بررسی برخی از مواد آنتی سپتیک بر بیوفیلم سویه‌های استافیلوکوکی جدا شده از پوست بیماران بستری در تهران طی یک سال ۱۳۹۳ - ۱۳۹۴

بیتا هاتفی زاده: دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران.
* **فرزانه حسینی:** استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران (*نویسنده مسئول). hosseinimicrobiology@gmail.com
سهیلا مرادی بیدهندی: دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: مصرف بی‌رویه و روزافزون آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد بیوسایدی منجر به پیدایش سویه‌های مقاوم استافیلوکوکی شده است. هدف از این مطالعه بررسی میزان مقاومت بیوفیلم سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده نسبت به این ترکیبات بوده است.

روش کار: ۱۰۰ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس از پوست بیماران بستری در بخش عفونی از دو بیمارستان شهدای تجریش و ولیعصر شهر تهران طی یک سال جمع‌آوری شد. سویه‌های جدا شده از طریق آزمون‌های بیوشیمیایی استاندارد تعیین هویت گردیدند و توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز PCR مورد تأیید قرار گرفتند. الگوی تعیین مقاومت سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، آموکسی سیلین، آمپی‌سیلین، متی سیلین، کلاریترومایسین و بیوسایدهایی نظیر ساولن، دکوسپت و دکونکس (درموسپت) با روش دیسک دیفیوژن و حداقل غلظت مهارکننده و کشندگی آن‌ها با روش میکرودایلوشن تعیین گردید. بیوفیلم سویه‌های مقاوم MDR بر روی میکروپلیت‌های پلی استیرنی تشکیل گردید.

یافته‌ها: اغلب سویه‌های جدا شده نسبت به پنی سیلین، آموکسی سیلین، آمپی سیلین و متی سیلین مقاوم بودند و بیشترین حساسیت نسبت به کلاریترومایسین مشاهده گردید. بررسی فنوتیپی تشکیل بیوفیلم نشان داد که به ترتیب٪ ۶ (۶ سویه)، ٪۲۳/۲ (۲۳ سویه) و٪ ۵۰/۴ (۵۰ سویه) از جدایه‌ها قادر به تشکیل بیوفیلم به صورت قوی، متوسط و ضعیف می‌باشند و تنها ۲۰/۴ درصد جدایه‌ها قادر به تشکیل بیوفیلم در محیط آزمایشگاه نبودند. بیوفیلم در حضور ساولن کمترین میزان مقاومت و با دکونکس بیشترین مقاومت را نشان داد.

نتیجه‌گیری: شیوع سویه‌های مقاوم بیمارستانی با قابلیت تشکیل بیوفیلم در میان طیف وسیعی از بیماران می‌تواند خطر جدی برای سلامت جامعه باشد.

کلیدواژه‌ها: استافیلوکوکوس اورئوس، آنتی سپتیک، بیوفیلم

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (aureus Methicillin-Resistant Staphylococcus)، یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌هایی است که در ایجاد عفونت اکتسابی بیمارستان مطرح می‌باشد. این عفونت‌ها شامل آبسه نرم، اندوکاردیت، باکتریمی و انواع دیگری از عفونت‌ها هستند. عفونت‌های ناشی از MRSA یکی از مشکلات جدی درمانی می‌باشد چراکه تنها تعداد کمی از عوامل ضدمیکروبی مؤثر، برای درمان این عفونت‌ها وجود دارد (۱).

شواهد به‌دست‌آمده از مطالعه‌های میکروب‌شناسی، بیوشیمیایی و ژنتیکی نشان می‌دهد که وجود مولکول‌های فعال در محصول‌های بیوسایدی می‌تواند منجر به افزایش ایجاد مقاومت به مواد آنتی‌بیوتیکی شود. فشار انتخابی وارد شده بر باکتری توسط مواد بیوسایدی می‌تواند منجر به دوام و گزینش باکتری‌هایی شود که مکانیزم‌های مقاومت یا دفع فعال این مواد را بیان می‌کنند (۳ و ۲).

