیط بیمارستان‌و غیره توسط‌سوش‌های مخصوصی‌ازاین میکرب بوجودمیآید

* ـ بخش باکتریولوژی عمومی آزمایشگاه رفرانس اداره کل آزمایشگاهها ـ وزارت بهداری و بهزیستی .

که باعث بیماری و حتی مرگ‌تعداد زیادی از مبتلایان میگردد . برای پیدا کردن چنین سوش‌های‌مخصوص‌درمیان‌تعداد فوق‌العاده زیاد سوش‌های استافیلوکوک‌که در محیط زندگی یا بیمارستان‌وجود دارد احتیاج بروش طبقه بندی خاصی موجود است .

آزمایش کوآگولاز مشخص میسازد که میکرب جدا شده استافیلوکوک پیوژن یا چرک‌زا میباشد و بیش ازاین‌در این زمینه رلی بعهده ندارد . طبقه بندی سرولوژیکی به تعداد کمی میتواند استافیلوکوک‌های پیوژن را طبقه بندی نموده‌و اطلاعات خیلی محدودی‌ارائه نماید ولی قادر نیست یک راهنمای‌تشخیص کافی برای شناختن سوش‌هائیکه بمقدار خیلی زیاد واز نقاط مختلف جدا شده‌اند باشد . در صورتیکه تنها باکتریوفاژتایپینگ سوشهای استافیلوکوک کواگولازمثبت میتواند در این راه ما را یاری نماید .

اهمیت فاژتایپینگ استافیلوکوکها در اپیدمیهای بیمارستانها بخوبی نشان داده میشود . بطوریکه Blower (۳) وهمکارانش در ۷۹ مورد عفونت بعد از عمل جراحی ۹ مورد آنرا مربوط‌به تایپ ۷۹ گزارش کرده‌اند و شروع اپیدمی درست مقارن با ورود یک اسیستان جراحی به بخش بوده است که از دست و بینی‌این جراح استافیلوکوک فاژتایپ ۷۹جداگردیدکه قبل‌از آن ازهیچکدام از کارکنان ، وسائل و یا محیط بیمارستان این تایپ جدانگردیده‌بود .همچنین‌از۱۹۴سوش‌استافیلوکوکی‌که درآمریکا از عفونت‌های‌بیمارستانی جدا گردیده بود (۱۹۴۷ ــ ۱۹۲۷) ۲۲%آنها فاژتایپ ۸۱ ــ ۸۰ بوده‌اند (۵ ــ ۴)

درآمریکای‌شمالی‌نیز در سال ۱۹۵۹ Browne (۶) و همکارانش در دو بیمارستان مختلف‌تعداد آلودگی را تعیین‌کردند . در یکی‌از بیمارستانها ارقام عفونت خیلی بالاتر بود . برای پی بردن بعلت این اختلاف جراحان دو بیمارستان محل کار خود را عوض کردندو پس‌از مدتی آمار عفونت نیز بر عکس گردید که پس‌از تحقیق و مطالعه کافی معلوم شدکه‌یکی‌ازجراحان‌بیمارستان‌حامل استافیلوکوک اورئوس تایپ ۸۱ بوده که باعث اپیدمی عفونت درهر دو بیمارستان شده‌است .

طبق‌تجربیات‌دانشمندان‌مختلف (۱۱ ــ ۱۰ ــ ۹ ــ ۸) تایپهای ۸۱ ــ ۸۰ ــ ۷۹ ــ ۵۲A ــ ۵۲ وتعدادخیلی‌کمی‌ازتایپ‌های دیگر امروزه بعنوان‌سوشهای‌اپیدمیک بیمارستانی بشمار میآیند .

فاژتایپ‌های نامبرده در فوق مخصوصا" فاژتایپ ۸۱ ــ ۸۰ که همگی مقاوم به پنی‌سیلین‌میباشند خیلی زود به تیتراسیکلین‌ــ استرپتومایسین ــ اریترومایسین نیز مقاوم شده و اپیدمی‌های کشنده و خطرناک مخصوصا" دراطفال ایجاد مینمایند . این سوشهای مقاوم‌بوسیله‌بیماران‌بخانه‌منتقل‌شده و باعث آلودگی‌و بیماری‌فامیل‌بیمارودرنتیجه‌اجتماع میشوند (۱۳ ــ ۱۲) همچنین ممکن است وسیله آلودگی حیوانات خانگی‌مانند سگ یاگربه

گشته‌واین‌حیوانات‌نیزبنوبه خود باعث انتقال این میکروب به مؤسسات مختلف دامپزشکی گردند .

