

مقاله تحقیقی

پروفایل ژن های اگزوتوکسین تبزای استرپتوکوکی (*spe*) در میان ایزوله های حامل و بیمار استرپتوکوکوس گروه A در ایران

فرشته بوربور عظیمی^۱، فهیمه باغبانی آرانی^{۲*}، ملیحه کرامتی^۳

۱. گروه میکروبیولوژی. دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین-پیشوا
۲. گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین-پیشوا
۳. بخش پایلوت بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران

* مسئول مکاتبات: آدرس الکترونیکی: fbaghbani@iauvaramin.ac.ir

محل انجام تحقیق: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۱۸

تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۲۰

چکیده

استرپتوکوکوس گروه A (GAS)، عامل چندین نوع بیماری تهاجمی و غیرتهاجمی می باشد. با این حال اطلاعات کمی درباره توزیع فاکتورهای ویروانس و ارتباط آن با محل جغرافیایی و همچنین علائم بالینی بیماران مبتلا در دسترس است. در مطالعه کنونی پروفایل ژن های اگزوتوکسین تبزای استرپتوکوکی (*speA*، *speB*، *speC*) در ۷۲ سویه GAS شامل ۳۲ ایزوله از افراد حامل و ۴۰ ایزوله از بیماران با علائم بالینی که از نمونه ها خون، ادرار، زخم و نازوفارنکس جداسازی شدند، بررسی شد. پروفایل ژن ها توسط روش واکنش زنجیره ای پلیمرز دوگانه (duplex-PCR) جهت شناسایی دو ژن *speA* و *speC* و نیز یک PCR منفرد برای شناسایی *speB* تعیین گردید. نتایج نشان داد ژن های بیماری زای *speA*، *speB* و *speC* به ترتیب در ۶۹/۴، ۶۹/۴ و ۶۶/۷ درصد از سویه ها حضور داشتند. در سویه های جدا شده از بیماران، فراوانی ژن های اگزوتوکسین *speA* ۶۷/۵، *speB* ۶۲/۵ و ژن *speC* ۶۷/۵ درصد بود. اگرچه ۷۱/۹ درصد از سویه های جدا شده از افراد حامل دارای ژن *speA*، ۷۸/۱۰ درصد دارای *speB* و ۶۵/۱۶۰ درصد دارای ژن *speC* بود، اما تفاوت معنی داری بین ایزوله های حامل و بیمار (بالینی) در فراوانی ژن های اگزوتوکسین وجود نداشت. در مجموع در این مطالعه شیوع ژن های *spe* در ایران برای اولین بار مورد بررسی قرار گرفت و طبق نتایج بدست آمده، توزیع فاکتورهای ویروانس در میان سویه های GAS ایرانی ارتباط با بیماری را نشان نمی دهد. قطعاً نتایج این مطالعه اطلاعات مفیدی پیرامون پتانسیل بیماریزایی سویه های GAS و نیز اپیدمیولوژی ملکولی این باکتری در ایران فراهم می کند.

واژگان کلیدی: استرپتوکوکوس پایوژنز، اگزوتوکسین، *speA*، *speB*، *speC*

مقدمه

مانند باکتری می، سلولیت، باد سرخ، مننژیت، پنومونی، التهاب پلانتار نکروزان و سندروم شوک سمی استرپتوکوکی در انسان می شود (۱).

باکتری استرپتوکوکوس پیوژنز گروه A (GAS)، باعث طیف گسترده ای از بیماری ها شامل عفونت های سطحی پوست و دستگاه تنفس فوقانی تا عفونت های تهاجمی و خطرناکی

بالینی متفاوت صورت پذیرفت. لازم به ذکر است مطالعات محدودی در خصوص GAS در ایران صورت گرفته که عمدتاً شامل بررسی فنوتیپی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌باشد (۱۰-۷).

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری از بیماران با علائم عفونت استرپتوکوکی و نیز افراد حامل بدون علامت در طی مدت یک سال صورت پذیرفت. کشت نمونه‌های جمع‌آوری شده در محیط بلاد آگار حاوی ۵٪ خون دفیبرینه به مدت ۲۴ ساعت در شرایط دمایی ۳۷ درجه سانتی‌گراد و دی‌اکسیدکربن ۱۰٪ انجام شد. شناسایی ایزوله‌های رشد یافته با استفاده از مورفولوژی کلنی، نحوه همولیز محیط کشت بلاد آگار، تست کاتالاز، رنگ‌آمیزی گرم و تست حساسیت به باسیتراسین (۰/۰۴U) انجام گرفت. سپس، سویه‌های تایید شده در محیط کشت مایع BHI (Brain heart infusion) حاوی ۲۰ درصد گلیسرول در ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

به منظور تعیین ویژگی‌های مولکولی سویه‌های GAS، استخراج DNA با استفاده از کیت DNA CinnaPure (سیناژن) صورت پذیرفت. ارزیابی کمی و کیفی DNA استخراج شده با استفاده از اسپکتروفتومتری صورت گرفت و نسبت‌های ۲۶۰/۲۸۰ و ۲۶۰/۲۳۰ بررسی شد. در نهایت جهت تایید کیفیت DNA، الکتروفورز روی ژل ۱٪ نیز انجام شد.