مصرف روزافزون آنتی‌بیوتیک‌ها و بیوسایدها در جلوگیری از عفونت‌ها منجر به توسعه و گسترش انواع مختلفی از آنتی‌بیوتیک‌ها و ظهور سویه‌های مقاوم به متی سیلین شده که تا چندی پیش داروی انتخابی در درمان عفونت‌های استافیلوکوکی بوده است (۴). امروزه عفونت‌های استافیلوکوکی، مشکل عمده‌ای در امر درمان می‌باشد با توجه به این‌که تنها تعداد کمی از ترکیبات ضدمیکروبی ازجمله کینولون‌ها جهت درمان این عفونت‌ها

وجـود دارنـد، مطالعـه سـویه‌هـای مقـاوم بـه آنتی‌بیوتیک‌ها و همین‌طور مقاوم به بیوساید ها که اولین سد دفـاعی در مقابـل عفونـت‌هـا هسـتند و همین‌طور بررسی مکانیزم هـای مقاومـت موضـوع بسیار مهمی را در امر درمان و پیشگیری فـرا روی ما قرار داده است (۵).

بیوفیلم ۲ ساختار هایی متشکل از سـلول هـای باکتریایی به هم چسبیده در یک ماتریکس پلیمری هستند که توسط خود این باکتری ها ساخته مـی شوند و سبب چسبیدن به سطوح زنده یا بـی جـان می گردند (۶).

بیـوفیلم تشـکیل شـده بـر روی وسـایل و دستگاه‌هـای پزشـکی باعـث آلـودگی و در نتیجـه انتقال عفونت‌های بیمارستانی مـی گـردد (۸ و ۷). بعضی از بـاکتری‌هـای واقـع در بیـوفیلم مقاومـت چشمگیری در برابر عوامل ضدمیکروبی دارنـد کـه به مراتـب بـالاتر از حالـت زنـدگی آزاد اسـت، بـه همین دلیل درمان عفونت‌های مرتبط بـا بیـوفیلم دشوار است. سیستم ایمنی بدن به تـداوم بیـوفیلم کمـک مـی کنـد و مـی‌توانـد تـا ۱۰۰۰ برابـر بـه آنتی‌بیوتیک و دیگر عوامل ضدمیکروبی نسبت بـه همتایان پلانکتونی خود مقاوم شود (۹).

تشکیل بیوفیلم توسط استافیلوکوکوس اورئـوس مثالی از تغییر های فنوتیپی است و از ویژگی های بـارز عفونـت تشـکیل لایـه هـای مختلـف از باکتری‌های احاطه شده در یک اگزوپلـی سـاکارید گلیکوکالیکسـی اسـت و حضـور گلیکوکـالیکس از باکتری‌های محصور محافظت مـی کنـد و مـانع از نفوذ آنتی‌بیوتیک می شود (۱۱ و ۱۰).

بیوسایدها برخلاف آنتـی‌بیوتیـک‌هـا کـه بعـد از چندین ساعت تماس اثر کشندگی دارند، آن‌هـا در مدت کمتر از چند دقیقه اثر کرده و بـاکتری‌هـا را می کشند. شناخت پایه و اصول ضدعفونی کننـده مناسب نقش اساسی در بهبود روش هـای بـه کـار رفته در پزشکی بالینی دارد (۱۱). در این بررسـی قابلیت تشکیل بیوفیلم سویه‌های اسـتافیلوکوکوس جداشده مقاوم به آنتی‌بیوتیک مورد ارزیـابی قـرار گرفتـه و میـزان حساسـیت آن‌هـا نسـبت بـه بیوسایدهای متداول مراکز بهداشتی سنجیده شده است.

