بررسی اثر استافیلوزانتین بر باکتری های بیماری زا

نسیم مفرح[۱]*، دکتر جمیله نوروزی[۲] ، محدثه لاری پور[۳]

۱ –کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال
۲ – استاد دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال
۳- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال
***نشانی برای مکاتبه:** ۰۹۳۶۳۷۳۲۷۹۸-۳۲۲۴۳۶۶۷۷ ، hospital.mofarah@gmail.com

دریافت مقاله:مهر نود و شش پذیرش برای چاپ: آذر نود و شش

چکیده

سابقه و هدف: *مصرف بی رویه و گسترده آنتی بیوتیک ها برای درمان استافیلوکوکوس اورئوس، منجر به پیدایش گونه های مقاوم به آنتی بیوتیک ها برای مثال، MRSA شده است. هدف از این مطالعه، تعیین خاصیت ضد میکروبی استافیلوزانتین (پیگمان طلایی رنگ استافیلوکوکوس اورئوس) روی اشریشیا کلی، یرسینیا و کلبسیلا و نیز مشاهده ژن استافیلوزانتین (crtM) در استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده از منابع کلینیکی بوده است.*

روش کار: *در کل، ۱۷۰ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس از منابع کلینیکی (بخش های پوست، خون، ادرار و بینی) جمع آوری شد. از این نمونه ها، استافیلوزانتین از ۲۰ نمونه با کلنی طلایی رنگ، عصاره گیری و خاصیت ضد میکروبی آن روی ۳ باکتری روده ای، اشریشیا کلی، یرسینیا و کلبسیلا بررسی شد. همچنین بعد از استخراج DNA ، برای مشاهده باند ژن استافیلوزانتین، PCR انجام شد.*

یافته ها: *استافیلوزانتین خاصیت ضد میکروبی بر روی باکتری های اشریشیا کلی، یرسینیا و کلبسیلا نداشت. در انجام PCR ، باند ژن استافیلوزانتین در ۹۵٪ مورد تایید قرار گرفت.*

نتیجه گیری: *نتایج این پژوهش حضور ژن استافیلوزانتین (crtM) را در تمام باکتری ها اثبات نمود. به نظر می رسد که استافیلوزانتین در بیماری زایی باکتری در انسان دخالت داشته و در واقع، نقش مهمی در زنده ماندن باکتری در میزبان در مبارزه با سیستم ایمنی دارد.*

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوزانتین، خاصیت ضد میکروبی، ژن crtM

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس کوکسی گرم مثبت و بی هوازی اختیاری و پاتوژن بوده که مهم ترین گونه استافیلوکوک در پزشکی است(۱). این باکتری ممکن است به شکل فلور عادی پوست یا بینی وجود داشته باشد. این باکتری، بیماری زا بوده که تخمین زده می شود، ۲۰ درصد از مردم به مدت طولانی ناقل این باکتری باشند(۲). این باکتری به دلیل تولید رنگدانه طلایی کاروتنوئیدی به نام استافیلوزانتین، کلنی های زرد رنگی را ایجاد می نماید. این پیگمان در بیماری زایی نقش دارد، زیرا به عنوان ماده آنتی اکسیدان عمل کرده و موجب درامان ماندن باکتری در برابر رادیکال های آزاد اکسیژن می شود. رادیکال های آزاد اکسیژن توسط سلول های سیستم ایمنی میزبان برای کشتن باکتری ها تولید می شوند(۳) . استافیلوزانتین نوعی متابولیت ثانویه است. استافیلوزانتین برای رشد و تکثیر *استافیلوکوکوس اورئوس* ضروری نیست، اما ممکن است نقش مهمی در زنده ماندن باکتری در میزبان آلوده، در مبارزه با سیستم ایمنی داشته باشد. استافیلوزانتین به طور عمده در فاز ثابت رشد باکتری تولید می شود(۴). اگرچه توانایی سنتز پیگمان در *استافیلوکوکوس اورئوس* وجود دارد اما، فقط حدود ۷۰ درصد از گونه های جدا شده، این رنگدانه را دارند(۵). استافیلوزانتین متصل به غشاء، کاروتنوئید است که نقش مهمی در سازگاری زیستی *استافیلوکوکوس اورئوس* به عهده دارد. استافیلوزانتین، احتمالاً وظیفه محافظت کردن این باکتری ها را از چربی ها به عهده دارد اما ممکن است در محافظت از پروتئین ها و DNA نیز نقش داشته باشد. در نتیجه باعث افزایش بیماری زایی و سازگاری باکتری می شود. استافیلوزانتین می تواند به عنوان آنتی اکسیدان بیولوژیکی در برابر پراکسید هیدروژن و رادیکال های