برای بررسی حضور ژن‌های *speA*، *speB* و *speC* در ایزوله‌های مورد مطالعه، با توجه به TM پرایمرهای طراحی شده دو ژن *speA* و *speC* با استفاده از یک تست duplex PCR و ژن *speB* نیز در یک PCR به صورت منفرد تکثیر گردید. توالی پرایمرهای مورد استفاده (۳) و اندازه قطعات تکثیری در جدول ۱ نشان داده شده است. حجم نهایی هر واکنش PCR ۲۰ میکرولیتر و شامل ۲ میلی‌مولار یون منیزیم (MgCl₂)، ۰/۲ میلی‌مولار dNTPs، ۴۰ نانوگرم از ژنوم باکتری، ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase و ۱۵ پیکومول از جفت پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) می‌باشد. تکثیر *speB* در ۳۵ سیکل و شرایط دناتوراسیون ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمرها در ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و سنتز DNA در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۵ ثانیه انجام شد. همچنین، دناتوراسیون

GAS دارای تعداد زیادی فاکتورهای بیماری‌زاست که به پاتوژنیسیته پیچیده آن کمک می‌کند از قبیل: پروتئین M، کپسول هیالورونیک‌اسید، استرپتوکیناز، استرپتولیزین، اگزوتوکسین‌های تب‌زای استرپتوکوکی (*spe*)، پروتئین‌های متصل‌شونده به فیبرونکتین، C5a پیتیداز. در این میان پروتئین M و اگزوتوکسین‌های تب‌زای استرپتوکوکی مهم‌ترین فاکتور-های ویروانس در GAS هستند (۲). اگزوتوکسین‌های تب‌زای استرپتوکوکی توسط ژن‌های *spe* (Streptococcal pyrogenic exotoxin) کدشده و توسط طیف وسیعی از استرپتوکوکوس‌ها ترشح می‌شوند، فعالیت بسیار قوی به‌عنوان سوپراآنتی‌ژن دارند و نقش کلیدی در بروز بیماری ایفاء می‌کنند (۳). در مجموع بر اساس ساختمان پروتئینی و نحوه عملکرد، ۱۴ سوپراآنتی-ژن *speI*، *speK*، *speL*، *speJ*، *speB*، *speO*، *speN*، *speM*، *speA*، *speC*، *speG*، *speH*، اگزوتوکسین میتوژن استرپتوکوکی Z (*smeZ*) و سوپراآنتی‌ژن‌های استرپتوکوکی (SSA) در GAS تا به امروز شناسایی شده‌است (۴). در واقع پروتئین‌های *spe*، توکسین‌هایی تب‌زا هستند که باعث افزایش حساسیت میزبان به شوک اندوتوکسیک و سرکوب تولید ایمنوگلوبولین‌ها می‌شوند. همچنین با فعالیت میتوژنیک خود زیر مجموعه‌ای از T-cell های خاص را فعال می‌کند که این فعالیت منجر به فعال شدن گسترده سیستم ایمنی و رهاسازی سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند فاکتور نکروز تومور α ، اینترلوکین ۶، اینترلوکین ۲ و اینترفرون گاما می‌شود که نتیجه آن می‌تواند شوک و آسیب گسترده باشد (۵).

مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که پروفایل ژن‌های اگزوتوکسین در بین سویه‌های جدا شده از بیماران و افراد حامل و نیز سویه‌های مناطق جغرافیایی مختلف متفاوت است (۲،۶). این تفاوت علاوه بر اینکه می‌تواند اطلاعاتی پیرامون نقش این ژن‌ها در نحوه بیماری‌زایی استرپتوکوک فراهم کند، همچنین اشاره به تفاوت‌های اپیدمیولوژی این باکتری دارد. لذا با توجه به اهمیت عفونت‌های استرپتوکوکی از یک طرف و نیز عدم گزارش در مورد سویه‌های ایران مطالعه حاضر برای اولین بار به منظور فراهم کردن اطلاعات ملکولی پیرامون فراوانی ژن-های *speA*، *speB* و *speC* در سویه‌های GAS و همچنین مقایسه میزان فراوانی ژن‌های اگزوتوکسین بین سویه‌های بالینی و افراد حامل و نیز سویه‌های جدا شده از بیماران با علائم