روش کار

طی یک سال از اسـفند ۱۳۹۳ تـا اسـفند سـال ۱۳۹۴ نمونه گیری از پوست ناحیه بـازو، سـاعد و صـورت بیمـاران بسـتری در بخـش عفـونی از بیمارستان شهدای تجریش و ولیعصر شهر تهران با اسـتفاده از سـوآپ مرطـوب شـده بـا بـافر سـالین فسفات استریل انجام پذیرفت و به محیط بلاد آگار منتقل گردیدند.

سپس با اسـتفاده از آزمـون هـای بیوشـیمیایی شامل رنگ آمیزی گرم، آزمایش کاتالاز، کواگولاز، DNase، اکسیداسیون و فرمانتاسیون مانیتول مورد شناسـایی قـرار گرفتنـد. جهـت تاییـد تشـخیص فنوتیپی، حضور ژن nuc با پرایمرهای طراحی شده زیر به روش PCR آماده و مورد بررسی قرار گرفت.

nucA-F:5'-CTGGCATATGTATGGCAA TTGTT-3'

nucA-R:5'-TAT TGA CCT GAA TCAGCG TTG TCT-3'

جهـت اسـتخراج DNA از روش فنـل کلرفـرم استفاده شـد و عصـاره سـلولی بدسـت آمـده در ۴ درجه سانتی گراد نگهداری گردید (۱۲).

حساسـیت سـویه‌هـای باکتریـایی نسـبت بـه آنتی‌بیوتیک‌هـای پنـی سـیلین (دیسـک µg ۱۰، پودر µg ۸۰۰)، آموکسی سیلین (دیسک µg ۳۰، پـودر µg ۵۰۰)، آمپـی سـیلین (دیسـک µg ۱۰، پودر µg ۵۰۰)، اگزاسیلین (µg ۱)، سفوکسی تین (دیسـک 30µg)، متـی سـیلین (دیسـک µg ۵)، کلاریترومایسـین (دیسـک µg ۱۰) جنتامایسـین (دیسک µg ۱۰)، تتراسـاکلین (دیسـک µg ۳۰)، ونکومایسین (دیسک µg ۳۰) (شرکت پادتن طب) بـه دو روش دیسـک دیفیـوژن و حـداقل غلظـت مهارکننـده بـا روش Broth micro-dilution بـا استفاده از توصیه های Clinical Laboratory and Standard Institute (CLSI) انجـام پـذیرفت (۱۳،۱۴).

برای تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) بـاکتری‌هـای جداشـده نسـبت بـه بیوسایدهای ساولن، دکوسپت و دکـونکس از روش رقت در آگار استفاده شد.

جدایه ها پس از کشت در محیط BHI (Brain-heart-infusion broth) (شرکت Merck) یک شبانه روز در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند.