هیدروکسیل در نظر گرفته شود و ممکن است به عنوان جاذب رادیکال درمانی مفید باشد (۳).

از آنجایی که *استافیلوکوکوس اورئوس* دارای استافیلوزانتین بیماری زا است و این باکتری ها، مقاومت آنتی بیوتیکی پیدا کرده اند و نیز این رنگدانه کاروتنوئیدی می باشد و چون کاروتنوئیدها خاصیت ضد تکثیری دارند، در نتیجه استافیلوزانتین، ممکن است دارای خاصیت ضد میکروبی باشد. هدف از این پژوهش، ایزوله و شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس* های به دست آمده از منابع کلینیکی، بررسی خاصیت ضد میکروبی استافیلوزانتین روی برخی از باکتری های بیماری زا و یافتن ژن استافیلوزانتین در *استافیلوکوکوس اورئوس های* دارای پیگمان بوده است.

روش کار

در کل، ۱۷۰ نمونه از ۵ بیمارستان (مفرح، شهید رجایی، مفید کودکان، شهدا و عرفان) از قسمت های مختلف بیماران جمع آوری شدند. نمونه ها پس از جمع آوری، روی پلیت های بزرگ محیط کشت برد پارکر، کشت شدند. بعد از کشت، آن ها در انکوباتور در ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. سپس تست های تشخیصی برای شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام شد.

برای تایید و تشخیص *استافیلوکوکوس اورئوس* از تست های کواگولاز، رنگ آمیزی گرم و مشاهده میکروسکوپی، کاتالاز، تخمیر مانتیول، همولیز، DNase و حساسیت به نوبیوسین استفاده شد. باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس* روی محیط های مختلف نظیر BHI آگار، بلاد آگار، نوترینت آگار کشت داده شدند و در ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شدند. سپس ۲ بار روی محیط نوترینت آگار کشت داده شدند. یک سری در ۳۷ درجه سانتیگراد و یک سری در ۲۵ درجه یعنی در دمای اتاق به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شدند. باکتری های کشت داده شده روی محیط نوترینت آگار برای مدت زمان های متفاوت (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند.

برای عصاره گیری، نمونه ها را به محیط BHI آگار منتقل کرده و به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور در ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. سطح محیط را با ۳ میلی لیتر آب مقطر استریل، ۲ بار شسته، بعد از آن باکتری ها را به لوله ها اضافه کرده و ۵ میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. در ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. رسوب با ۸ میلی لیتر متانول ۹۹/۹ درصد مخلوط شد و رسوب برای جلوگیری از قرار گرفتن در معرض نور خورشید در فویل قرار داده شد. بعد از آن در ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی دور ریخته شد و ۳ میلی لیتر متانول ۹۹/۹ درصد اضافه شد و لوله ها در فویل قرار گرفتند. بعد در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد و بعد از آن لوله ها، به مدت ۱۰ دقیقه در یخچال قرار گرفتند تا سرد شوند. بعد، مایع رویی را در ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه، ۲ بار سانتریفیوژ کرده، بعد از آن لوله ها را در ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده تا رسوب به صورت پودر درآید. محتوی لوله ها را وزن کرده، بعد، به هر لوله ۱ میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه کرده. وزن هر لوله نیز قبل از استفاده وزن شده بود.

