عوامل مرتبط با بیماری‌زایی و توانایی تولید بیوفیلم در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جداشده از نمونه بالینی

شهین نجارپیرایه [۱](Ph.D)، علی جزایری‌مقدس [۲*](Ph.D)، بیتا بخشی [۱](Ph.D)

۱- *گروه باکتری‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران*

۲- *گروه باکتری‌شناسی و ویروس‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران*

چکیده

سابقه و هدف: : استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به عنوان یک بیماری‌زای فرصت‌طلب مورد توجه قرار می‌گیرد. توانایی این باکتری در ایجاد عفونت با قابلیت آن در تولید بیوفیلم مرتبط می‌باشد. برخی مولکول‌های سطحی این باکتری به‌صورت ادهسین عمل نموده در اتصال باکتری به سطوح پوشیده شده از پروتئین یا سطوح پلیمری ایفای نقش می‌نمایند. هدف این مطالعه یافتن ارتباط بین عوامل مرتبط با بیماری‌زایی و توانایی تولید بیوفیلم ماکروسکوپی در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جدا شده از نمونه‌های بالینی است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه بر روی ۵۹ ایزوله استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس که از نمونه‌های خون، ادرار، تراشه و زخم بیماران بستری در یکی از بیمارستان‌های تهران جداشده بودند، انجام شده است. استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس با استفاده از آزمایشات باکتری‌شناسی متداول شناسایی گردید، توانایی تولید بیوفیلم ماکروسکوپی با روش میکروپیلت بررسی شد و وجود ژن‌های fbe, icaA, IS256, aap, bhp با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز مشخص گردید.

یافته‌ها: از ۵۹ ایزوله مورد بررسی ۳۶ مورد (۶۱٪) قادر به تولید بیوفیلم ماکروسکوپی بودند که از این تعداد۳۳ مورد (۹۱/۷٪) واجد ژن fbe، 32 مورد (۸۸/۹٪) واجد ژن icaA، 28 مورد (۷۷/۸٪) واجد IS256، 26 مورد (۷۲/۲٪) واجد ژن aap و۷ مورد (۱۹/۴٪) واجد ژن bhp بودند. از ۳۶ ایزوله تولیدکننده بیوفیلم ماکروسکوپی ۱۲ مورد (۳۳/۳٪) تولیدکننده قوی بیوفیلم بودند.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این تحقیق حاکی از این است که توانایی تولید بیوفیلم ماکروسکوپی با حضور عوامل بیماری‌زایی مرتبط می‌باشد و حضور این عوامل باکتری را قادر به تولید بیوفیلم می‌سازد که نهایتاً منجر به کلونیزه شدن و بقای باکتری در بدن می‌گردد. اتفاقی که در شرایط ضعف سیستم ایمنی یا بستری شدن بیمار زمینه‌ساز عفونت شده، درصورت وجود مقاومت آنتی‌بیوتیکی خطرات جدی برای بیمار خواهد داشت.

واژه‌های کلیدی: ***استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*****، عوامل بیماری‌زایی، بیوفیلم**

مقدمه

استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و سایر استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی به‌عنوان باکتری‌های بیماری‌زای فرصت‌طلب و هم‌چنین فلور طبیعی پوست انسان مورد توجه قرار گرفته‌اند [۲،۱]. استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به‌عنوان آلوده‌کننده کشت خون و عامل عفونت بیمارستانی در باکتریمی حاد،

* نویسنده مسئول، تلفن: ۳۳۶۵۴۱۶۲ - ۰۲۳

Email: alijazayeri@semums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۷/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱/۲۳