از کشت میکروبی ۲۰ ساعته، به ۱۰ میلی لیتر محیط مایع BHI افزوده (مطابق با کدورت ۰/۵ مک فارلند) و سوسپانسیون میکربی تهیه گردید. میزان ۵۰ میکرولیتر محیط BHI به چاهک های میکرو پلیت ۹۶ خانه ای پلی استیرن (میکروپلیت تخت ۹۶ خانه، شرکت پویان طب تشخیص مهر) افزوده و از سوسپانسیون میکروبی ۱۰۰ میکرولیتر در داخل چاهک ها به غیر از شاهد منفی تلقیح شد. کنترل مثبت واجد محیط کشت و باکتری می باشد. میکرو پلیت ها، در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت گرما گذاری شدند. بعد از اتمام مدت گرماگذاری، محتوای چاهک ها کاملا تخلیه شد. هر چاهک میکروپلیت سه مرتبه با ۲۰۰ میکرو لیترسرم فیزیولوژی شستشو گردید. از بیوساید های ساولن یا ستریمید - سی (بهسا، ترکیب دو ماده ضدعفونی کننده Cetrimonium bromide۱۵٪ و ۱/۵٪ کلرهگزیدین گلوکونات)، دکوسپت (به بان شیمی: دی دسیل دی متیل آمونیوم کلراید، پلی هگزا متیل، بیگوانید هیدروکلراید، مواد ضد خورندگی، اسانس و آب مقطر)، دکونکس (درموسپت): اتانول، ایزوپروپانول نرمال، بنزآلکانیوم نرمال کلراید) به میزان ۱۰۰ میکرولیتر با غلظت های مختلف (۱۰ تا ۱۰۰ درصد) به مدت یک ساعت بر روی بیو فیلم ها تاثیر داده شدند (به غیر از شاهد و کنترل). در این مدت هر ۲۰ دقیقه یک بار، محتوای چاهک ها تخلیه و ماده تازه BHI جایگزین آن می گردد. برای تثبیت بیوفیلم ها از متانول ۹۹ درصد به میزان ۱۰۰ میکرو لیتر استفاده شد و پس از ۲۵ دقیقه پلیت در هوا خشک گردید. به تمام خانه ها ۱۰۰ میکرولیتر رنگ کریستال ویوله ٪۲ اضافه شده و پس از ۲۰ دقیقه پلیت ها در زیر آب شیر شسته شدند تا رنگ اضافی خارج شود. سپس رنگ های متصل با اضافه کردن ۲۰۰ میکرولیتر اسیداستیک ۳۳ درصد آزاد شدند. جذب نوری هر یک از خانه ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از ELISA reader Stat fax ۲۱۰۰ قرائت گردید .تمامی اندازه گیری‌ها در سه آزمایش جداگانه تکرار گردید (۱۵).

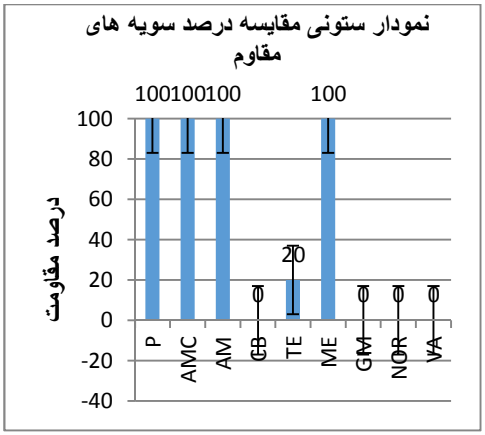
انحراف معیار بالا تر از میانگین جذب نوری گروه کنترل منفی به عنوان Cut-off (جذب نوری ODc) مورد استفاده قرار گرفت. توانایی تشکیل بیوفیلم جدایه های مورد آزمایش براساس جذب نوری در ۴ گروه جداگانه شامل عدم اتصال OD<ODc، ضعیف ODc<OD<2xODc، متوسط 2xODc<OD<4xODc و قوی4xODc<OD قرار داده شدند (۱۶).

یافته‌ها

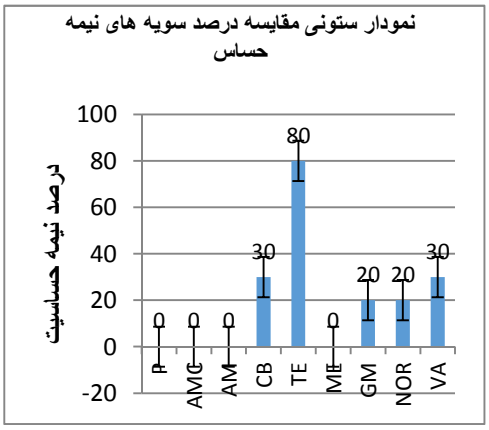
یافته‌های بیوشیمیایی و مولکولی ۱۰۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس را مشخص نمودند (شکل ۱). تمامی سویه‌ها نسبت به پنی سیلین، آموکسی سیلین، آمپی سیلین و متی سیلین مقاوم بودند و بیش ترین حساسیت نسبت به کربنی سیلین، ونکومایسین، جنتامایسین و کلاریترومایسین مشاهده گردید (نمودارهای ۱-۳).