سه باکتری پرسینیا، *اشریشیا کلی* و کلبسیلا برای آزمایش خاصیت ضد میکروبی استافیلوزانتین انتخاب شدند. *اشریشیا کلی* از نمونه ادرار گرفته شد. *پرسینیا انتروکولیتیکا* نیز با شماره ۱۰۳۷۲، سویه استاندارد بود. کلبسیلا هم از ادرار جداسازی شده بود. با پیپت پاستور در پلیت ها، چاهک ایجاد کرده، بعد با سرنگ از لوله های کشت مایع مورد نظر را برداشته و داخل چاهک ریخته و برای هر پلیت سر سوزن سرنگ ها عوض شد. برای نشان دادن خاصیت ضد میکروبی از، روش انتشار از دیسک نیز انجام شد.

به منظور استخراج DNA، کیت استخراج Qlamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden,Germany) به کار گرفته شده است. نمونه ها را در ترموسایکلر قرار داده، یعنی به ترتیب ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۸ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه که این ۳ دما ۳۰ بار تکرار شد و بعد ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، عمل PCR انجام داده شد(جدول ۱).

جدول ۱- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده جهت تکثیر ناحیه ژنی

Name	Seq.(5-3)	MW	OD	Nmol	Water/tube	TM	GC%	Mer
Crtm-F	TGATGACAGTATAGATGTTTATGG	۷۴۶۱/۸۷	۴	۱۷/۶۹	۱۷۶/۹۰	۵۵/۸۸	۳۳/۳	۲۴
Crtm-R	ACATGCTGAAGGGCCATCATG	۶۴۵۵/۲۲	۴	۲۰/۴۵	۲۰۴/۴۹	۵۹/۸۲	۵۲/۴	۲۱
								۴۵

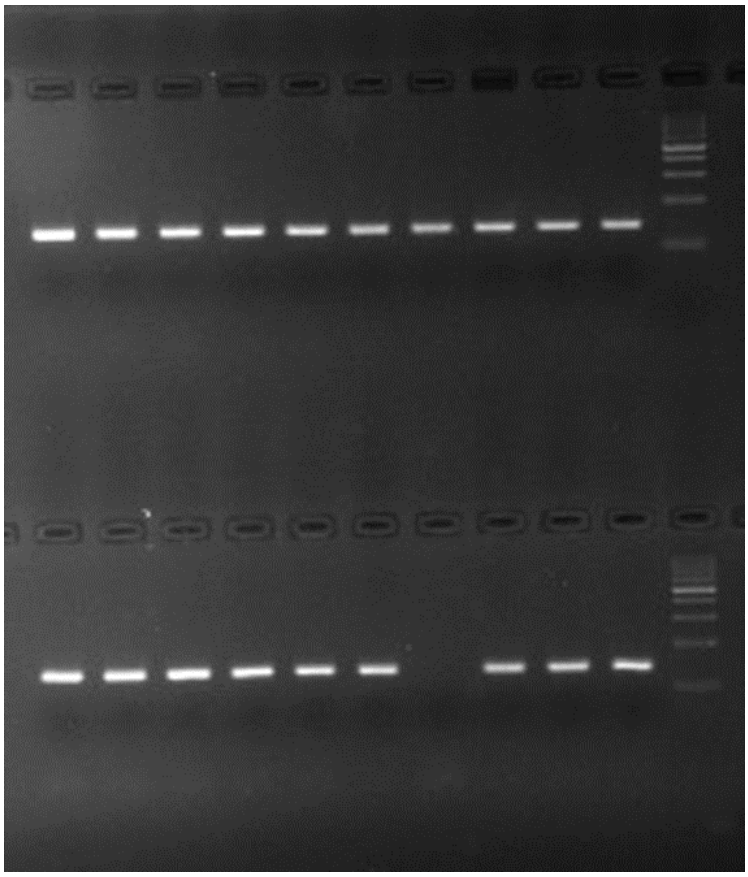
یافته ها

درصد کل نمونه های گرفته شده از زن و مرد به ترتیب ۵۴/۷٪ و ۴۵/۳٪ بود. ۵۱٪ نمونه ها از ادرار، ۲۱ ٪ از پوست، ۱۸٪ از بینی و ۱۰٪ ازخون به دست آمده بود.