در تمامی مراحل تکثیر با PCR از سوش استاندارد *S. pyogenes* ATCC strains 12351 به عنوان کنترل مثبت و از واکنش فاقد DNA نیز به عنوان کنترل منفی استفاده شد. پس از محاسبه میزان فراوانی هر ژن در ایزوله‌های GAS تفاوت فراوانی ژن‌ها در دو گروه ایزوله‌های جدا شده از بیماران و افراد حامل با استفاده از آزمون مربع کای و به کمک نرم افزار SPSS-22 مورد بررسی قرار گرفت. $P\text{-value} < 0.05$ معنادار در نظر گرفته شد.

اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و تکثیر نهایی واکنش در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. DuplexPCR جهت ارزیابی حضور ژن‌های *speA* و *speC* نیز در شرایط دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمرها در ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و تکثیر DNA در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و برای سیکل انجام شد. در نهایت الکتروفورز محصولات PCR در ژل آگارز ۱٪ حاوی Gel Red تحت شرایط ولتاژ ۸۰ ولت به مدت ۶۰ دقیقه انجام شد و نتایج حاصله در طول موج UV مورد آنالیز قرار گرفت.

جدول ۱ - پرایمرهای مورد استفاده جهت بررسی ژن *speA*, *speC*, *speB* در سویه‌های GAS

نام ژن	توالی پرایمر	اندازه قطعه (bp)	در
<i>SpeB</i>	Forward: AAGAAGCAAAAAGATAGC Reverse: TGGTAGAAGTTACGTCC	۹۵۵	بین
<i>SpeA</i>	Forward: TAAGAACCAAGAGATGG Reverse: ATTCTTGAGCAGTTACC	۲۴۸	
<i>SpeC</i>	Forward: GATTCTACTTATTTCACC Reverse: AAATATCTGATCTAGTCCC	۵۸۴	

سویه‌های جدا شده از بیمار و حاملین الگوی متفاوتی دارد اما از نظر آماری این تفاوت در مورد هر سه ژن معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۲). همچنین میزان فراوانی این سه ژن در بین سویه‌های بیماریزای فارنژیته و غیر فارنژیته نیز تفاوت دارد. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، این تفاوت در ژن *speA* با فراوانی ۷۵ درصد در سویه‌های فارنژیته و ۵۰ درصد در غیر فارنژیته‌ها، بیشتر می‌باشد. بررسی حضور توام ژن‌های *spe* در سویه‌های GAS نشان می‌دهد که در ۲۵٪ سویه‌های بیماری‌زا و ۳۷/۵٪ سویه‌های جدا شده از حاملین هر سه ژن *spe* مورد بررسی به صورت هم‌زمان دیده می‌شوند. چهار سویه بیماری‌زا و یک سویه جدا شده از حاملین نیز هیچکدام از ژن‌های مورد بررسی را نداشتند (جدول ۳).

بحث

نقش سوپرآنتی‌ژن‌ها در بیماری‌زایی با مطالعات اپیدمیولوژیک اخیر که نشان‌دهنده افزایش نسبی ایزوله‌های بیماری‌زایی است که دارای برخی از سوپرآنتی‌ژن‌ها می‌باشند