عفونت‌های مرتبط با کاتتر و عفونت‌های متعاقب استفاده از وسایل خارجی در بدن شناخته می‌شود. توانایی این باکتری در تشکیل بیوفیلم باعث ایجاد عفونت به‌ویژه در افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف و بیماران استفاده‌کننده از وسایل مصنوعی در بدن می‌گردد. بیوفیلم یک تجمع باکتریایی چندلایه و چسبنده است که به سختی برداشته می‌شود [۴،۳]. برخی مواد ضد عفونی‌کننده از قبیل اتانول و ایزوپروپانول می‌توانند بر تولید بیوفیلم تاثیرگذار باشند [۵]. در شرایط بی‌هوازی توانایی تولید بیوفیلم در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به‌طور قابل توجهی بیش‌تر از استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد [۶]. باکتری‌هایی که در بیوفیلم قرار دارند در حال رشد نیستند در نتیجه مقاومت قابل توجهی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها در مقایسه با حالت تکی از خود نشان می‌دهند [۹-۷]. استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس پروتئین‌های دیواره سلولی را به عنوان مکانیسمی برای اتصال به بافت میزبان و هم‌چنین پروتئین‌هایی که سطح میزبان را می‌پوشانند، به‌کار می‌برد که برای اتصال باکتری و تهاجم به سیستم ایمنی لازم است [۱۲-۱۰] Polysaccharide intracellular adhesion (PIA) که توسط اپرن ica تولید می‌شود، موجب اتصال سلول به سلول و تنظیم تشکیل بیوفیلم می‌گردد. مطالعات حاکی از این است که icaA نقش مهمی در تولید بیوفیلم توسط استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استافیلوکوکوس اورئوس ایفا می‌کند [۱۳]. دو مرحله اصلی در تشکیل بیوفیلم استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس رخ می‌دهد: اتصال به ماتریکس پروتئینی که در سطح وسایل پزشکی به‌کار گرفته شده وجود دارد و سپس تولید و تجمع ادهسین پلی‌ساکاریدی خارج سلولی (PIA) که توسط اپرن ica تولید می‌شود [۱۴] IS256 یک عنصر ژنتیکی متحرک است که در اغلب موارد کپی‌های متعدد آن در ژنوم استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس وجود دارد و قادر به تاثیرگذاری بر ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی است این عنصر ژنتیکی متحرک موجب تطابق باکتری با محیط‌های مختلف می‌گردد و به عنوان یکی از عوامل مرتبط با بیماری‌زایی در سویه‌ها مهاجم شناخته می‌گردد. بیان ژن ica می‌تواند تحت تاثیر ورود IS256 به لوکوس ica قرار بگیرد که منجر به تاثیر بر تولید PIA گردیده بر تشکیل بیوفیلم و تهاجم به سیستم ایمنی ایفای نقش نماید [۱۴،۱] Bhp (Bap (biofilm-associated homologous protein) که مشابه Bap (protein در استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد در برخی سویه‌های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس بیان می‌شود و در اتصال بیوفیلم نقش ایفا می‌کند [۱۱]. Aap (Accumulation association protein) که یک پروتئین خارج سلولی ۱۴۰ کیلودالتونی است برای تجمع در سطوح پلیمری و تشکیل بیوفیلم ضروری است [۱۵]. استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس می‌تواند به کمک fbe که یک پروتئین سطحی است و در این باکتری به وفور یافت می‌شود، با فیبرینوژن واکنش نماید. آنتی‌بادی بر علیه fbe می‌تواند از اتصال باکتری به کاتترهای پوشیده شده از فیبرینوژن جلوگیری نموده و از ایجاد عفونت در مدل‌های حیوانی ممانعت نماید [۱۶]. وجود ارتباط بین حضور عوامل مرتبط با بیماری‌زایی و توانایی تشکیل بیوفیلم در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جدا شده از موارد عفونت بیانگر قابلیت این باکتری برای استقرار در میزبان، ایجاد بیوفیلم و متعاقب آن ایجاد عفونت به‌ویژه در بیماران در معرض این عفونت باکتریال می‌باشد.

این مطالعه با هدف بررسی ارتباط توانایی تولید بیوفیلم ماکروسکوپی و وجود عوامل مرتبط با بیماری‌زایی شامل icaA, IS256, aap, bhp, fbe در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جدا شده از موارد عفونت در نمونه‌های بالینی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

ایزوله‌های مورد بررسی. ۵۹ ایزوله استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جدا شده از موارد عفونت در بیماران بستری بخش مراقبت‌های ویژه یکی از بیمارستان‌های آموزشی تهران که با روش نمونه‌برداری آسان جمع‌آوری شده بود، مورد شناسایی قرار گرفت که ۵۰ ایزوله از نمونه خون، ۴ ایزوله از

نمونه ادرار، ۴ ایزوله از نمونه لوله تراشه و یک ایزوله از نمونه زخم جدا شده بودند.