استافیلوکوک ها گرم مثبت می باشند و کوکسی هستند، باکتری ها در زیر میکروسکوپ به شکل کروی مشاهده شدند و پس از رنگ آمیزی رنگ بنفش به خود گرفتند. استافیلوکوکوک ها، با انجام تست کاتالاز مقدار زیادی حباب های گاز اکسیژن تولید کردند. باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، قند مانیتول موجود در محیط را تخمیر و در نتیجه رنگ محیط از قرمز به زرد تغییر کرد. بعد از رشد باکتری ها روی محیط بلاد آگار، همولیز که هاله ای شفاف اطراف باکتری است، مشاهده شد. بعد از کشت باکتری روی محیط DNase ، به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. با اضافه کردن معرف هاله شفاف در اطراف محل رشد باکتری ایجاد شد. باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به نوبیوسین بود.

بعد از تایید و شناسایی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* از ۱۷۰ نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس* ۲۰ نمونه آن ها برای عصاره گیری استافیلوزانتین و PCR انتخاب شد. بعد از عصاره گیری، خاصیت ضد میکروبی استافیلوزانتین روی ۳ باکتری روده ای یعنی *اشریشیا کلی*، کلبسیلا، پرسینیا با روش ایجاد چاهک و دیسک گذاری انجام شد و هیچ گونه هاله ای اطراف باکتری مشاهده نشد.

در مطالعه مولکولی، ژن استافیلوزانتین (*crtM*) از باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* که دارای رنگدانه بودند، استخراج و باندها مشاهده و عکس برداری شدند(تصویر ۱). یکی از باکتری ها (۵٪) که از نمونه ادرار جدا شده بود باند نشان نداد و ژن تولید کننده استافیلوزانتین را نداشت اما روی محیط کشت پیگمان داشت.



تصویر۱- مشاهده باند ژن استافیلوزانتین از ۲۰ نمونه با انجام PCR

بحث

گسترش شیوع عفونت های بیمارستانی ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* در جهان موجب شده است که تلاش های گسترده ای برای کنترل عفونت های بیمارستانی صورت گیرد. از آنجایی که *استافیلوکوکوس اورئوس* دارای استافیلوزانتین، بیماری زا است و همچنین این رنگدانه، کاروتنوئید است و کاروتنوئیدها خاصیت ضد تکثیری دارند، در نتیجه استافیلوزانتین، ممکن است دارای خاصیت ضد میکروبی باشد. هدف از این مطالعه، بررسی خاصیت ضد میکروبی استافیلوزانتین روی برخی از باکتری های بیماری زا بود. هیچ گونه خاصیت ضد میکروبی در این مطالعه یافت نشد. سپس ژن استافیلوزانتین را از باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* استخراج کرده، ژن رنگدانه نیز مشاهده و عکس برداری شد.

در مطالعه حاضر از بینی ۲۵ نفر کارکنان بیمارستان و بیماران نمونه گیری شد که، ۸ نفر ناقل بودند و درصد ناقلین بینی ۳۲٪ به دست آمد. در سال ۲۰۰۶ chio و همکارانش، از بین ۳۴۶ فرد مورد مطالعه، درصد ناقلین *استافیلوکوکوس اورئوس* را در بینی ۲۳/۴٪ گزارش کردند که کمتر از مطالعه حاضر بود (۶). در سال ۲۰۰۶، در آمریکا مطالعاتی انجام شد و فراوانی افراد حامل *استافیلوکوکوس اورئوس* ۳۲/۴٪ یعنی مشابه مطالعه حاضر گزارش شد این امر ممکن است به دلیل وجود تعداد زیاد این باکتری در محیط بیمارستان باشد و از مطالعه حاضر بیشتر است. تنوع موجود در فراوانی افراد حامل *استافیلوکوکوس اورئوس* در کشورهای مختلف را می توان به نحوه نمونه برداری، نحوه کشت، سن جمعیت مورد مطالعه، بیمارستان یا جامعه، سطح بهداشت کشور و عوامل دیگر نسبت داد.