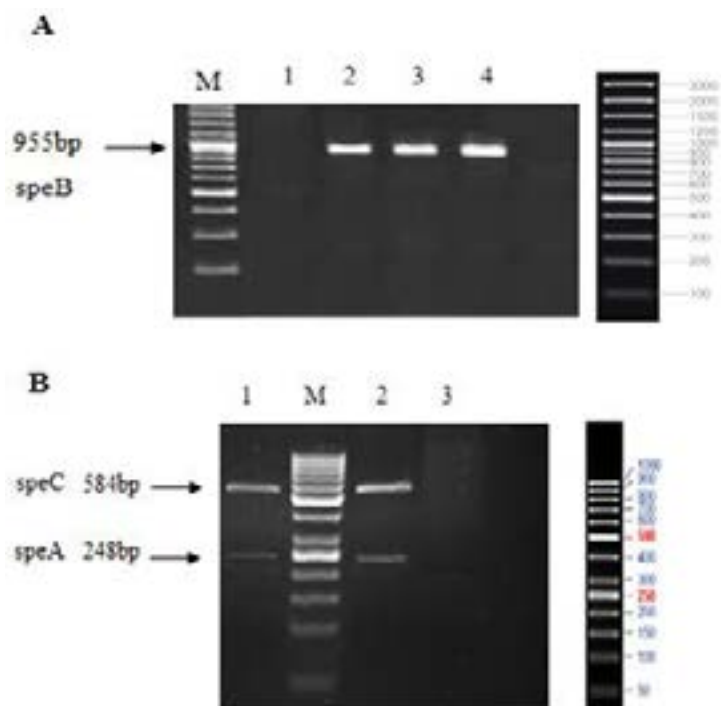
نتایج

در این مطالعه ۴۰ سویه GAS از بیماران (میانگین سنی ۹/۳ سال) و ۳۲ سویه از ناقلین بدون علامت (میانگین سنی ۱۶ سال) جدا شد که در مجموع از ۴۰ سویه جدا شده از بیماران، ۱۲ سویه (۳۰٪) از نمونه‌های بیماریزای غیرفارنژیته شامل نمونه‌های جدا شده از گوش (۴ مورد)، پوست (۱ مورد)، ادرار (۵ مورد) و خون (۲ مورد) و ۲۸ سویه (۷۰٪) از نمونه‌های بیماریزایی فارنژیته بود. پس از استخراج DNA از سویه‌های به دست آمده، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن‌های *speA*, *speB* و *speC*، تست PCR جهت بررسی حضور این ژن‌ها صورت گرفت. تصویر ۱ تکثیر موفق ژن *SpeB* در یک PCR منفرد (A) و ژن‌های *speA* و *speC* را در duplex PCR، (B) نشان می‌دهد. در هر واکنش PCR حضور باند مورد نظر در کنترل مثبت و عدم حضور آن در کنترل منفی واکنش، صحت انجام واکنش را تایید می‌کند.

نتایج بررسی ملکولی نشان داد در بین ۷۲ سویه GAS مورد مطالعه فراوانی سه ژن *speA*, *speB* و *speC* به ترتیب ۶۶/۷، ۶۹/۴ و ۶۹/۴ درصد می‌باشد. اگرچه توزیع این سه ژن

تهاجمی است. مطالعه Eriksson و همکاران از جمله این بررسی‌ها است (۱۲). هرچند در مقابل مطالعاتی نیز وجود دارد که این ارتباط را رد می‌کند (۱۳-۱۵).

و نیز مطالعات سرولوژیک که پاسخ ایمنی نسبت به سوپرآنتی ژن‌ها را نشان داده است، اثبات شده است (۱۱). نتایج برخی از مطالعات بیانگر ارتباط بین اگزوتوکسین‌ها و بیماری‌های



شکل ۱ - نتایج PCR ژن‌های *speB* و *speA*، *speC* در سویه‌های GAS. (A) نتایج حاصل از تکثیر ژن *speB*: M: مارکر DNA (DNA Ladder marker 1Kb, Fermentas). (B) نتایج duplex PCR برای ژن‌های *speA* و *speC*: مارکر DNA (DNA Ladder Marker 50 bp, Fermentas). چاهک ۱: کنترل مثبت، چاهک ۲: نمونه مثبت، چاهک ۳: کنترل منفی.

جدول ۲ - درصد حضور ژن‌های *speA*، *speB* و *speC* در سویه‌های استرپتوکوکوس پایوژنز مورد مطالعه.

سویه‌های حامل ژن (%)				نمونه‌ها
<i>SpeA</i>	<i>SpeB</i>	<i>SpeC</i>	تعداد	
۴۸ (۶۶/۷)	۵۰ (۶۹/۴)	۵۰ (۶۹/۴)	۷۲	کل سویه‌ها
۲۷ (۶۷/۵)	۲۵ (۶۲/۵)	۲۷ (۶۷/۵)	۴۰	سویه‌های بیماری‌زا
۶ (۵۰)	۷ (۵۸/۳)	۸ (۶۶/۶)	۱۲	نمونه‌های بیماری‌زای غیرفارنژیت
۲۱ (۷۵)	۱۸ (۶۴/۲)	۱۹ (۶۷/۱۸)	۲۸	نمونه‌های بیماری‌زای فارنژیت
۲۳ (۷۱/۸)	۲۵ (۷۸/۱)	۲۱ (۶۵/۶)	۳۲	سویه‌های غیر بیماری‌زا
۰/۱۸۶۷	۰/۱۵۳	۰/۶۸۹		<i>p value</i> *

* مقدار *p value* تفاوت فراوانی بین سویه‌های بیماری‌زا و غیربیماری‌زا.