گروه بندی استافیلوکوک‌های کواگولاز مثبت بر حسب فاژتایپینگ :

استافیلوکوک‌های‌کواگولازمثبت بطور کلی به چهار گروه مشخص بقرار زیر از لحـــاظ فاژتایپینگ تقسیم شده‌اند :

گروه I	۸۰	۷۹	۵۲A	۵۲	۲۹	
گروه II	۷۱	۵۵	۳C	۳B	۳A	
گروه III	۵۴	۵۳	۴۷	۴۲E	۷	۶
		۸۵	۸۴	۸۳A	۷۷	۷۰
گروه IV						۴۲
متفرقه						۸۱–۱۸۷

طبق جداول بالا تاکنون ۲۴ فاژتایپ برای استافیلوکوکهای کواگولاز مثبت مشخص شده است‌که بر تعداد آنها نیز مرتبا " افزوده میشود .

استافیلوکوکهای فاژ گروه I اکثرا " عامل عفونت‌های بیمارستانی میباشند .

استافیلوکوکهای فاژتایپ گروه II را استافیلوکوکهای سطحی نیز میگویند ، زیـرا اکثرا " باعث ایجاد عفونتهای سطحی میشوند و نسبت به‌اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها نیز مقاوم میباشند .

فاژتایپ‌های‌گروه III وIV مخصوصا "فاژتایپ ۴۲D بعنوان عامل مسمومیت‌هـای غذائی بشمارمیآیند (۱) فاژتایپ ۴۲D اکثرا " از شیر جدا گردیده است بنابر این برخی آنرا جزو سوشهای حیوانی بشمار میآورند .

روش کار و محیطهای مورد استفاده :

طرز جمع آوری نمونه : در این برنامه سوشهای جدا شده از استان مرکز و سایر استانها مورد مطالعه قرار گرفت :

الف ــ استان‌مرکز :درتهران از دو منبع مختلف سوشهای استافیلوکوک جدا گردید .

۱ــ بیمارستان‌شماره ۴ سازمان بیمه‌های اجتماعی کارگران (بیمارستان کودکان)در این‌بیمارستان از بیماران ــ کارکنان ــ محیط و لوازم بیمارستان نمونه برداری انجام وپس از کشت بر روی محیطهای انتخابی و لازم مانند محیط بلاد آگار ومانیتول سالت آگار M . S . A کولونی‌های استافیلوکوک را جدا نموده و برای تمام آنها آزمایش کواگولاز با پلاسمای نرمال استاندارد لئوفیلیزه در روی لام و لوله بعمل آمد . جمعا " ۹۸ سوش در این بیمارستان بررسی شد که ۸۲ سوش مربوط به بیماران ، ۱۲ سوش مربوط به کارکنان و

۴ سوش مربوط به محیط و وسائل بیمارستان بوده است .

ب ـ آزمایشگاه کنترل مواد غذائی : در این آزمایشگاه سوشهای کواگولاز مثبتی که از موارد مسمومیت‌های غذائی بوسیله خود آزمایشگاه جدا گردیده بود به آزمایشگاه رفرانس ارسال گردید ، جمعا" ۱۸ سوش بررسی شد که ۱۰ سوش آن از بستنی ساده یا خامه دارو بقیه از مواد غذائی دیگر جدا شده بود . ضمنا" ۱۸۶ سوش که از استانها از مواد مختلف جدا و ارسال شده بود نیز بررسی گردید .

روش‌کارومحیطهای مورد استفاده : قبل‌از انجام آزمایش فاژتایپینگ تمام سوشهای استافیلوکوک‌را مجددا "کشت‌داده‌و برای آنها آزمایش کواگولاز درلام‌و لوله انجام گردید . برای‌سوشهای‌کواگولاز مثبت آزمایش های لازم دیگر از قبیل تخمیر مانیتول بر روی محیط مانیتول سالت آگار وایجاد همولیز (بر روی محیط بلادآگار) انجام گردید که نتایج آن در جدول شماره ۱ منعکس میباشد .

جدول‌شماره ۱خواص مختلف مانند تخمیر مانیتول ، همولیز و پیگمان زائی سوشهای استافیلوکوک کواگولاز مثبت مورد آزمایش .

تعداد	خاصیت همولیز			پیگمان زائی			تخمیر مانیتول
	آلفا	بتا	گاما	زرد	سفید	کرم	
۹۹	—	+	—	۵۰	۲۷	۲۰	۹۰
۴۸	+	—	—	۳۰	۱۰	۸	۳۹
۳۹	—	—	+	۲۰	۱۰	۹	۳۵
جمع کل ۴۸		۹۹	۳۹	۱۰۰	۴۷	۳۷	۱۶۴
درصد ۲۵/۷		۵۳/۲	۲۰	۵۳/۷	۲۵/۲	۱۹/۸	۸۸/۱

آلفا = همولیز ناقص بتا = همولیز کامل گاما = بدون همولیز

طرزانجام فاژتایپینگ : برای‌این منظور سری کامل فاژهای استافیلوکوک از دانشکده بهداشت‌درخواست‌گردیده‌که توسط بخش میکرب شناسی‌آن‌دانشکده سری کامل آنها (۲۲ عدد) باین آزمایشگاه ارسال گردید .