تعیین هویت ایزوله‌ها. برای شناسایی و تایید هویت این ایزوله‌ها نمونه روی محیط کشت ژلوز خوندار که با استفاده از خون گوسفند تهیه شده بود کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید. کلنی‌ها استافیلوکوک سفید رنگ، از نوع صاف و با اندازه متوسط هستند، پس از انجام رنگ‌آمیزی گرم برای کلنی‌های مشکوک و مشاهده کوکسی گرم مثبت، آزمایش کاتالاز انجام گردید و کلنی‌های کاتالاز مثبت در محیط کشت مانیتول سالت آگار کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد از کلنی‌هایی که تخمیر مانیتول انجام نداده بودند و تغییر رنگ در محیط به‌وجود نیامده بود، آزمایش کوآگولاز لوله‌ای با پلاسمای خرگوش انجام شد. سویه‌های کوآگولاز منفی که قادر به ایجاد لخته در لوله آزمایش نبودند، از نظر وجود آنزیم اوره آز، تخمیر قند مانوز، تخمیر قند مالتوز و عدم تخمیر قند ترهالوز بررسی شدند. استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس قادر به تولید اوره آز، تخمیر مانوز و مالتوز می‌باشد در حالی‌که قادر به تخمیر ترهالوز نیست در نتیجه لوله حاوی اوره و لوله حاوی ترهالوز قرمز رنگ، لوله حاوی مانوز و لوله حاوی مالتوز زرد رنگ خواهند شد [۱۸،۱۷].

بررسی توانایی تولید بیوفیلم ماکروسکوپی. از روش میکروتیتر پلیت شرح داده شده توسط Los و همکاران [۱۹] استفاده گردید. باکتری مورد نظر در محیط کشت Trypticase soy broth حاوی ۰/۵٪ گلوکز و ۴٪ نمک طعام به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شرایط هوازی انکوبه گردید. رقت ۱:۲۰۰ تهیه و ۲۰۰ میکرولیتر از آن در چاهک‌های پلیت ۹۶ استریل خانه ریخته شد و پس از انکوباسیون به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شرایط هوازی، چاهک‌ها تخلیه و با بافر فسفات [۷] mM Na2HPO4, 3 mM NaH2PO4, 130 mM NaCl (pH 7.4) استریل سه بار شتشو داده شده به‌صورت وارونه قرارداده شد تا خشک گردد. سپس با سافرانین ۰/۲۵٪ به مدت ۵ دقیقه رنگ‌آمیزی شد، با آب مقطر شتشو داده شد و در دمای محیط خشک گردید. به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر محلول نمک طعام ۰/۹٪ اضافه و جذب نوری در ۴۹۰ نانومتر توسط دستگاه الزا ریدر قرائت گردید. یک چاهک بدون اضافه کردن باکتری و یک چاهک با استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ATCC 12228 به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد. مقدار جذب نوری کنترل منفی برابر ۰/۱۲۵ می‌باشد، مقادیر بین ۰/۱۲۶ تا ۰/۹۰ به‌عنوان تولیدکننده ضعیف بیوفیلم و مقادیر بالاتر از ۰/۹۰ به‌عنوان تولیدکننده قوی بیوفیلم در نظر گرفته شدند.

استخراج DNA. ابتدا چند کلنی جوان باکتری در ۲۰۰ میکرولیتر بافر TE (10Mm TrisHCl+1Mm EDTA) مخلوط گردید، سپس ۲۰ میکرولیتر لیزواستافین با غلظت ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر به آن اضافه شد و یک‌ساعت در دمای محیط نگهداری گردید و ۱۰ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد و ۵ دقیقه روی یخ قرار داده شد و این فرآیند تکرار گردید. سپس در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد و از مایع رویی برای انجام PCRاستفاده گردید. برای ارزیابی DNA استخراج شده از اسپکتروفوتومتری با استفاده از UV استفاده شد [BioPhotometer (Eppendorf, Germany)] و جذب نوری آن را در ۲۶۰ نانومتر و ۲۸۰ نانومتر اندازه گرفتیم. چنان‌چه نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ باشد مناسب است، نسبت کم‌تر نشانه آلودگی با پروتئین و نسبت بیش‌تر نشانه آلودگی با RNA می‌باشد.