جدول ۳: حضور هم‌زمان ژن های *speA*، *speB* و *speC* در سویه‌های حامل و بیمار (تعداد=n)

Non of genes n(%)	<i>speA/SpeB</i> n(%)	<i>SpeA/SpeC</i> n(%)	<i>SpeB/SpeC</i> n(%)	<i>SpeA/SpeB/ SpeC</i> n(%)	<i>SpeA</i> n(%)	<i>SpeB</i> n(%)	<i>SpeC</i> n(%)	Spe سویه‌ها
۴ (۱۰)	۹ (۲۲/۵)	۸ (۲۰)	۶ (۱۵)	۱۰ (۲۵)	۰ (۰)	۰ (۰)	۳ (۷/۵)	بیماری‌زا
۱ (۳/۱)	۶ (۱۸/۷)	۲ (۶/۲)	۶ (۱۸/۷)	۱۲ (۳۷/۵)	۳ (۹/۳)	۱ (۳/۱)	۱ (۳/۱)	حامل
۵ (۶/۹)	۱۵ (۲۰/۸)	۱۰ (۱۳/۸)	۱۲ (۱۶/۶)	۲۲ (۳۰/۵)	۳ (۴/۱)	۱ (۱/۳)	۴ (۵/۵)	کل

حضور ژن *speB* در سویه‌های جداسده از بیماران در کانادا ۴۳٪ (۱۷) و در مطالعه حاضر ۶۲/۵۰٪ بود. نتایج مطالعه حاضر در مورد حضور این ژن در سویه‌های بیمار تنها با مطالعه‌ای در آفریقای جنوبی با فراوانی ۷۹٪ نزدیک می‌باشد. حضور این ژن در حاملین بدون علامت در مطالعه ما ۷۸٪/۱۰ بود در حالی که در آفریقای جنوبی فراوانی *speB* بسیار کمتر (۴۷٪) از ایران می‌باشد (۱۶). سویه‌های غیرفارنژیت حامل ژن *speB* در نروژ (۴)، دانمارک (۲۱)، هند (۲) و انگلیس (۲۲) به ترتیب ۹۹/۶۰٪، ۱۰۰٪، ۴۵٪ و ۱۰۰٪ بود، اما در مطالعه حاضر ۵۸/۳۳٪ گزارش شد. این تفاوت‌ها اگرچه ممکن است به دلیل ساختار ژنتیکی متفاوت سویه‌های ایرانی نسبت به مناطق جغرافیایی دیگر باشد اما همچنان باید توجه داشت که در صورت مطالعه روی نمونه‌های بیشتر غیرفارنژیته احتمال تغییر این عدد نیز وجود دارد.

مطالعات قبلی نشان دادند که ژن *speC* در تشدید بیماری نقش دارد (۱۹، ۲۲، ۲۳) و فراوانی بالای آن در نمونه‌های بیمار و حاملین بدون علامت در ایران هشدار است که با فعال شدن آن احتمال بیماری‌زاشدن سویه‌های ایرانی وجود دارد. در این مطالعه این ژن در ۲۱ نمونه (۶۵٪/۶۰) از حاملین بدون علامت و ۲۷ نمونه (۶۷٪/۵۰) بیمار وجود داشت. در آفریقای جنوبی این ژن در ۷۱٪ سویه‌های بیمار و ۴٪ حاملین بدون علامت یافت شد (۱۶)، همچنین این ژن در سویه‌های غیرفارنژیت ۸ نمونه (۶۶٪/۶۶) و در ۱۹ نمونه (۶۷٪/۸۵) از سویه‌های فارنژیت بود که تقریباً با حضور این ژن در دانمارک با ۵۹٪ در سویه‌های غیرفارنژیت و ۷۱٪ در سویه‌های فارنژیت همسو می‌باشد (۲۱). اما در آلمان ۴۱/۸۰٪ سویه‌های فارنژیت

در تکمیل این مطالعات و به منظور فراهم کردن اطلاعاتی برای اولین بار از وضعیت این ژن‌ها در سویه‌های ایرانی، در مطالعه حاضر سویه‌های استرپتوکوکوس پایوژنز جداسده از نمونه‌های بالینی و حاملین بدون علامت از نظر حضور ژن‌های *speA*، *speB* و *speC* مورد بررسی قرار گرفت.