قبل از انجام آزمایش فاژتایپینگ برای تمام فاژها آزمایش تعیین Routine Dilution Test = R . T . D وپروپاگیشن (Propa gation) (۱۴) بعمل

آمد . آزمایش فاژتایپینگ طبق متد Routine Typing technique (۱۴)در غلظت R . T . D و ۱۰۰ R . T . D برای تمام سوشها انجام گردید که نتایج بدست آمده بقرار زیر میباشد :

نتایج: چون سوشهای مورد آزمایش از منابع مختلف بوده است بنابر این نتایج بدست آمده از منابع گوناگون نیز بطور جداگانه شرح داده خواهد شد .

۱ ــ نتایج فاژتایپینگ سوشهای جدا شده از بیمارستان کودکان سازمان بیمه‌های اجتماعی : نتایج بدست آمده از انجام فاژتایپینگ این سوشها در جدول شماره ۲ منعکس میباشد .

منبع سوش	تعداد گروه I	تعدادگروههای دیگر غیر از گروههای I	غیر قابل تایپ شدن
بیمار	۸	۳۰	۴۴
کارکنان	۲	۴	۶
محیط و وسائل	۱	۱	۲
جمع کل	۱۱	۳۵	۵۲
درصد	۱۱/۲	۳۵/۷	۵۳

۲ــ نتایج فاژتایپینگ ۱۸ سوش جدا شده از مواد غذائی گوناگون که باعث مسمومیت شده است : نتایج بدست آمده در جدول شماره ۳ منعکس میباشد .

جدول شماره ۳ گروههای مختلف استافیلوکوک جدا شده از ۱۸ سوش مواد غذائی مختلف

منبع سوش	تعدادگروه IV یا ۴۲ D	تعدادگروههای دیگر غیر از گروه IV	غیر قابل تایپ شدن
بستنی	۲	۲	۶
گوشت یخزده	—	۱	—
خامه	۱	—	—
کره	—	۱	۱
پنیر	۱	—	۱
سالادالویه	—	۱	۱
مرغ پخته	—	—	۱
جمع کل	۴	۵	۹
درصد	۲۲/۳	۲۷/۷	۵۰

۳ــ نتایج فاژتایپینگ سوشهای ارسالی از شهرستانهای مختلف :

نتایج انجام فاژتایپینگ این سوشها در جدول شماره ۴ منعکس میباشد .

جدول شماره ۴ گروههای مختلف استافیلوکوک کواگولاز مثبت جدا شده از ۱۸۶ سوش از استانهای مختلف ایران :

نام شهرستان	گروههای مختلف				غیر قابل تایپ شدن
	I	II	III	IV	متفرقه	
تهران	۶	۶	۲۰	۳	۱۸	۶۳
کرمانشاه	۴	۹	۳	۳	۶	۲۹
شیراز	۱	۱	۲	—	۱	۳
سنندج	—	۲	۱	—	—	۲
تبریز	۱	—	—	—	۱	۱
جمع کل	۱۲	۱۸	۲۶	۶	۲۶	۹۸
درصد	۶/۵	۹/۷	۱۳/۹	۳/۳	۱۳/۹	۵۲/۷

بحث : همانطوریکه در جدول‌های مختلف منعکس است چون سوشهای مورد آزمایش ازمنابع مختلف بوده اند نتایج بدست آمده نیز تا حدودی نسبت به منابع مختلف‌متغیر میباشد .

چنانچه‌درجدول‌شماره ۲ که‌مربوط به سوشهای جدا شده از یک بیمارستان است‌دیده میشود ۱۱سوش‌یا ۱۱/۲ درصد از کلیه سوشهای جدا شده جزو گروه I (گروه عامل‌عفونت بیمارستانی) میباشند .از این تعداد ۸ سوش متعلق به کارکنان و یک سوش هم به محیط و وسایل بیمارستان تعلق داشته است بنابر این در بیمارستان مذکور احتمال پخش و انتشار این میکرب مقاوم در بین بیماران بصورت اپیدمی عفونت بیمارستانی زیاد بوده است و مخصوصا" دو نفر کارکنان بیمارستان حامل استافیلوکوک گروه I عامل مهمی در پخش و انتشار عفونت‌های استافیلوکوکی در بیمارستان ویا افراد فامیل خود و بالنتیجه اجتماع میباشند .