بررسی وجود ژن‌های icaA, IS256, aap, bhp, fbe. شرایط واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ ذکر شده‌اند. سویه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ATCC 12228 به عنوان کنترل مثبت aap و کنترل منفی icaA و سویه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس K28 به عنوان کنترل مثبت fbe استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در دستگاه MJ mini. Gradient thermal cycler PTC-1148. (U.S.A) انجام گردید و برای مشاهده از الکتروفورز در آگارز ۱٪ و اشعه UV استفاده شد.

آزمون آماری. برای تجزیه و تحلیل نتایج این تحقیق و مقایسه نتایج با سایر پژوهش‌های انجام شده از کای اسکور و فاصله اطمینان ۹۵٪ استفاده شد.

نتایج

از ۵۹ ایزوله استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مورد بررسی با روش میکروتیترپلیت ۳۶ مورد (۶۱٪) قادر به تولید بیوفیلم ماکروسکوپی بودند (۴۸/۶٪ و ۷۳/۴٪ :CI ۹۵٪) و۲۳ مورد (۳۹٪) قادر به تولید بیوفیلم ماکروسکوپی نبودند (۲۶/۶٪ و ۵۱/۴٪ :CI ۹۵٪). از ۳۶ تولیدکننده بیوفیلم ماکروسکوپی تعداد ۳۳ مورد (۹۱/۷٪) واجد ژن fbe، ۳۲ مورد (۸۸/۹٪) واجد ژن icaA، ۲۶ مورد (۷۲/۲٪) واجد ژن aap و ۷ مورد (۱۹/۴٪) واجد ژن bhp بودند. از ۳۶ ایزوله تولیدکننده بیوفیلم ماکروسکوپی ۱۲ مورد (۳۳/۳٪) تولیدکننده قوی بیوفیلم بودند. فراوانی هر یک از ژنوتیپ‌ها و توانایی تولید بیوفیلم در ایزوله استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مورد بررسی در جدول ۲ و فراوانی ژنوتیپ +icaA در ایزوله‌های تولیدکننده بیوفیلم و غیر تولیدکننده بیوفیلم در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول۱. پرایمر ها و شرایط واکنش زنجیره ای پلی مراز

Target gene	Forward/ Reverse	PCR condition	Ampicon size (bp)	reference
icaA	5-TCGATGCGATTTGTTCAAACAT-3/ 5-CTGTTTCATGGAAACTC-3	5min,95°C; 30 cycles of 30s, 94°C; 30s, 52°C;50s,72°C; final extension, 4min, 72°C	215	This study
IS256	5-CCAGTTCATTTGGGTTTATAGC-3/ 5-CATATACATGGCAAGCTCTAGG-3	5min,95°C; 30 cycles of 30s, 94°C; 30s, 52°C;50s,72°C; final extension, 4min, 72°C	251	This study
aap	5-AAACGGTGGTATCTTACGTGAA-3/ 5-CAATGTTGCACCATCTAAATCAGCT-3	5min,94°C; 30 cycles of 30s, 94°C; 30s, 60°C;50s,72°C; final extension, 4min, 72°C	465	(3)
bhp	5-ATGGTATTAGCAAGCTCTCAGCTGG-3/ 5-AGGGTTTCCA TCTGGATCCG-3	5min,94°C; 30 cycles of 30s, 94°C; 30s, 61°C; 90s,72°C; final extension, 4min,72°C	1585	(3)
fbe	5-CTACAAGTTCAGGTCAAGGACAAGG-3/ 5-GCGTCGGCGTATATCCTTCAG-3	5min,94°C; 30 cycles of 30s, 94°C; 30s, 60°C;50s,72°C; final extension, 4min, 72°C	273	(3)

جدول ۲. فراوانی ژنهای مورد بررسی و توانایی تولید بیوفیلم ماکروسکوپی در ایزوله های بالینی استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس

Genotype	Ability of macroscopic biofilm formation			Total (n=59)
	SP	P	NP	
bhp+icaA+IS256+aap+fbe+	2	1		3
bhp+icaA+IS256+ fbe+		4		4
icaA+IS256+aap+ fbe+	10	6		16
icaA+IS256+ fbe+		3		3
icaA+aap+ fbe+		2		2
IS256+aap+ fbe+		2	8	10
bhp+icaA+		1		1
icaA+aap+		2		2
bhp+ fbe+		1		1
icaA+ fbe+		1	1	2
IS256+ fbe+			5	5
aap+ fbe+			4	4
fbe+		1	3	3
IS256+			2	2
aap+		1		1