طبق نتایج بدست آمده ژن *speA* برای حاملین بدون علامت در ایتالیا ۱۳/۹۰٪ (۱۹)، در آفریقای جنوبی برای حاملین بدون علامت ۸٪ و برای سویه‌های بیمار ۲۲٪ بوده است (۱۶). این یافته‌ها، تفاوت توزیع این ژن در جمعیت‌های مختلف را یادآور می‌شود. همچنین در پژوهش حاضر حضور این ژن در سویه‌های فارنژیت و غیرفارنژیت مورد بررسی قرار گرفت به طوری که *speA* در ۵۰٪ از سویه‌های غیرفارنژیت و (۷۵٪) از سویه‌های فارنژیته حضور داشت. اگرچه این نتیجه با یافته‌های مطالعه‌ای در کانادا که در آن ۸۱/۳۰٪ از نمونه‌های غیرفارنژیته ژن *speA* را دارا بودند (۱۷)، مشابه است، اما در برخی بررسی‌ها نیز نتایج متفاوتی گزارش شده است. فراوانی ژن *speA* در تایوان ۹/۵۰٪ برای سویه‌های غیرفارنژیت و ۱۷/۲۰٪ برای سویه‌های فارنژیت (۱۸)، در ایتالیا ۱۶/۸۰٪ برای سویه‌های فانژیت (۱۹)، در دانمارک ۳۷٪ برای سویه‌های غیر فارنژیت و ۱۸٪ برای سویه‌های فارنژیت گزارش شده است (۲۱). در مطالعه حاضر فراوانی ژن *speA* در سویه‌های فارنژیت بسیار بیشتر می‌باشد، با توجه به کم بودن تعداد نمونه‌های غیرفارنژیت در این مطالعه، پیشنهاد می‌گردد بررسی‌های بیشتری روی سویه‌های غیرفارنژیت استرپتوکوکوس پایوژنز و به ویژه جداسده از مناطق دیگر ایران انجام گردد.

غیربیماریزا، چرا که تحت شرایطی مثل تغییرات محیطی یا تعاملات باکتری و میزبان ممکن است این ژن‌ها فعال شده و باکتری بیماری‌زا گردد. این مساله دقیقا هم در مطالعه حاضر و هم مطالعه انجام شده در ایتالیا قابل ملاحظه است چرا که در هر دو مطالعه فراوانی ژن‌های *spe* در حاملین نیز شبیه سویه‌های بیمار بالا می‌باشد. این نکته لازم است توسط پزشکان مورد توجه قرارگیرد چرا که سویه‌ای از GAS که در حال حاضر علامتی ایجاد نکرده یا تنها علائم ملایمی از عفونت فارنژیته را دارد ممکن است تحت تغییر شرایط بیمار به سویه‌ای خطرناک با تظاهرات شدید بالینی تبدیل شود.

نتیجه گیری

بررسی حضور ژن‌های *speA*، *speB* و *speC* در بین سویه‌های بالینی و افراد سالم اطلاعاتی پیرامون نحوه ارتباط علائم بالینی و حضور این ژن‌ها در سویه‌های بالینی به ما می‌دهد. علاوه بر این اطلاعات اپیدمیولوژیکی در مورد وضعیت سویه‌های بومی یک منطقه جغرافیایی ارائه می‌کند، به طوری که طبق نتایج مطالعه حاضر فراوانی این ژن‌ها به طور کلی نسبت به مطالعات دیگر در دیگر مناطق دنیا بیشتر می‌باشد که می‌تواند اشاره‌ای به بالا بودن پتانسیل بیماری‌زایی بیشتر سویه‌های ایرانی داشته باشد. هر چند فراوانی این ژن‌ها در دو گروه سالم و بیمار تفاوت معنی‌داری نداشتند. اما این حضور بالا در سویه‌های جدا شده از افراد سالم هشدار است که احتمالا در شرایط فرصت طلب این سویه‌ها نیز بتوانند بیماری‌زا شده و بیماری‌های خطرناکی مانند فارنژیته، گلوومرولونفریت، اوتیت، تب مخملک و غیره را ایجاد کنند.

تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر حاصل پایان نامه دانشجویی کارشناسی ارشد رشته میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا می باشد.

دارای این ژن بودند که با مطالعه حاضر همسو نمی‌باشد در حالی که ایزوله‌های غیرفارنژیته ۶۰/۸۰٪ در آلمان (۲۰) از لحاظ حضور این ژن با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. به طور کلی نتایج بیانگر توزیع متفاوت ژن‌های اگزوتوکسین در مناطق مختلف بوده در عین حال، بیانگر بالا بودن فراوانی این ژن‌ها در سویه‌های ایرانی است.

