Antibiotic resistance pattern and biofilm production in Staphylococcus aureus isolates and Staphylococcus epidermidis isolated from hospital infections Tehran in 2016

Sina Mashaiekhi[1], Kumarss Amini[2]

Background and Aim: *Staphylococci* are common pathogens of humans and livestock that able to produce a wide range of diseases. *Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus aureus* are the important factors for biofilm production in patients. This study was designed to determine the ability of biofilm production and the resistance pattern of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* strains that isolated from hospital and food infectious.

Materials and Methods: This descriptive cross-sectional study was performed on 117 hospital samples. First, biochemical tests were used in order to isolate and confirm Staphylococcus epidermidis and aureus strains. To determine biofilm production, the Microtiter plate method was applied and the presence of *icaA* and *icaD* genes are were identified using PCR. Antibiotic resistance pattern of strains was evaluated by Disk diffusion method related to 7 antibiotics.

Results: 12 strains of *Staphylococcus epidermidis* and 20 strains of *Staphylococcus aureus* were isolated from 117 hospital samples by biochemical tests, of these, 6 strains of the *Staphylococcus epidermidis* and 16 strains of the *Staphylococcus aureus* were the producers of biofilm. PCR results shown that *icaA* and *icaD* genes were present in 15 strains of *Staphylococcus aureus* and 6 strains of the *Staphylococcus epidermidis*. The highest antibiotic resistance in the antibiotic resistance test was related to penicillin, gentamicin, and amikacin respectively.

Conclusion: Extending clinical samples of biofilm producers with multiple antibiotic resistance can be considered as a serious risk for patients and lead to increase mortality rate in hospitals.

Key Words: *Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Biofilm, Antibiotic Resistance*

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2018; 25(2): 160-166.

Received: June 24, 2017 Accepted: June 11, 2018

[1] *Department of Microbiology, Sirjan Branch Islamic Azad University, Sirjan, Iran.*
[2] ***Corresponding Author;*** *Department of Microbiology, Facultyof basic science, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran. Tel: 09125454074 Fax: 021-44850954 Email:dr_kumarss_amini@yahoo.com*

مقاله کوتاه

بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تولید بیوفیلم در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس‌اورئوس* و *استافیلوکوکوس‌اپیدرمیدیس* جداشده از عفونت‌های بیمارستانی شهر تهران، در سال ۱۳۹۵

سینا مشایخی[۱]، کیومرث امینی[۲]

چکیده

زمینه و هدف: *استافیلوکوکوس‌ها*، پاتوژن مشترک بین انسان و گونه‌های مختلف دامی است که قابلیّت ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌های را دارد. *استافیلوکوکوس‌اپیدرمیدیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، عوامل مهمی در ایجاد بیوفیلم در بیماران هستند. این مطالعه با هدف تعیین توانایی تولید بیوفیلم و الگوی مقاومتی سویه‌های *استافیلوکوکوس‌اپیدرمیدیس* و *استافیلوکوکوس‌اورئوس* جداشده از عفونت‌های بیمارستانی و مواد غذایی انجام گرفت.

روش تحقیق: این مطالعه توصیفی-مقطعی بر روی ۱۱۷نمونه بیمارستانی انجام شد. ابتدا آزمایش‌های بیوشیمیایی بر روی نمونه‌ها به‌منظور جداسازی و تأیید جنس *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* انجام گردید؛ سپس برای تعیین تولید بیوفیلم، از روش میکروتیترپلیت استفاده شد و حضور ژن‌های *icaA* و *icaD* با استفاده از PCR مشخص گردید. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها به روش دیسک دیفیوژن برای ۷ آنتی‌بیوتیک تعیین شد.

یافته‌ها: تعداد ۱۲ سویه *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و ۲۰ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌وسیله آزمایش‌های بیوشیمیایی از ۱۱۷نمونه بیمارستانی جداسازی شد که از این تعداد ۶ سویه *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و ۱۶ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* مولّد بیوفیلم بودند. نتایج PCR نشان‌دهنده حضور همزمان ژن‌های *icaA* و *icaD* در ۱۵ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* و ۶ سویه *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* بود. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سنجش مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌ترتیب مربوط به پنی‌سیلین، جنتامایسین و امیکاسین بود.

