

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

Sina Mashaiekh¹, Kumarss Amini²

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, Faculty of basic science, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran.
Tel: 09125454074 Fax: 021-44850954 Email: dr_kumarss_amini@yahoo.com

بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تولید بیوفیلیم در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جدا شده 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 قابلیت ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌های را دارد. استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استافیلوکوکوس اورئوس، عوامل مهمی در ایجاد بیوفیلیم در بیماران هستند. این مطالعه با هدف تعیین توانایی تولید بیوفیلیم و الگوی مقاومتی سویه‌های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی و مواد غذایی انجام گرفت.

روش تحقیق: این مطالعه توصیفی-مقطعی بر روی ۱۱۷ نمونه بیمارستانی انجام شد. ابتدا آزمایش‌های بیوشیمیایی بر روی نمونه‌ها به منظور جداسازی و تأیید جنس استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس انجام گردید؛ سپس برای تعیین تولید بیوفیلیم، 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 به وسیله آزمایش‌های بیوشیمیایی از ۱۱۷ نمونه بیمارستانی جداسازی شد که از این تعداد ۶ سویه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و ۱۶ سویه استافیلوکوکوس اورئوس مولد بیوفیلیم 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 به ترتیب مربوط به پنی‌سیلین، جنتامایسین و امیکاسین بود.

نتیجه‌گیری: گسترش نمونه‌های بالینی مولد بیوفیلیم با مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی چندگانه، می‌تواند به عنوان خطری جدی برای بیماران محسوب شده و باعث افزایش موارد مرگ و میر در بیمارستان‌ها گردد.

واژه‌های کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، بیوفیلیم، 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؛ شماره: ۰۲۱-۴۴۸۵۰۹۵۴؛ پست الکترونیکی: dr_kumarss_amini@yahoo.com

مقدمه

icaA و *icaD* نقش بیشتری در تشکیل بیوفیلم 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 ۶ ماهه از ابتدای اردیبهشت تا پایان مهر ۱۳۹۵ جمع‌آوری شد. نمونه‌ها شامل: خون، ادرار، چرک، زخم، مایع مغزی نخاعی، خلط و آسبه 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 هویت شدند.

حساسیت آنتی‌بیوتیکی بر روی محیط مولر هینتون آگار و با استفاده از روش انتشار از دیسک برای آنتی‌بیوتیک‌های اگزاسیلین (۱ μg)، سیپروفلوکساسین (۵ μg)، پنی‌سیلین (۱۰ μg)، اریترومايسين (۱۵ μg)، تتراسایکلین (۳۰ μg)، آمیکاسین (۳۰ μg) و جنتامایسین (۱۰ μg) 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

استافیلوکوکوس‌ها در طبیعت انتشار وسیعی داشته و غالباً به‌عنوان میکروفلور در انسان و حیوانات مطرح هستند. این باکتری‌ها می‌توانند به‌صورت اجتماع بیوفیلم در سطح کاترها و سوندهای ادراری رشد کنند و مقاومت فوق‌العاده‌ای نسبت به عوامل ضد میکروبی از خود نشان می‌دهند (۱). بیوفیلم، ساختاری متشکل 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 در نتیجه سبب افزایش هزینه‌های ناشی از درمان، شکست درمانی و عود عفونت می‌گردند. تخمین زده می‌شود که ۶۵ درصد از عفونت‌های بیمارستانی در ایالات متحده، با تشکیل بیوفیلم‌ها در ارتباط بوده و خسارات اقتصادی ناشی از بیوفیلم‌ها سالیانه بیش از یک میلیارد دلار هزینه دربر دارد (۴).

در این ارگانیزم‌ها، تولید بیوفیلم ناشی از فعالیت اپرونی تحت عنوان *icaABCD* می‌باشد که مهم‌ترین عامل برای تشکیل ماتریکس اگزوپلی‌ساکاریدی و از عوامل چسبندگی بین سلولی ¹PIA 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*