در مطالعه حاضر، از ۱۷۰ نمونه که از مکان های مختلف بیماران بدست آمدند، ۵۱٪ ادرار، ۱۸٪ بینی، ۱۰٪ خون و ۲۱٪ زخم ناقل *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. نتایج مطالعات Al-Kazaz و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان داد که از ۲۰۷

نمونه گرفته شده از بیماران، ۲۰/۷٪ ناقل *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند، که ۴۰٪ مربوط به بینی، ۳۷/۱۴٪ خون، ۲۱/۸۷٪ زخم و ۱۹/۳۵٪ مربوط به ادرار بود. که این نتایج فقط در درصد زخم با هم شباهت دارند و در بقیه موارد با هم تفاوت دارند. دلیل تفاوت در درصد عفونت به این دلیل می باشد که در مطالعه حاضر نمونه ها از ۵ بیمارستان و از قسمت های متفاوت از بیماران جمع آوری شدند(۷).

در مطالعه حاضر برای مشاهده رنگدانه بیشتر در محیط های BHI آگار، بلاد آگار و نوترینت آگار بررسی شدند و نوترینت آگار به عنوان محیطی واضح تر برای مشاهده رنگدانه بیشتر گزارش شد. Al-Kazaz و همکاران در سال ۲۰۱۴ برای تولید و مشاهده رنگدانه بیشتر از باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، این باکتری را بر روی محیط های مختلف نظیر میلک آگار، تریپتیکاز سوی آگار، تریپتیکاز ییست آگار کشت دادند و گزارش کردند که بهترین محیط، میلک آگار است که در مطالعه حاضر از محیط کشت میلک آگار استفاده نشد.

از عوامل دیگر، بررسی دمای مناسب برای تولید رنگدانه استافیلوزانتین توسط *استافیلوکوکوس اورئوس* است. در مطالعه حاضر باکتری ها را هم در دمای اتاق و هم در انکوباتور در ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده و مشاهده شد که، باکتری هایی که در ۳۷ درجه سانتیگراد قرار دارند، رنگدانه طلایی بیشتری تولید می کنند. در سال ۲۰۱۴ AL-Kazaz و همکاران، تولید رنگدانه استافیلوزانتین را در دماهای مختلف ۲۰-۲۵-۲۸-۳۷-۴۰ بررس کردند و گزارش کردند که، تولید استافیلوزانتین در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد افزایش می یابد و در دماهای کمتر از ۲۰ درجه سانتیگراد و بالاتر از ۳۷ درجه سانتیگراد کاهش می یابد. که در نتیجه، ۳۷ درجه سانتیگراد دمای مناسب تولید استافیلوزانتین است که با مطالعه حاضر مطابقت دارد. این در حالی است که در سال ۲۰۱۰ Kurjoge و همکاران، دمای مناسب برای تولید رنگدانه را ۳۰ درجه سانتیگراد گزارش کردند که با مطالعه حاضر تفاوت دارد. این تفاوت ها می تواند به دلیل تفاوت در نوع محیط کشت باکتری و نیز مدت زمان نگه داری آن ها باشد(۸).