نتیجه‌گیری: گسترش نمونه‌های بالینی مولّد بیوفیلم با مقاومت‌های‌آنتی‌بیوتیکی چندگانه، می‌تواند به‌عنوان خطری جدّی برای بیماران محسوب شده و باعث افزایش موارد مرگ و میر در بیمارستان‌ها گردد.

واژه‌های کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، بیوفیلم، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۷؛ ۲۵(۲): ۱۳۲-۱۳۸.

دریافت: ۱۳۹۶/۴/۳ پذیرش: ۱۳۹۷/۳/۲۱

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سیرجان، سیرجان، ایران

[۲] **نویسنده مسؤول؛** گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، ساوه، ایران

آدرس: ساوه- دانشگاه آزاد اسلامی- واحد ساوه- دانشکده علوم پایه

تلفن: ۰۹۱۲۵۴۵۴۰۷۴ نمابر: ۰۲۱-۴۴۸۵۰۹۵۴ پست الکترونیکی: dr_kumarss_amini@yahoo.com

مقدمه

استافیلوکوکوس‌ها در طبیعت انتشار وسیعی داشته و غالباً به‌عنوان میکروفلور در انسان و حیوانات مطرح هستند. این باکتری‌ها می‌توانند به‌صورت اجتماع بیوفیلم در سطح کاتترها و سوندهای ادراری رشد کنند و مقاومت فوق‌العاده‌ای نسبت به عوامل ضدّ میکروبی از خود نشان می‌دهند (۱). بیوفلیم، ساختاری متشکّل از یک جمعیت باکتریایی است که به‌وسیله یک ماتریکس اگزوپلی‌ساکاریدی تولیدشده توسط باکتری، محصور شده است. این ویژگی به باکتری توانایی اتصال به سطوح مختلف و همچنین افزایش مقاومت ذاتی به آنتی‌بیوتیک‌ها را می‌دهد (۲). از میان تمامی اعضای خانواده استافیلوکوکاسیه، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* به‌عنوان مهم‌ترین پاتوژن‌ها مطرح هستند و از عوامل مهم بروز عفونت بیمارستانی محسوب می‌شوند. این باکتری‌ها به‌واسطه تشکیل بیوفیلم، توانایی اتصال به سطوح مختلف از قبیل ونتیلاتورهای مکانیکی، کاتتر و بافت میزبان را دارا هستند (۳). از طرف دیگر تشکیل بیوفیلم منجر به ایجاد عفونت‌های مقاوم به درمان می‌شود که درنتیجه سبب افزایش هزینه‌های ناشی از درمان، شکست درمانی و عود عفونت می‌گردند. تخمین زده می‌شود که ۶۵درصد از عفونت‌های بیمارستانی در ایالات‌متحده، با تشکیل بیوفیلم‌ها در ارتباط بوده و خسارات اقتصادی ناشی از بیوفیلم‌ها سالیانه بیش از یک میلیارد دلار هزینه دربر دارد (۴).

در این ارگانیسم‌ها، تولید بیوفیلم ناشی از فعالیت اپرونی تحت عنوان icaABCD می‌باشد که مهم‌ترین عامل برای تشکیل ماتریکس اگزوپلی‌ساکاریدی و از عوامل چسبندگی بین سلولی PIA[1] است (۳). ژن‌های *icaA*، *icaB*، *icaC* و *icaD* توسط سیستم‌های تنظیمی متعددی کنترل می‌شوند. این سیستم‌های تنظیمی شامل SarA و سیگما B است. علاوه بر سیستم اپرون icaABCD، سیستم agr نیز در ایجاد بیوفیلم نقش دارد (۴). از میان ژن‌های لوکوس *ica*، *icaA* و *icaD* نقش بیشتری در تشکیل بیوفلیم در *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* بازی می‌کنند (۲، ۴).

با توجه به شیوع بسیار بالای عفونت‌های بیمارستانی ناشی از *استافیلوکوکوس‌ها* و همچنین گسترش عوامل افزایش‌دهنده مقاومت آنتی‌بیوتیکی، این مطالعه با هدف بررسی توان تشکیل بیوفیلم و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی این سویه‌ها به انجام رسید.