SP: Strong biofilm producer, P: Biofilm producer, NP: Non biofilm producer

جدول ۳. فراوانی ژنوتیپ +icaA در ایزوله های قادر به تولید بیوفیلم و غیر قادر به تولید بیوفیلم

Genotype	Biofilm producer (n=36)	Non biofilm producer (n=23)	Total (n=59)
icaA+	32	1	33
icaA-	4	22	26

بحث و نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به عنوان یکی از عوامل باکتریال عفونت بیمارستانی شناخته شده است. برخی عوامل زمینه‌ساز این امر عبارتند از: افزایش تعداد افرادی که سیستم ایمنی ضعیف دارند، استفاده از وسایل خارجی در بدن و استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها و ضدعفونی‌کننده‌ها. توانایی تولید بیوفیلم یکی از راه‌هایی است که باکتری می‌تواند از عوامل محیطی فرار نموده به عنوان ایجادکننده عفونت بیمارستانی مطرح شود [۲۲-۲۰]. برخی اقدامات از قبیل پوشش سطح وسایل خارجی با آنتی‌بیوتیک یا موادی که باکتری نتواند به آن متصل شود می‌تواند از تولید بیوفیلم توسط باکتری جلوگیری نماید [۲۳]. توانایی تولید بیوفیلم به باکتری کمک می‌کند تا خود را از دسترس سیستم ایمنی و عوامل ضد باکتریایی حفاظت نموده، عفونت‌های مزمن را به‌وجود آورد. ادهسین‌های باکتریایی به عنوان عوامل بیماری‌زایی که موجب عفونت در ارتباط با وسایل خارجی که سطح آن‌ها از پروتئین‌های میزبان پوشیده شده، شناخته می‌شوند [۲۴،۱۳]. تولید Polysaccharide intracellular adhesion (PIA) که توسط اپرون ica کد می‌شود و حضور توالی الحاقی IS256 دو شاخص مهم برای تهاجم استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس می‌باشند [۱]. رونوشت‌برداری و تولید زیاد accumulation associated protein (aap) که یکی از ادهسین‌های مهم محسوب می‌شود و برای توسعه بیوفیلم ضروری است می‌تواند موجب تولید بیوفیلم مستقل از PIA شود [۱۱،۱۸].

در این مطالعه از ۵۹ ایزوله بالینی استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، ۶۱٪ قادر به تولید بیوفیلم ماکروسکوپی بودند که ۸۸/۹٪ واجد icaA بودند (۸۰/۹ و ۹۶/۹ :CI ۹۵٪)، این یافته به‌طور معنی‌دار از میزان گزارش شده (۱۰۰٪) توسط Gad و همکاران [۱۳] کم‌تر است. Aricola و همکاران [۱۰] گزارش نموده‌اند که ۸۷٪ از ایزوله‌های + icaA قادر به تولید بیوفیلم ماکروسکوپی بوده‌اند، نتایج بررسی حاضر نشان‌دهنده این است که ۹۷٪ از ایزوله‌های + icaA قادر به تولید بیوفیلم می‌باشند (۹۱/۲ و ۱۰۰ :CI ۹۵٪) که به‌طور معنی‌دار از نتایج بررسی Aricola و همکاران بیش‌تر است. در بررسی حاضر تمامی ایزوله‌هایی که ژنوتیپ +icaA+aap داشتند قادر به تولید بیوفیلم ماکروسکوپی بودند که به‌طور معنی‌دار از نتیجه تحقیق انجام شده توسط Liduma و همکاران [۲۵] که این میزان را ۶۰/۶٪ گزارش نموده‌اند بیش‌تر است ولی با ۹۱٪ گزارش شده توسط Los و همکاران [۱۹] فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشد. در بررسی حاضر یک ایزوله با ژنوتیپ +icaA-IS256-aap-bhp قادر به تولید بیوفیلم ماکروسکوپی بود که نیاز به بررسی بیش‌تر با سویه‌های + bhp دارد. نتایج بررسی حاضر حاکی از این است که ژنوتیپ + icaA تاثیر معنی‌دار بر تولید بیوفیلم ماکروسکوپی در مقایسه با ژنوتیپ - icaA دارد (P=۰/۰۰۱).