یکی از عوامل دیگر برای تولید رنگدانه بیشتر، بررسی زمان بهینه نگه داری باکتری در ۳۷ درجه سانتیگراد است. در مطالعه حاضر زمان های ۲۴-۴۸-۷۲ ساعت آزمایش شدند و زمان بهینه برای تولید رنگدانه بیشتر، ۷۲ ساعت به دست آمد. در سال ۲۰۰۶ Clauditz و همکاران، زمان نگه داری باکتری را بررسی کردند و زمان بهینه برای تولید استافیلوزانتین را ۷۲ ساعت پس از کشت باکتری گزارش دادند. به این صورت که پس از ۲۴ ساعت، مقدار کمی از رنگدانه طلایی روی محیط کشت باکتری مشاهده شد. سپس با افزایش نگه داری باکتری ها در ۳۷ درجه سانتیگراد، مقدار رنگدانه افزایش پیدا کرد، تا زمانی که مقدار رنگدانه به حداکثر رسید که زمان آن ۷۲ ساعت پس از کشت بود که همان زمان فاز ثابت رشد باکتری یعنی زمان تولید رنگدانه بوده است. این گزارش با مطالعه حاضر مطابقت می کند(۳).

در مطالعه حاضر مشاهده شد که استافیلوزانتین در آب، رنگ زرد ایجاد می کند. Samaranika و همکاران به این نتیجه رسیدند که استافیلوزانتین در آب، رنگ زرد ایجاد می کند و این رنگدانه هیچ گونه خاصیت مهار کنندگی و ضد میکروبی روی کلبسیلا ندارد (Samaranika et al 2012) که با مطالعه حاضر شباهت دارد.

در سال ۱۹۸۱ Marshall & Wilmoth، باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* را برای تولید رنگدانه طلایی بیشتر روی محیط نوترینت آگار کشت دادند و برای استخراج استافیلوزانتین، متانول اضافه کردند. همچنین گزارش کردند که استخراج استافیلوزانتین از *استافیلوکوکوس اورئوس* با متانول رضایت بخش ترین روشی است که به اثبات رسیده است، این آزمایشات با مطالعه حاضر که از متانول استفاده شد، مشابه است(۹).

در مطالعه حاضر خاصیت ضد میکروبی استافیلوزانتین روی ۳ باکتری روده ای *یرسینیا انتروکولیتیکا*، کلبسیلا و *اشریشیا کلی* بررسی شد و مشاهده شد که، استافیلوزانتین هیچ گونه مهار و خاصیت ضد میکروبی روی این باکتری ها ندارد. در سال ۲۰۱۴ Al-Kazaz و همکاران فعالیت ضد میکروبی استافیلوزانتین را در برابر برخی از باکتری های بیماری زا مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن ها نشان داد که، استافیلوزانتین هیچ گونه فعالیت ضد میکروبی روی باکتری های *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشریشیا کلی*، کلبسیلا، پروتئوس، سالمونلا، شیگلا، *سودوموناس فلوئورسنس*، *سودوموناس پوتیدا* و *استافیلوکوکوس اورئوس ندارد*. مطالعه دیگری که توسط (Chamberlain A et al 1991) انجام شد و نتیجه آن ها با این آزمایش مطابقت دارد، گزارش شده است که استافیلوزانتین فعالیت ضد میکروبی روی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی ندارد. مطالعات دیگر توسط Samaranika P 2012

و همکاران نشان داده است که عصاره استافیلوزانتین، هیچ گونه مهار و فعالیت ضد میکروبی علیه کلبسیلا ندارد. ولی استافیلوزانتین عامل بیماری زا برای باکتری محسوب می شود و به بیماری زایی باکتری کمک می کند. همه این گزارشات با مطالعه حاضر مطابقت دارند(۷).