¹ Polysaccharide Intercellular Adhesin

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

تست M-PCR برای شناسایی ژن های کدکننده بیوفیلم *icaA* و *icaD* با استفاده از توالی های 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 ترمال سایکلر (اپندورف، آلمان) در حجم ۲۵ میکرولیتر و هر واکنش شامل ۲۰۰ میکرومول dNTP، ۱۰ پیکومول از هر پرایمر، ۱/۵ میلی مول در لیتر $MgCl_2$ ، ۵/۰ واحد آنزیم Taq و ۵۰ نانوگرم DNA الگو انجام گردید. به منظور حصول اطمینان از عملکرد پرایمرها، توالی های الیگونوکلئوتیدی پرایمرها در سایت NCBI، BLAST شد و این گونه صحت توالی های مورد استفاده تأیید گردید. شرایط دمایی در این واکنش شامل یک سیکل ۱۰ دقیقه ای در ۹۵ درجه سلسیوس (دناتوراسیون اولیه)، سپس ۳۲ سیکل شامل: مرحله واسرشت شدن ۶۰ ثانیه در ۹۴ درجه سلسیوس، مرحله اتصال ۶۰ ثانیه در ۵۸ درجه سلسیوس و مرحله طولی شدن یک دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس و در نهایت یک سیکل ۱۰ دقیقه ای در ۷۲ درجه سلسیوس بود. محصولات تکثیر یافته از نظر حضور ژن های مورد نظر، با انجام الکتروفورز بر روی ژل آگارز یک درصد و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید بررسی شدند.

یافته ها

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

محیط کشت به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور قرار داده شد. در نهایت قطر هاله عدم رشد به وسیله کولیس اندازه گیری گردید. در این مطالعه *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC ۲۵۹۲۳ و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* ATCC ۱۲۲۲۸ به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

توانایی تشکیل بیوفیلم در جدایه های مورد بررسی، با روش میکروتیتر پلیت انجام شد. در این روش جدایه ها پس از کشت در محیط TSB حاوی ۵/۰ درصد گلوکز، یک شبانه روز در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. بعد از خالی کردن محتویات چاهک ها و شستشوی آنها با PBS، میکروپلیت ها به طور کامل در معرض هوا خشک گردیدند. در محله بعد رنگ آمیزی با استفاده از کریستال ویوله یک درصد انجام شد. سپس رنگ موجود در هر چاهک با استفاده از آب معمولی شستشو داده شد و برای آزادسازی رنگ موجود در دیواره باکتری هایی که مولد بیوفیلم می باشند، ۱۰۰ میکرولیتر ایزوپروپیل الکل ۱۰ درصد به علاوه اتانول ۷۰ درصد به هر چاهک اضافه گردید. در نهایت رنگ آزاد شده در هر چاهک در طول موج نوری ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الیزا بررسی شد. از محیط TSB حاوی یک درصد گلوکز به عنوان کنترل منفی در این روش استفاده گردید. برای اطمینان از صحت کار، برای ایزوله های مورد مطالعه ۳ مرتبه جذب نوری هر یک از ایزوله ها، مورد بررسی قرار گرفت. روش محاسبه مقدار تولید بیوفیلم برای هر گروه در جدول یک ارائه شده است.

جدول ۱- طبقه بندی تشکیل بیوفیلم به وسیله روش میکروتیتر پلیت

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

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

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 اپیدرمیدیس، 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 آنتی بیوتیکی و حساسیت به ترتیب مربوط به پنی‌سیلین، اریترومايسين و آمیکاسین بود. روش میکروتیتیر پلیت بر اساس اندازه‌گیری جذب نوری نشان داد که از تعداد کل ۲۰ ایزوله

استافیلوکوکوس اورئوس، ۱۶ ایزوله (۸۰٪) مولد 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 مولد بیوفیلم بودند که از این تعداد ۳ ایزوله 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

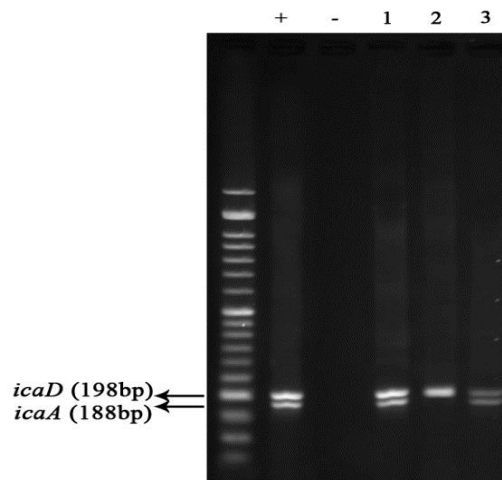
تمامی استافیلوکوکوس اورئوس تحت مطالعه، ۱۵ ایزوله واجد هر دو ژن *icaA* و *icaD* بودند. همچنین فراوانی ۵۰ درصد از استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس واجد هر دو ژن *icaA* و *icaD* و یک ایزوله واجد ژن *icaD* بود (شکل ۱).