نتایج تحقیق حاضر حاکی از این است که حضور عوامل مرتبط با بیماری‌زایی به‌ویژه icaA با توانایی تولید بیوفیلم ماکروسکوپی مرتبط است. حضور این عوامل در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس این باکتری را قادر می‌سازد تا تولید بیوفیلم نموده، موجب استقرار و بقای باکتری در بدن بیمار شود و در شرایطی که سیستم ایمنی بدن ضعیف باشد یا هنگام بستری شدن فرد در بیمارستان با ایجاد عفونت باعث ایجاد مشکلاتی برای بیمار به‌ویژه در صورت وجود مقاومت آنتی‌بیوتیکی شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از کارکنان گروه باکتری‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس نهایت تشکر و سپاس‌گزاری خود را به جهت همکاری برای انجام این مطالعه ابراز می‌دارند.

منابع

[1] Otto M. Staphylococcus epidermidis—the'accidental'pathogen. Nat Rev Microbiol 2009; 7: 555-567.

[2] Sani NA, Sapri HF, Neoh Hm, Hussin S. First report on the molecular epidemiology of Malaysian

Staphylococcus epidermidis isolated from a University Teaching Hospital. BMC Res Notes 2014; 7: 597.

[3] Rohde H, Kalitzky M, Kröger N, Scherpe S, Horstkotte MA, Knobloch JK, et al. Detection of virulence-associated genes not useful for discriminating between invasive and commensal Staphylococcus epidermidis strains from a bone marrow transplant unit. J Clin Microbiol 2004; 42: 5614-5619.

[4] Namvar AE, Bastarahang S, Abbasi N, Ghehi GS, Farhadbakhtiarian S, Arezi P, et al. Clinical characteristics of Staphylococcus epidermidis: a systematic review. GMS Hyg Infect Control 2014; 9.

[5] Luther MK, Bilida S, Mermel LA, LaPlante KL. Ethanol and isopropyl alcohol exposure increases biofilm formation in staphylococcus aureus and staphylococcus epidermidis. Infect Dis Ther 2015: 1-8.

[6] Asai K, Yamada K, Yagi T, Baba H, Kawamura I, Ohta M. Effect of incubation atmosphere on the production and composition of staphylococcal biofilms. J Infect Chemother 2015; 21: 55-61.

[7] Tafin UF, Betrisey B, Bohner M, Ilchmann T, Trampuz A, Clauss M. Staphylococcal biofilm formation on the surface of three different calcium phosphate bone grafts: a qualitative and quantitative in vivo analysis. J Mater Sci Mater Med 2015; 26: 1-8.

[8] Pinheiro L, Brito CI, Pereira VC, Oliveira Ad, Camargo CH, Cunha MdLRd. Reduced susceptibility to vancomycin and biofilm formation in methicillin-resistant Staphylococcus epidermidis isolated from blood cultures. Mem Inst Oswaldo Cruz 2014; 109: 871-878.

[9] Arciola CR, Campoccia D, Speziale P, Montanaro L, Costerton JW. Biofilm formation in Staphylococcus implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials. Biomaterials 2012; 33: 5967-5982.

[10] Arciola CR, Campoccia D, Gamberini S, Donati ME, Montanaro L. Presence of fibrinogen-binding adhesin gene in Staphylococcus epidermidis isolates from central venous catheters-associated and orthopaedic implant-associated infections. Biomaterials 2004; 25: 4825-4829.

[11] Otto M. Molecular basis of staphylococcus epidermidis infections. Semin Immunopathol 2012; 34: 201-214.

[12] Arciola CR, Campoccia D, Ravaioli S, Montanaro L. Polysaccharide intercellular adhesin in biofilm: structural and regulatory aspects. Front Cell Infect Microbiol 2015; 5.

[13] 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: 342-351.

[14] Koskela A, Nilsdotter-Augustinsson Å, Persson L, Söderquist B. Prevalence of the ica operon and insertion sequence IS256 among Staphylococcus epidermidis prosthetic joint infection isolates. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2009; 28: 655-660.

[15] Bowden MG, Chen W, Singvall J, Xu Y, Peacock SJ, Valtulina V, et al. Identification and preliminary characterization of cell-wall-anchored proteins of Staphylococcus epidermidis. Microbiology 2005; 151: 1453-1464.