در مطالعه حاضر، ژن *crtM* از ۲۰ باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* PCR شدند و ۱۹ باکتری یعنی ۹۵٪ آن ها باند مشاهده و عکس برداری شد. برای پرایمرهای F و R از مطالعات Al-Kazaz و همکاران در سال ۲۰۱۴ استفاده شد. در یکی از نمونه ها (۵٪) باند ژن *crtM* مشاهده نشد و به دلایلی مانند کشت زیاد یا جهش، ژن تولید استافیلوزانتین را از دست داده بود. Al-Kazaz و همکاران نیز ژن *crtM* را استخراج و باندهای ۵ سوش از باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (AE36، AE32، AE23، ΔAE36، AE38) را عکس برداری کردند که ۴ باکتری باند دادند اما یک باکتری که از لحاظ ژن تولید استافیلوزانتین دچار جهش شده بود (ΔAE36) باند نداد که در مجموع در ۸۰٪ باکتری ها، باند مشاهده شد که با مطالعه حاضر تا حدودی شباهت دارد (۷).

نتیجه گیری

در کل، نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که، روی محیط نوترینت آگار رنگدانه بیشتری تولید شد. همچنین در ۳۷ درجه سانتیگراد استافیلوزانتین بیشتری تولید شد. رنگدانه کاروتنوئیدی در ۷۲ ساعت پس از کشت به حداکثر تولید رسید. خاصیت ضد میکروبی استافیلوزانتین روی ۳ باکتری *اشریشیا کلی*، *یرسینیا انتروکولیتیکا* و کلبسیلا، پس از ۲۴ ساعت هیچ هاله اطراف کلنی ها مشاهده نشد، در نتیجه استافیلوزانتین هیچ گونه خاصیت ضد میکروبی ندارد. ژن استافیلوزانتین استخراج شد. ۹۵٪ از باکتری ها دارای ژن استافیلوزانتین بودند اما ۵٪ باکتری ها این ژن را از دست داده بودند و باندی مشاهده نشد.

REFERENCES

1-Kluytmans J., Van Belkum A., & Verbrugh H., Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clinical Microbiology Reviews, 1997,10(3), 505-520.

2-Bowersox J. Experimental staphylococcal vaccine broadly protective in animal studies. NIH, 1999, 27, 55-58.

3-Clauditz A., Resch A., Wieland K.-P., Peschel A & ,.Götz F. Staphyloxanthin plays a role in the fitness of *Staphylococcus aureus* and its ability to cope with oxidative stress. Infection and Immunity, 2006, 74(8), 4950-4953.

4-Pelz A., Wieland K.-P., Putzbach K., Hentschel P., Albert K., & Götz F., Structure and biosynthesis of staphyloxanthin from *Staphylococcus aureus*. Journal of Biological Chemistry, 2005, 280(37), 32493-32498.

5-Lennette E. H., Balows A., Hausler Jr W. J., & Shadomy H. J., 1985. Manual of clinical microbiology (Vol. 146): American Society for Microbiology, Washington, DC.

6-Choi C. S., Yin C. S., Bakar A. A., Sakewi Z., Naing N. N., Jamal F., & Othman N. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among healthy adults. Journal of Microbiology, Immunology, and Infection= Wei mian yu gan ran za zhi,2006, 39(6), 458-464.

7-AL-Kazaz E. J., Melconian A. K., & Kandela N. J., Extraction of staphyloxanthin from *Staphylococcus aureus* isolated from clinical sources to determine its antibacterial activity against other bacteria.2014,1(2)25-75 .

8-Kurjogi M., Sanakal R., & Kaliwal B., Antibiotic susceptibility and antioxidant activity of *Staphylococcus aureus* pigment staphyloxanthin on carbon tetrachloride (ccl4) induced stress in swiss albino mice. Int J Biotechnol Appl,2010, 2, 33-40.

9-Marshall J. H., & Wilmoth G. J., Pigments of *Staphylococcus aureus*, a series of triterpenoid carotenoids. Journal of Bacteriology,1981,147(3), 900-913.

10-Chamberlain N. R., Mehrtens B., Xiong Z., Kapral F., Boardman J., & Rearick J .Correlation of carotenoid production, decreased membrane fluidity, and resistance to oleic acid killing in *Staphylococcus aureus* 18Z. Infection and Immunity,1991, 59(12), 4332-4337.