روش تحقیق

این مطالعه توصیفی–مقطعی با کد اخلاق IR. 1396. IAUC. 332127630 در دانشگاه آزاد اسلامی واحد سیرجان انجام گردید. نمونه‌های بالینی از سه بیمارستان آموزشی تهران (امام خمینی، شریعتی و مرکز طبی اطفال) در یک بازه زمانی ۶ماهه از ابتدای اردیبهشت تا پایان مهر ۱۳۹۵ جمع‌آوری شد. نمونه‌ها شامل: خون، ادرار، چرک، زخم، مایع مغزی نخاعی، خلط و آبسه بود. پس از انتقال نمونه‌ها بر روی محیط آگار خون‌دار (شرکت مرک، آلمان) به آزمایشگاه تحقیقاتی پاسارگاد (واقع در تهران)، تمامی نمونه‌ها با استفاده از تست‌های استاندارد میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی تعیین هویّت شدند.

حساسیت آنتی‌بیوتیکی بر روی محیط مولر هینتون آگار و با استفاده از روش انتشار از دیسک برای آنتی‌بیوتیک‌های اگزاسیلین (۱µg)، سیپروفلوکساسین (۵µg)، پنی‌سیلین (۱۰µg)، اریترومایسین (۱۵µg)، تتراسایکلین (۳۰µg)، آمیکاسین (۳۰µg) و جنتامایسین (۱۰µg) بر اساس دستورالعمل استاندارد آزمایشگاه و بالین (۵) و با استفاده از روش انتشار از ژل، پس از تهیه غلظت نیم مک‌فارلند، بر روی محیط مولر هینتون آگار انجام شد. سوسپانسیون تهیه‌شده به‌وسیله سوآپ استریل پنبه‌ای، روی محیط مولر هینتون آگار به‌صورت متراکم کشت داده شد؛ سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی با پنس استریل در سطح محیط قرار گرفته و

[1] *Polysaccharide Intercellular Adhesin*

محیط کشت به‌مدّت ۲۴–۱۸ ساعت در دمای ۳۷درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شد. درنهایت قطر هاله عدم رشد به‌وسیله کولیس اندازه‌گیری گردید. در این مطالعه *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC۲۵۹۲۳ و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ATCC۱۲۲۲۸ به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

توانایی تشکیل بیوفیلم در جدایه‌های مورد بررسی، با روش میکروتیتر پلیت انجام شد. در این روش جدایه‌ها پس از کشت در محیط TSB حاوی ۰/۵درصد گلوکز، یک شبانه‌روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. بعد از خالی‌کردن محتویات چاهک‌ها و شستشوی آنها با PBS، میکروپلیت‌ها به‌طور کامل در معرض هوا خشک گردیدند. در محله بعد رنگ‌آمیزی با استفاده از کریستال ویوله یک‌درصد انجام شد. سپس رنگ موجود در هر چاهک با استفاده از آب معمولی شستشو داده شد و برای آزادسازی رنگ موجود در دیواره باکتری‌هایی که مولد بیوفیلم می‌باشند، ۱۰۰ میکرولیتر ایزوپروپیل الکل ۱۰درصد به‌علاوه اتانول ۷۰درصد به هر چاهک اضافه گردید. درنهایت رنگ آزادشده در هر چاهک در طول‌موج نوری ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الیزا بررسی شد. از محیط TSB حاوی یک‌درصد گلوکز به‌عنوان کنترل منفی در این روش استفاده گردید. برای اطمینان از صحّت کار، برای ایزوله‌های مورد مطالعه ۳ مرتبه جذب نوری هر یک از ایزوله‌ها، مورد بررسی قرار گرفت. روش محاسبه مقدار تولید بیوفیلم برای هر گروه در جدول یک ارائه شده است.