[16] Rohde H, Frankenberger S, Zähringer U, Mack D. Structure, function and contribution of polysaccharide intercellular adhesin (PIA) to Staphylococcus epidermidis biofilm formation and pathogenesis of biomaterial-associated infections. Eur J Cell Biol 2010; 89: 103-111.

[17] Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Study guide for bailey & scott's diagnostic microbiology: Mosby; 2007.

[18] Sharon J. Peacock. Staphylococcus. In: Topley wilson‘s Microbiology & Microbial Infections.10th ed. Hodder Arnold. 2005; p: 771-816.

[19] Los R, Sawicki R, Juda M, Stankevic M, Rybojad P, Sawicki M, et al. A comparative analysis of phenotypic and genotypic methods for the determination of the biofilm-forming abilities of Staphylococcus epidermidis. FEMS Microbiol Lett 2010; 310: 97-103.

[20] Pourmand MR, Abdossamadi Z, Salari MH, Hosseini M. Slime layer formation and the prevalence of mecA and aap genes in Staphylococcus epidermidis isolates. J Infect Dev Ctries 2010; 5: 34-40.

[21] Büttner H, Mack D, Rohde H. Structural basis of Staphylococcus epidermidis biofilm formation: mechanisms and molecular interactions. Front Cell Infect Microbiol 2015; 5.

[22] Decker R, Burdelski C, Zobiak M, Büttner H, Franke G, Christner M, et al. An 18 kDa scaffold protein is critical for staphylococcus epidermidis biofilm formation. PLoS Pathog 2015; 11: e1004735.

[23] Arciola CR, Campoccia D, Ehrlich GD, Montanaro L. Biofilm-based implant infections in orthopaedics. Adv Exp Med Biol 2015; 830: 29-46.

[24] Speziale P, Pietrocola G, Foster TJ, Geoghegan JA. Protein-based biofilm matrices in Staphylococci. Front Cell Infect Microbiol 2014; 4: 171.

[25] Līduma I, Tračevska T, Bērs U, Žileviča A. Phenotypic and genetic analysis of biofilm formation by Staphylococcus epidermidis. Medicina (Kaunas, Lithuania) 2011; 48: 305-309.

Staphylococcus epidermidis virulence factor and ability of macroscopic biofilm production

Shahin Najar-Peerayeh (Ph.D)[1], Ali Jazayeri Moghadas (Ph.D)[*2], Bita Bakhshi(Ph.D)[1]
1 – Dept. of Bacteriology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2 – Dept. of Bacteriology and Virology, School of Medicine, Semnan University of Medical sciences, Semnan, Iran

(Received: 12 Oct 2015; Accepted: 11 Apr 2016)

Introduction*: Staphylococcus epidermidis* is considered to be an important opportunistic pathogen. *S.epidermidis* ability to cause infection is due to its biofilm formation ability. Several bacterial molecules act as *S. epidermidis* adhesion objects and play role in bacterial adhesion to protein or polymeric surfaces. This study aimed to determine the correlation of virulence factors and macroscopic biofilm formation in *S. epidermidis* clinical isolates.

Materials and Methods*:* A cross-sectional study was conducted including 59 *S. epidermidis* obtained from blood, urine, tracheal and wound samples in Tehran, Iran. *S. epidermidis* was identified by conventional bacteriological tests. Phenotypic biofilm formation assay was done by microtiter plate method. The virulence associated genes including *icaA, IS256, aap, bhp* and *fbe* were detected by specific PCR.

Results*:* From 59 isolates 36 (61%) were able to produce macroscopic biofilm, of which 12(33.3%) were strong biofilm producers. Of the 36 biofilm producers, 32 (88.9%) were positive for *icaA*. The majority of the isolates carried *fbe* (91.7%), *IS256* (77.8%), *aap* (72.2%), while *bhp* was presented only in (15.3%).

Conclusion*:* This study demonstrated that the presence of virulence factors is correlated with macroscopic biofilm production. The presence of these virulence factors enables *S. epidermidis* to produce biofilm, colonize and survive in patients. In the case of immune system compromising or hospitalized patients, infections can occur and would be more complicated than the antibiotic resistance cases.

Keywords*: Staphylococcus epidermidis*, Virulence Factors, Biofilm

* Corresponding author. Tel: +98 23 33654162
alijazayeri@semums.ac.ir