جدول ۲- فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جدا شده به تفکیک نوع نمونه‌ها

نوع نمونه	تعداد کل	استافیلوکوکوس اورئوس	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس
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 حساسیت آنتی بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اپیدرمیدیس

آنتی بیوتیک	حساس		نیمه حساس		مقاوم	
	استافیلوکوکوس اورئوس	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	استافیلوکوکوس اورئوس	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	استافیلوکوکوس اورئوس	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس
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٪)
اریترومايسين	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 استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ATCC 12228، کنترل منفی آب مقطر. چاهک ۱؛ استافیلوکوکوس اورئوس، چاهک ۲ و ۳، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس

بحث

حاضر، به طور مجدد شاهد شیوع بالای استافیلوکوکوس‌های مؤلد بیوفیلم هستیم (۷). در مطالعه Iorio و همکاران در سال ۲۰۱۱، از میان ۴۷ جدایه استافیلوکوکوس/ورئوس جدا شده 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 به دلیل متفاوت بودن منبع و نیز جغرافیای نمونه باشد (۸). در مطالعه Gad و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان داده شد که از ۱۸ جدایه استافیلوکوکوس/ورئوس جدا شده از سوندهای ادراری انسان، ۱۵ جدایه (۸۳٪) تشکیل بیوفیلم دادند و از این تعداد ۵۳ درصد بیوفیلم قوی، ۲۳ درصد بیوفیلم متوسط و ۷ درصد بیوفیلم تشکیل ندادند. نتایج مطالعه Gad و همکاران نیز مشابه نتایج پژوهش حاضر، بیانگر توانایی بسیار بالای جدایه‌های استافیلوکوکوس/ورئوس در تولید بیوفیلم می‌باشد (۳).

در مطالعه حاضر تمامی سویه‌های مؤلد 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 به روش‌های کمی و کیفی و ژنوتایپ آن‌ها یافت نشده است (۲، ۹)؛ اما در برخی از گزارش‌ها، هر دو ژن *icaA* و *icaD* در میان ۱۰۰ درصد سویه‌های مؤلد بیوفیلم

توانایی استافیلوکوکوس‌ها در تشکیل بیوفیلم‌ها، به زنده ماندن باکتری در محیط میزبان کمک می‌کند. امروزه بیوفیلم به عنوان یکی از دلایل مزمن شدن عفونت‌های استافیلوکوکی هم در پزشکی و هم در دامپزشکی مطرح شده است. پوشش اگزوپلی ساکاریدی محصورکننده بیوفیلم، سبب عبور آنتی‌بیوتیک‌ها به درون ماتریکس بیوفیلم و در نتیجه 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 ۶۰ درصد از ایزوله‌های استافیلوکوکوس اشاره شده است که به طور 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/ورئوس، با استفاده از روش‌های میکروپلیت تیتراسیون و کشت بر محیط کنگو رد آگار، ۶۵ درصد از ایزوله‌ها مؤلد بیوفیلم قوی بودند که مشابه نتایج پژوهش

گزارش شده‌اند (۳، ۱۰). یافته‌های پژوهش حاضر مؤید اهمیت ژن‌های *icaA* و *icaD* در تشکیل بیوفیلم در استافیلوکوکوس اورئوس است که منطبق بر یافته‌های مطالعات Gad و همکاران و Arciola و همکاران است (۳، ۶). چندگانه اهمیت ویژه‌ای داشته باشد. گسترش ایزوله‌های باکتریایی تولیدکننده بیوفیلم با مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی چندگانه که در این پژوهش شاهد آن بودیم، می‌تواند به‌عنوان خطر جدی برای بیماران محسوب شده و باعث افزایش موارد مرگ و میر در بیمارستان‌ها گردد.

نتیجه‌گیری

تقدیر و تشکر

استافیلوکوکوس اورئوس، از جمله باکتری‌هایی است که در بخش‌های مراقبت‌های ویژه بیمارستان به‌دلیل تولید بیوفیلم از اهمیت 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

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 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]