جدول ۱- طبقه‌بندی تشکیل بیوفیلم به وسیله روش میکروتیترپلیت

توانایی تشکیل بیوفیلم	محاسبه میزان حد نصاب	نتایج حاصل از میانگین حداکثر جذب نوری (OD)
قوی	$OD>4*ODC^2$	OD>0.332
متوسط	2*ODC<OD<=4*ODC	0.166<OD<=0.332
ضعیف	ODC<OD<=2*ODC	0.083<OD<=0.166
عدم اتصال	OD<=0.083	OD<=0.083

OD: چگالی نوری؛ ODC: میزان چگالی نوری کنترل مثبت است که قادر به تولید بیوفیلم می‌باشد (کنترل منفی SD*3)+(میانگین کنترل منفی ODC:OD)

DNA ژنومی باکتریایی با استفاده از دستورالعمل کیت استخراج سیناژن (Cinna Pure DNA KIT-PR881613) (البرز، ایران) به‌دست آمد و درجه خلوص محصول استخراج‌شده در طول‌موج ۲۶۰ نانومتر، با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر تأیید شد.

تست M-PCR برای شناسایی ژن‌های کدکننده بیوفیلم *icaA* و *icaD* با استفاده از توالی‌های الیگونوکلئوتیدی پرایمرهای اختصاصی شامل: icaA-F:5'-' ACACTTGCTGGCGCAGTCAA-3 و icaA-R:5'-TCTGGAACCAACATCCAACA-3' و icaD-F:5'-ATGGTCAAGCCCAGACAGAG-3' و icaD-R:5'-AGTATTAATGTTTAAAGCAA-3' در دستگاه ترمال‌سایکلر (اپندورف، آلمان) در حجم ۲۵میکرولیترو هر واکنش شامل ۲۰۰میکرومول dNTP، ۱۰پیکومول از هر پرایمر، ۱/۵ میلی‌مول در لیتر MgCl2، ۵/۰ واحد آنزیم Taq و ۵۰ نانوگرم DNA الگو انجام گردید. به‌منظور حصول اطمینان از عملکرد پرایمرها، توالی‌های الیگونوکلئوتیدی پرایمرها در سایت NCBI، BLAST شد و این‌گونه صحت توالی‌های مورد استفاده تأیید گردید. شرایط دمایی در این واکنش شامل یک سیکل ۱۰دقیقه‌ای در ۹۵درجه سلسیوس (دناتوراسیون اولیه)، سپس ۳۲ سیکل شامل: مرحله واسرشت‌شدن ۶۰ثانیه در ۹۴درجه سلسیوس، مرحله اتصال ۶۰ ثانیه در ۵۸ درجه سلسیوس و مرحله طویل‌شدن یک‌دقیقه در ۷۲درجه سلسیوس و در نهایت یک سیکل ۱۰دقیقه‌ای در ۷۲درجه سلسیوس بود. محصولات تکثیریافته از نظر حضور ژن‌های موردنظر، با انجام الکتروفورز بر روی ژل آگارز یک‌درصد و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید بررسی شدند.

یافته‌ها

در این مطالعه تعداد ۱۱۷نمونه از بالین، از سه بیمارستان آموزشی تهران جمع‌آوری گردید که از این تعداد ۲۰مورد

استافیلوکوکوس اورئوس (۱۷/۰۹٪) و ۱۲ مورد *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* (۱۰/۲۵٪) بود. جزئیات نمونه‌ها به تفکیک محل اخذ نمونه و تعداد آن، در جدول ۲ ارائه شده است. بیشترین و کمترین تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیس*، از نمونه‌های زخم و مایع مغزی-نخاعی به‌دست آمدند. در این مطالعه، هیچ موردی از خلط جدا نشد. همچنین *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* از نمونه CSF به‌دست نیامد.

نتایج نشان داد که بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و حساسیت به‌ترتیب مربوط به پنی‌سیلین، اریترومایسین و آمیکاسین بود. روش میکروتیتر پلیت بر اساس اندازه‌گیری جذب نوری نشان داد که از تعداد کل ۲۰ ایزوله استافیلوکوکوس‌اورئوس، ۱۶ایزوله (۸۰٪) مولّد بیوفیلم بودند که از این تعداد ۱۲ ایزوله توانایی اتصال قوی، ۳ ایزوله توانایی اتصال متوسط و یک ایزوله توانایی اتصال ضعیف را داشتند. از مجموع ۱۲ ایزوله *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، ۶ (۵۰٪) ایزوله مولّد بیوفیلم بودند که از این تعداد ۳ایزوله توانایی اتصال قوی، ۲ ایزوله توانایی اتصال متوسط و یک ایزوله توانایی اتصال ضعیف را داشتند.