بالاترین میزان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) بر حسب میکرو گرم در میلی لیتر برای آموکسی سیلین ۲۵۶µg/ml و کمترین میزان مربوط به کلاریترومایسین ۴µg/ml بوده است (جدول ۱).

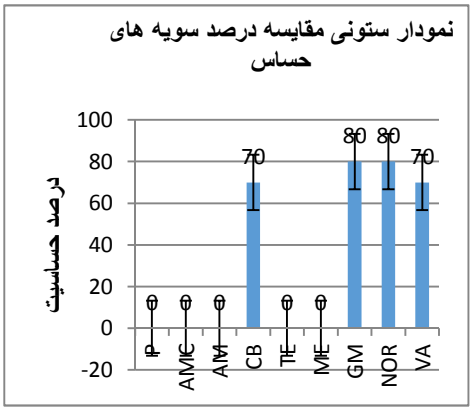
نتایج تشکیل بیوفیلم و سنجش حساسیت به بیوساید های (ضدعفونی کننده های) مورد استفاده (ساولن، دکوسپت، دکونکس) با استفاده از آزمون خی دو روی بیوفیلم تفاوت معنی داری در سطح ۹۹ درصد در بین غلظت های مورد استفاده از لحاظ درصد جذب نوری نشان داد. همان طور که در نتایج جدول ۲ نشان داده شده بالاترین میزان MIC مربوط به ساولن و کم ترین مربوط به دکونکس بوده است. بررسی فنوتیپی تشکیل بیوفیلم مشخص نمود که از میان سویه‌های مقاوم به متی سیلین، آمپی سیلین و پنی سیلین تنها ۸/۲ درصد بیوفیلم قوی تشکیل دادند ۲۵/۲ و ۱۵/۴ درصد آن‌ها به ترتیب بیوفیلم متوسط و ضعیفی را ایجاد کردند. ۵۱/۲ درصد از سویه‌ها قادر به تشکیل بیوفیلم نبودند.



نمودار ۱- مقایسه درصد سویه های مقاوم



نمودار۲- مقایسه درصد سویه های نیمه حساس

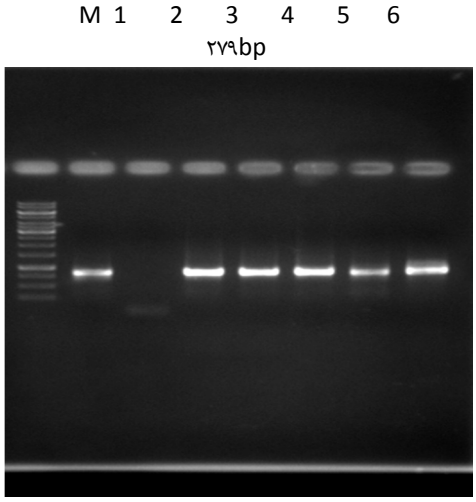


نمودار ۳- مقایسه درصد سویه های حساس

بحث و نتیجه‌گیری

گسترش شیوع عفونت‌های بیمارستانی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس در جهان موجب شده است که تلاش های گسترده و مستمری برای کنترل عفونت‌های بیمارستانی صورت گیرد (۱۷).

ترکیبات ضدمیکروبی ازجمله بیوساید های



شکل ۱- الکتروفورز محصول PCR روی ژل آگارز ۱٪ باند ژن nuc با وزن مولکولی ۲۷۹bp در خطوط ۳،۴،۵و۶ مشخص شده است.
شماره ۱: کنترل مثبت S.aureus ۱: مارکر، ۱: کنترل مثبت ATCC 12228 ۲، کنترل منفی.