در این مطالعه اگرچه فراوانی *speA* در سویه‌های سالم یا حاملین بدون علامت (۷۱/۹۰٪) بیشتر از سویه‌های بیمار (۶۷/۵۰٪) است، اما نتایج آنالیز آماری نشان داد که این تفاوت معنی‌دار نمی‌باشد ($P=0.689$). فراوانی ژن *speB* نیز در سویه‌های جدا شده از بیماران ۶۲/۵۰٪ و سویه‌های جدا شده از افراد سالم ۷۸/۱۰٪ تفاوت معنی‌داری ندارد ($P=0.153$). همچنین فراوانی ژن *speC* در سویه‌های سالم ۶۵٪ بود در صورتی که ۲۷ نمونه از سویه‌های بیمار وجود ژن *speC* را نشان دادند، این میزان تفاوت در دو گروه سالم و بیمار معنی‌دار نمی‌باشد ($P=0.867$). تاجایی که ما می‌دانیم تنها دو مطالعه تاکنون به بررسی تفاوت فراوانی این ژن‌ها در دو گروه بیمار و حاملین سالم پرداخته‌اند که نتایج Creti و همکاران در سال ۲۰۰۵ در کشور ایتالیا مشابه مطالعه حاضر بوده و اختلاف معنی‌داری بین حضور این ژن‌ها در دو گروه مشاهده نشد (۱۹). در مقابل مطالعه‌ای در آفریقای جنوبی در سال ۲۰۱۲ انجام شده که نشان می‌دهد فراوانی هر سه ژن در گروه بیمار و حاملین بدون علامت به طور معنی‌داری متفاوت است. (۱۶). به عبارتی این مطالعه به نوعی نشان داده است که حضور ژن‌های اگزوتوکسین تب‌زا و بیان آنها در باکتری باعث بیماری‌زایی سویه‌های آفریقای جنوبی شده است. نکته‌ای که در اینجا لازم است ذکر گردد این است که حتی اگر فراوانی این ژن‌ها در گروه بیمار و حاملین تفاوت قابل ملاحظه‌ای نداشته باشد و نشان‌دهنده ارتباط مستقیم این ژن‌ها با بیماری‌زایی در سویه‌های یک منطقه جغرافیایی نداشته باشد اما اگر فراوانی ژن‌های اگزوتوکسین تب‌زا در گروه حاملین بالا باشد هشدار است بر پتانسیل بیماری‌زایی سویه‌های

منابع مورد استفاده

1. Facklam, R., 2002. What Happened to the Streptococci: Overview of Taxonomic and Nomenclature Changes. Clin Microbiol 15: 613-630.
2. Balaji, K., Thenmozhi, R., Prajna, L., Dhananjeyan, G., Pandian, S. K., 2013.