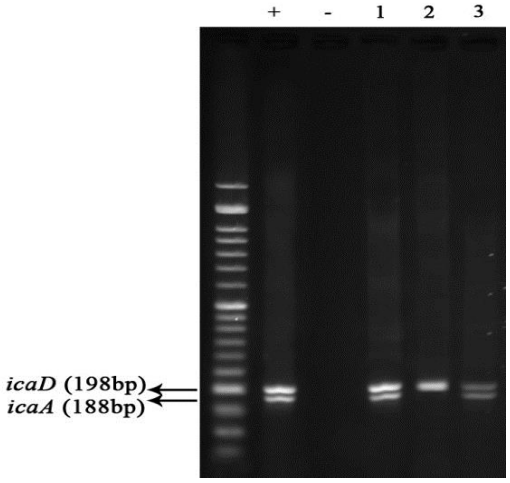
نتایج حاصل از آزمون مولکولی نشان داد که از مجموع تمامی *استافیلوکوکوس اورئوس* تحت مطالعه، ۱۵ ایزوله واجد هر دو ژن *icaA* و *icaD* بودند. همچنین فراوانی ۵۰درصد از *استافیلوکوکوس‌اپیدرمیدیس* واجد هر دو ژن *icaA* و *icaD* و یک ایزوله واجد ژن *icaD* بود (شکل ۱).

جدول ۲- فراوانی استافیلوکوکوس‌اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جداشده به تفکیک نوع نمونه‌ها

نوع نمونه	تعداد کل	استافیلوکوکوس اورئوس	استافیلوکوکوس اپیدرمیس
خون	۲۱	۴ (۱۹/۰۴٪)	۲(۹/۵۲٪)
زخم	۳۵	۶ (۱۷/۱۴٪)	۴(۱۱/۴۲٪)
ادرار	۱۵	۳ (۲۰٪)	۲(۱۳/۳۳٪)
چرک	۱۵	۲ (۱۳/۳۳٪)	۱(۶/۶۶٪)
خلط	۷	–	–
CSF	۵	۱ (۲۰٪)	–
آبسه	۱۹	۴ (۲۱/۰۵٪)	۳(۱۵/۷۸٪)
جمع کل	۱۱۷	۲۰ (۱۷/۰۹٪)	۱۲(۱۰/۲۵٪)

جدول ۳- نتایج سنجش حساسیّت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اپیدرمیدیس

آنتی‌بیوتیک	حساس		نیمه حساس		مقاوم	
	استافیلوکوکوس اورئوس	استافیلوکوکوس اپیدرمیس	استافیلوکوکوس اورئوس	استافیلوکوکوس اپیدرمیس	استافیلوکوکوس اورئوس	استافیلوکوکوس اپیدرمیس
پنی‌سیلین	–	–	–	۲ (۶/۲۵٪)	۲۰ (۶۲/۵٪)	۱۰(۳۱/۲۵٪)
اگزاسیلین	۴ (۱۲/۵٪)	۴ (۱۲/۵٪)	۳ (۹/۳۸٪)	–	۱۳ (۴۰/۶۲٪)	۸(۲۵٪)
جنتامیسین	۹(۲۸/۱۳٪)	۳ (۹/۳۸٪)	۷ (۲۱/۸۸٪)	۵ (۱۵/۶۳٪)	۴ (۱۲/۵٪)	۴(۱۲/۵٪)
تتراسایکلین	۷ (۲۱/۸۸٪)	۲ (۶/۲۵٪)	۵ (۱۵/۶۳٪)	۵ (۱۵/۶۳٪)	۸ (۲۵٪)	۵(۱۵/۶۳٪)
اریترومایسین	۲ (۶/۲۵٪)	–	۹ (۲۸/۱۳٪)	۲ (۶/۲۵٪)	۹ (۲۸/۱۳٪)	۱۰(۳۱/۲۵٪)
سیپروفلوکساسین	۶ (۱۸/۷۵٪)	۵ (۱۵/۶۳٪)	۸ (۲۵٪)	۴ (۱۲/۵٪)	۶ (۱۸/۷۵٪)	۳(۹/۳۸٪)
آمیکاسین	۹ (۲۸/۱۳٪)	۳ (۹/۳۸٪)	۸ (۲۵٪)	۷ (۲۱/۸۸٪)	۳ (۹/۳۸٪)	۲(۶/۲۵٪)