محتوی ترکیبات چهارتایی آمونیوم، بخشی از راه کارهای به کار گرفته شده جهت کنترل عفونت نه تنها در محیط‌های بیمارستانی بلکه در صنایع غذایی، مصارف خانگی، صنایع آرایش- بهداشتی و مراکز پرورش و نگهداری حیوانات می باشند. اگرچه بیوساید ها، اولین خط دفاعی جهت کنترل و جلوگیری از عفونت‌ها هستند، تصور بر این است که مصرف بی رویه و نادرست بیوساید ها ممکن است موجب فشار انتخابی شده و منجر به پیدایش میکروارگانیسم های مقاوم به دزانفکتانت گردد (۱۸). شناسایی سویه‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس اغلب بر اساس حضور ژن های nuc و mec در این سویه‌ها می باشد (۱۹،۲۰).

عفونت‌های ناشی از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، یکی از مشکلات جدی درمانی می باشد. چراکه تنها تعداد کمی از عوامل ضدمیکروبی مؤثر علیه این عفونت‌ها وجود دارد. آنتی‌بیوتیک‌های فلوروکینولون‌ها علیه این عفونت‌ها مؤثر واقع می شوند. بروز جهش در سه گروه ژن مرتبط با بروز مقاومت به فلوروکینولون‌ها در MRSA گزارش داده شده است (۲۱).

در این تحقیق از صد سویه جداشده از پوست بیماران عفونی بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به متی سیلین، پنی سیلین و آمپی سیلین مشاهده گردید. نتایج حاصل نشان دادند که

جدول ۱- مقاومت آنتی بیوتیکی در میان سویه های بیوفیلم مثبت و بیوفیلم منفی استافیلوکوکوس اورئوس

آنتی بیوتیک	MIC µg/ml	MBC µg/ml	درصد سویه های بیوفیلم مثبت با انحراف معیار	P value
پنی سیلین	۱۶	۳۲	۱۰۰±۰	-
آمپی سیلین	۶۴	۱۲۸	۵	۰/۰۰۰۱<
متی سیلین	۶۴	۱۲۸	۵۴±۵	۰/۰۰۰۱<
آموکسی سیلین	۲۵۶	۲۵۶	۵۲±۵	۰/۰۰۰۱<
اگزاسیلین	۳۲	۱۲۸	۴۸±۴	۰/۰۰۳
سفوکسی تین	۸	۱۶	۲۳±۳	۰/۰۰۳
جنتامایسین	۱۶	۳۲	۲۰±۲	۰/۰۸۷۵
تتراسایکلین	۳۲	۱۲۸	۲۲±۲	۰/۰۰۰۱<
ونکومایسین	۸	۱۶	۲۱±۲	۰/۵۴۶۱
کلاریترومایسین	۴	۱۶	۱۲±۱	۰/۰۰۳

جدول ۲- مقایسه حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) بیوساید های مورد استفاده برای سویه های مختلف با بیوفیلم (OD)