- Comparative analysis of emm types, superantigen gene profiles and antibiotic resistance genes among *Streptococcus pyogenes* isolates from ocular infections, pharyngitis and asymptomatic children in south India. *Infect Genet Evol* 19: 105-112.
3. Hotomi, M., Hotomi, D.S., Togawa, A., Ikeda, Y., Takei, S., Kono, M., Ogami, M., Ubukata, K., Sugita, R., Fujihara, K., Yamanaka, N., 2009. Distribution of fibronectin-binding protein genes (prtF1 and prtF2) and streptococcal pyrogenic exotoxin genes (spe) among *Streptococcus pyogenes* in Japan. *J Infect Chemother* 15: 367-373.
 4. Meisal, R., Andreasson, I. K. G., Hqiby, E. A., Aaberge, I. S., Michaelsen, T. E., Caugant, D. A., 2010. *Streptococcus pyogenes* isolates causing severe infections in Norway in 2006 to 2007: emm types, multilocus sequence types, and superantigen profiles. *J Clin Microbiol* 48: 842-851.
 5. Commons, R., Rogers, S., Gooding, T., Danchin, M., Carapetis, J., Robins-Browne, R., Curtis, N., 2008. Superantigen genes in group A streptococcal isolates and their relationship with emm types. *J Med Microbiol* 57: 1238-1246.
 6. Maripuu, L., Eriksson, A., Norgren, M., 2008. Superantigen gene diversity among clinical group A streptococcal isolates. *FEMS Immunol Med Microbiol* 54: 236-244.
 7. Ghaffari, M., Moaddab, R., Rafi, A., Roshdi-Maleki, M., 2012. Study of group A β -hemolytic streptococci colonization and resistance drug of isolates on 12-14 year old healthy students of aras free zone schools. *Iran J Med Microbiol* 6: 40-50 (In Persian).
 8. Javan, K., Baghbani-Arani, F., Davari, K., 2015. Characterization of macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes*: prevalence, phenotype and genotype. *Pajouhandeh* 20: 45-50 (In Persian).
 9. Sasan, M. S., Riyahi, F., Birjandi, B., Naderinasab, M., Ejtehadi, M. M., 2011. Extremely high prevalence of erythromycin resistance of group A beta hemolytic Streptococci in Mashhad (Iran). *Iran Pediatr* 21: 126-128 (In Persian).
 10. Mohseni, F., Shahidizandi, B., Shabani, Shahrabak, Z., Rezaeian, M., Jafarpour, P., Hadavi, M., 2013. Antibiotic resistance pattern on Beta hemolytic (A) streptococci among Rafsanjan's secondary school pupils in 2009. *J Rafsanjan Univ Med Scie* 12: 291-298 (In Persian).
 11. Commons, R. J., Smeesters, P. R., Proft, T., Fraser, J. D., Browne, R. R., Curtis, N., 2014. Streptococcal superantigens: categorization and clinical associations. *Trends Mol Med* 20: 48-62.
 12. Eriksson, B. K., Andersson, J., Holm, S. E., Norgren, M., 1999. Invasive Group A Streptococcal Infections: Isolates Expressing Pyrogenic Exotoxins A and B in Combination with Selective Lack of Toxin-Neutralizing Antibodies Are Associated with Increased Risk of Streptococcal Toxic Shock Syndrome. *J Infect Dis* 180:410-8.
 13. Mylvaganam, H., Bjorvatn, B., Osland, A., 2000. Distribution and sequence variations of selected virulence genes among group A streptococcal isolates from western Norway. *APMIS* 108: 771- 8.
 14. Hsueh, P. R., Wu, J. J., Tsai, P. J., Liu, J. W., Chuang, Y. C., Luh, K. T., 1998. Invasive group A streptococcal disease in Taiwan is not associated with the presence of streptococcal pyrogenic exotoxin genes. *Clin Infect Dis* 26: 584-9.
 15. Deschemaeker, P., Looock, F. V., Hauchecorne, M., Vandamme, P., Goossens, H., 2000. Molecular characterization of group A streptococci from invasive and non- invasive disease episodes in Belgium during 1993-1994. *J Med Microbiol* 49: 467-471.
 16. Muhamed, B., 2012. The molecular characterization of group A Srteptococcus among children with pharyngitis in the Vanguard community (Bonteheuwel/ Langal), Cape town, South Africa. University of Cape Town: Ph. D thesis.
 17. Tyler, S. D., Johnson, M. W., Huang, J. C., Ashton, F. E., Wang, G., Low, D. E., Rozee, K. R., 1992. Streptococcal erythrogenic toxin genes: detection by polymerase chain reaction and association with disease in strain isolated in Canada from 1940 to 1991. *J Med Microbiol* 30: 3127-3131.
 18. Creti, R., Gherardi, G., Imperi, M., Hunolstein, C. V., Baldassarri, L., Pataracchia, M., Alfarone, G., Cardona, F., Dicuonzo, G., Orefici, G., 2005. Association of group A streptococcal emm types with virulence traits and macrolide resistance genes is independent of the source of isolation. *J Med Microbiol* 54: 913-917.
 19. Wu, P. C., Lo, W. T., Chen, S. J., Wang, C. C., 2013. Molecular characterization of group A streptococcal isolates causing scarlet fever and

20. pharyngitis among young children: A retrospective study from a northern Taiwan medical center. *J Microbiol Immunol Infect* 6: 1-7.
21. Ekelund, K., Darenberg, J., Norrby T. A., Hoffmann, S., Bang, D., Skinhqj, P., Konradsen, H. B., 2005. Variations in emm type among group A streptococcal isolates causing invasive or non-invasive infections in a nationwide study. *J Clin Microbiol* 43: 3101–3109.
21. Luca H. B., Ekelund, K., Vander, M., Staum-Kaltoft, M., Hammerum, A., Jasir, A., 2008. Clinical and epidemiological aspects of invasive *Streptococcus pyogenes* infections in Denmark during 2003 and 2004. *J Clin Microbiol* 46: 79-86.
22. Talkington, D. F., Schwartz, B., Black, C. M., Todd, J. K., Elliott, J., Breiman, R. F., Facklam, R. R. 1993. Association of phenotypic and genotypic characteristics of invasive streptococcus pyogenes isolates with clinical components of Streptococcal toxic shock syndrome. *Infect Immun* 61: 3369-3374.
23. Brussow, H., Canchaya, C., Hardt, W., 2004. Phages and the evolution of bacterial pathogens: from genomic rearrangements to lysogenic conversion. *Microbiol Mol Biol Rev* 68: 560–602.