شکل ۱- نتایج ژل الکتروفورز محصولات PCR ژن *icaA* و *icaD* به همراه کنترل مثبت استافیلوکوکوس‌اپیدرمیدیس ATCC 12228، کنترل منفی آب مقطر. چاهک ۱؛ استافیلوکوکوس‌اورئوس، چاهک ۲ و ۳، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس

بحث

توانایی *استافیلوکوکوس‌ها* در تشکیل بیوفیلم‌ها، به زنده‌ماندن باکتری در محیط میزبان کمک می‌کند. امروزه بیوفیلم به‌عنوان یکی از دلایل مزمن‌شدن عفونت‌های استافیلوکوکی هم در پزشکی و هم در دامپزشکی مطرح‌شده است. پوشش اگزوپلی‌ساکاریدی محصورکننده بیوفیلم، سبب عبور آنتی‌بیوتیک‌ها به درون ماتریکس بیوفیلم و درنتیجه بروز مقاومت می‌گردد (۳).

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۹ در کشور هلند توسط Croes همکاران انجام گرفت، علاوه بر تأکید در مورد گسترش مقاومت‌های چندگانه در نمونه‌های عفونی، بر توانایی تولید بیوفیلم در ۶۰درصد از ایزوله‌های *استافیلوکوکوس* اشاره‌شده است که به‌طور تقریبی مشابه نتایج حاصل از مطالعه حاضر می‌باشد که علاوه بر تأکید بر تولید بیوفیلم، بر افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در نمونه‌های عفونی نیز اشاره دارد (۹). در مطالعه دیگری که توسط Namvar و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام گردید، از ۶۰ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس*، با استفاده از روش‌های میکروپلیت تیتراسیون و کشت بر محیط کنگو رد آگار، ۶۵درصد از ایزوله‌ها مولّد بیوفیلم قوی بودند که مشابه نتایج پژوهش حاضر، به‌طور مجدد شاهد شیوع بالای *استافیلوکوکوس‌های* مولّد بیوفیلم هستیم (۷). در مطالعه Iorio و همکاران در سال ۲۰۱۱، از میان ۴۷ جدایه *استافیلوکوکوس‌اورئوس* جداشده از خون، ۲۵ جدایه در آزمایش تشخیص فنوتیپی بیوفیلم، از نظر تولید بیوفیلم مثبت بود؛ اما در مقایسه با نتایج پژوهش حاضر تفاوت زیادی را نشان داد که می‌تواند به‌دلیل متفاوت‌بودن منبع و نیز جغرافیای نمونه باشد (۸). در مطالعه Gad و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان داده شد که از ۱۸ جدایه استافیلوکوکوس‌اورئوس جداشده از سوندهای ادراری انسان، ۱۵جدایه (۸۳٪) تشکیل بیوفیلم دادند و از این تعداد ۵۳درصد بیوفیلم قوی، ۲۳درصد بیوفیلم متوسط و ۷درصد بیوفیلم تشکیل ندادند. نتایج مطالعه Gad و همکاران نیز مشابه نتایج پژوهش حاضر، بیانگر توانایی بسیار بالای جدایه‌های *استافیلوکوکوس‌اورئوس* در تولید بیوفیلم می‌باشد (۳).

در مطالعه حاضر تمامی سویه‌های مولّد بیوفیلم، دارای هر دو ژن *icaA* و *icaD* بودند. این یافته برخلاف برخی گزارش‌ها از آسیا و اروپا است که در آن‌ها انطباق کامل میان تشکیل بیوفیلم به‌روش‌های کمّی و کیفی و ژنوتایپ آنها یافت نشده است (۲، ۹)؛ اما در برخی از گزارش‌ها، هر دو ژن *icaA* و *icaD* در میان ۱۰۰درصد سویه‌های مولّد بیوفیلم

گزارش شده‌اند (۳، ۱۰). یافته‌های پژوهش حاضر مؤیّد اهمیت ژن‌های *icaA* و *icaD* در تشکیل بیوفیلم در *استافیلوکوکوس‌اورئوس* است که منطبق بر یافته‌های مطالعات Gad و همکاران و Arciola و همکاران است (۳، ۶).