ازطرف‌دیگر جدول شماره ۳ که مربوط به سوشهای جدا شده از مواد غذائی گوناگون میباشدنشان دهنده این حقیقت است‌که ۲۲/۲ درصد سوشهائیکه باعث مسمومیت غذائی شده بودند جزو گروه IV یعنی گروه عامل مسمومیت‌های غذائی میباشند .

جدول شماره ۴ نشان میدهدکه سوشهای استافیلوکوک کواگولاز مثبت جدا شده از استانهای‌مختلف که از منابع گوناگون مانند زخم‌های سطحی ــ کورک ، چرک گوش و غیره جداشده‌اند متعلق به‌گروههای‌مختلف از I تا IV میباشند . بطوریکه ۶/۵ درصد متعلق به‌گروه I و۲۶سوش‌یا ۱۳/۹ درصد جزو گروه III و ۱۳/۹ درصد نیز جزو گروه متفرقه بحساب آمده‌اند . ۵۲/۷ درصد سوش‌ها نیز غیر قابل تایپ شدن بوده‌اند .

بنابر این برای مطالعه‌درباره اپیدمیولوژی عفونت‌های استافیلوکوکی باید در مورد سوشهای‌جدا شده حتما " آزمایش فاژتایپینگ انجام گرفته و تایپ آنها نیز مشخص گردد . زیراتنهاجدا کردن سوش استافیلوکوک کواگولاز مثبت بدون انجام فاژتایپینگ ارزش‌علمی زیادی‌خصوصا "درمورد مطالعات اپیدمیولوژی نخواهد داشت . همچنین در مورد مسمومیت غذائی‌نیزبرای‌تشخیص قطعی و نهائی عامل مسمومیت باید همیشه سوشهای استافیلوکوک جداشده‌ازبیمارموادغذائی گوناگون ، سازندگان و پخش کنندگان این مواد را فاژتایپینگ نموده و پس از یکی بودن تایپ ، آنرا بعنوان عامل مسمومیت غذائی شناخت (۱۶) .

تشکر

بدینوسیله از جناب آقای دکتر ابوالحسن ظریفی مدیر کل آزمایشگاهها که برای انجام‌این مطالعه امکانات لازم را در اختیار ما قرار دادند و همچنین از آقای دکتر قراگزلو رئیس بخش میکرب شناسی دانشکده بهداشت برای ارسال فاژها و آقای دکتر روحبخش رئیس بخش میکرب شناسی آزمایشگاه‌کنترل مواد غذائی اداره کل آزمایشگاهها وسایرهمکاران‌محترم آزمایشگاههای استانهای مختلف جهت ارسال سوشهای استافیلوکوک صمیمانه تشکر مینماید .

REFERENCES

1. Gunter, S. Stent: Molecular Biology of Bacterial Viruses. University of California, 1963. 1–3.
2. R.E.O. Williams, R.B. Lowers and others. Hospital Infection causes and prevention. 1966.
3. Blower, R.: Wound Infection in Operation Theatres. Medical Annual, Bristol: John Wright & Sons, 1958.
4. Blair & Carr, M. Science, 132: 1274, 1960.
5. Blair & Carr, M.J. Bact., 82: 984, 1961.
6. Browne, A.F., Ryan, E.A., Glassow, F.J., Martin, Caroline J., and Shouldice, E.E. (1969): Staphylococci Wound Infection, J. Amer. Med. Ass., 170: 1274.
7. Penibett, E.J.K., Knox, R., and Liddell, J. (1958): An Outbreak of Post-Operative Sepsis, Brit. Med. J., 1: 812.
8. Bauer, A.W., Perry, D.M., and Kirlt, W.H.N., J.A.M.A., 173: 475, 1960.
9. Finland, et al, J.A.H.A., 170: 2188, 1959.
10. Quinn, E.L. and Kass, E.H. Biology of Pyelenephritis, Henry Ford Hospital International Symposium, Boston. Little, Brown and Company, 1959.
11. Rantz, L.R. and Rantz, H.H. Arch. Intern. Med., 110: 739, 1962.
12. Novack, A. and Feldman, H.A. Arch.Intern.Med., 110: 726, 1962.
13. Page, M.I. et al. J.A.M.A., 183: 1063, 1963.
14. Phage Typing of staph. aureus Routine Typing Technique, Staphylococcus. Reference Laboratory, Colindel, London, NW9, 1968.
15. Williams, R.E.O., R. Blowers, L.P. Garrod, R.A. Shooter. Hospital Infection, Causes and Prevention, 29. 1966.
16. Hobbs, B.C. Food-Borne Infections and Intoxications; Investigation Source and Control. Food Hygiene Laboratory, Central Public Health Laboratory, London, Great Britain, 1965.