نتیجه‌گیری

استافیلوکوکوس اورئوس، ازجمله باکتری‌هایی است که در بخش‌های مراقبت‌های ویژه بیمارستان به‌دلیل تولید بیوفیلم از اهمیّت ویژه‌ای برخوردار است. با توجه به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این باکتری و نیز توانایی بالای آن در تشکیل بیوفیلم، این باکتری می‌تواند در پیدایش عفونت‌های مزمن و همچنین ایجاد سویه‌های آنتی‌بیوتیکی چندگانه اهمیت ویژه‌ای داشته باشد. گسترش ایزوله‌های باکتریایی تولیدکننده بیوفیلم با مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی چندگانه که در این پژوهش شاهد آن بودیم، می‌تواند به‌عنوان خطر جدّی برای بیماران محسوب شده و باعث افزایش موارد مرگ و میر در بیمارستان‌ها گردد.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از تمامی کارکنان بیمارستان‌های امام خمینی، شریعتی و مرکز طبی اطفال که ما را در جمع‌آوری نمونه‌های این پژوهش حاضر یاری رساندند و همچنین از کارکنان و پرسنل آزمایشگاه تحقیقاتی پاسارگاد، تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع:

1- Vázquez-Sánchez D, Rodríguez-López P. Biofilm Formation of Staphylococcus aureus. In: Fetsch A. Staphylococcus aureus. London(United Kingdom): Elsevier – Academic Press; 2018. pp: 87-103.

2- Petrelli D, Repetto A, D'Ercole S, Rombini S, Ripa S, Prenna M, et al. Analysis of meticillin-susceptible and meticillin-resistant biofilm-forming Staphylococcus aureus from catheter infections isolated in a large Italian hospital. J Med Microbiol. 2008; 57(3): 364–72.

3- Gad GF, El-Feky MA, El-Rehewy MS, Hassan MA, Abolella H, El-Baky RM. Detection of icaA, icaD genes and biofilm production by Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis isolated from urinary tract catheterized patients. J Infect Dev Ctries. 2009;3(5):342–51.

4- de Silva GD, Kantzanou M, Justice A, Massey RC, Wilkinson AR, Day NP, et al. The ica Operon and Biofilm Production in Coagulase-Negative Staphylococci Associated with Carriage and Disease in a Neonatal Intensive Care Unit. J Clin Microbiol. 2002 18; 40(2): 382–8.

5- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.

6- Arciola CR, Baldassarri L, Montanaro L. Presence of icaA and icaD Genes and Slime Production in a Collection of Staphylococcal Strains from Catheter-Associated Infections. J Clin Microbiol. 2001; 39(6): 2151–6.

7- Namvar AE, Asghari B, Ezzatifar F, Azizi GR. Detection of the intercellular adhesion gene cluster (ica) in clinical Staphylococcus aureus isolates. GMS Hyg Infect Control. 2013; 8(1): Doc03.

8- Iorio NLP, Lopes AP da CN, Schuenck RP, Barcellos AG, Olendzki AN, Lopez GL, et al. A combination of methods to evaluate biofilm production may help to determine the clinical relevance of Staphylococcus in blood cultures. Microbiol Immunol. 2011; 55(1): 28–33.

9- Croes S, Deurenberg RH, Boumans ML, Beisser PS, Neef C, Stobberingh EE. Staphylococcus aureus biofilm formation at the physiologic glucose concentration depends on the S. aureus lineage. BMC Microbiol. 2009; 9: 229.

10- Mirzaee M, Peerayeh SN, Ghasemian AM. Detection of icaABCD genes and biofilm formation in clinical isolates of methicillin resistant Staphylococcus aureus. Iran J Pathol. 2014; 9(4): 257–62. [Persian]