بیوساید ها	ساولن		دکوسپت		دکونکس	
MIC (µg/ml)	غلظت	درصد	غلظت	درصد	غلظت	درصد
	۲	٪ ۸۰±۵	۸	٪ ۷۰±۵	۳۲	٪ ۸۰±۵
	۱	٪ ۲۰±۵	۱۶	٪ ۳۰±۵	۱۶	٪ ۲۰±۵
P value	۰/۰۰		۰/۰۰		۰/۰۰	
MBC (µg/ml)	غلظت	درصد	غلظت	درصد	غلظت	درصد
	۴	٪ ۸۰±۵	۱۶	٪۷۰±۵	۶۴	٪ ۸۰±۵
	۲	٪ ۲۰±۵	۳۲	٪ ۳۰±۵	۳۲	٪ ۲۰±۵
P value	۰/۰۰		۰/۰۰		۰/۰۰	
بیوفیلم (OD)	غلظت	OD	غلظت	OD	غلظت	OD
	+	۰/۹۸۹±۵	+	۰/۸۷۹±۵	+	۰/۷۶۹±۵
	٪ ۱۰	۰/۸۷۶±۵	٪ ۱۰	۰/۷۷۴±۵	٪ ۱۰	۰/۶۷۸±۵
	٪ ۲۰	۰/۷۶۱±۵	٪ ۲۰	۰/۶۸۵±۵	٪ ۲۰	۰/۶۲۴±۵
	٪ ۳۰	۰/۶۷۵±۵	٪ ۳۰	۰/۶۲۷±۵	٪ ۳۰	۰/۵۸۶±۵
	٪ ۴۰	۰/۶۲۳±۵	٪ ۴۰	۰/۶۰۵±۵	٪ ۴۰	۰/۵۲۸±۵
	٪ ۵۰	۰/۵۷۵±۵	٪ ۵۰	۰/۵۹۲±۵	٪ ۵۰	۰/۵۰۸±۵
	٪ ۶۰	۰/۵۲۴±۵	٪ ۶۰	۰/۵۳۹±۵	٪ ۶۰	۰/۴۸۲±۵
	٪ ۷۰	۰/۴۷۳±۵	٪ ۷۰	۰/۴۸۶±۵	٪ ۷۰	۰/۴۲۸±۵
	٪ ۸۰	۰/۴۲۵±۵	٪ ۸۰	۰/۴۲۷±۵	٪ ۸۰	۰/۴۰۹±۵
	٪ ۹۰	۰/۳۷۴±۵	٪ ۹۰	۰/۳۹۳±۵	٪ ۹۰	۰/۳۷۹±۵
	٪ ۱۰۰	۰/۳۲۶±۵	٪ ۱۰۰	۰/۳۳۶±۵	٪ ۱۰۰	۰/۳۳۹±۵
	-	۰/۲۴۱±۵	-	۰/۲۵۶±۵	-	۰/۲۶۴±۵
P value		۰/۰۰		۰/۰۰		۰/۰۰

موثرترین ماده ضدعفونی کننده برای بیوفیلم استافیلوکوکوس اورئوس ساولن می باشد.

احمدی و همکارانش الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ۱۰۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس جداشده از نمونه‌های بالینی را تعیین کردند و بیش ترین مقاومت را نسبت به پنی سیلین و متی سیلین گزارش نمودند که مطابق نتایج این تحقیق بوده است (۲۲).

یوسفی مشعوف اثر بخشی ضد عفونی کننده‌ها و آنتی سپتیک‌های مورد مصرف شامل (هالامید، به آسا، کرئولین، فرمالدئید، گلوتارآلدئید، کلرهگزیدین، هایژین، ساولن، الکل) را در دو بیمارستان آموزشی بررسی کردند. مؤثرترین ماده ضد عفونی کننده را ساولن ۳/۲٪ معرفی کردند که

با نتایج این تحقیق مطابقت داشته است (۲۳).

در یک بررسی بیش ترین میزان مقاومت نسبت به پنی سیلین و اگزاسیلین را در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جداشده گزارش نمودند (۲۴). طوسی و همکارانش در سال ۱۳۸۸ توانایی تشکیل بیوفیلم در استافیلوکوکوس اورئوس‌های جداشده از اورام پستان دامداری های اطراف تهران را مورد بررسی قرار دادند و بیان فنوتیپی بالایی در تشکیل بیوفیلم مشاهده شد (۲۵).

در سال ۲۰۰۱، Bjorland و همکارانش تحقیقاتی را روی ۵۵ استافیلوکوکوس اورئوس جداشده از شیر دام انجام دادند و حساسیت آن‌ها را نسبت به ترکیبات چهارتایی آمونیوم نظیر بنز آلکونیوم کلراید سنجیدند. MIC مقاوم به بنز آلکونیوم کلراید ۳-۲/۵μg/ml و سویه‌های حساس ۱-۰/۵μg/ml گزارش نمودند که با تحقیق حاضر مطابقت دارد (۲۶).

Sidhu و همکارانش، حساسیت ۲۳۸ سویه استافیلوکوکی را نسبت به ترکیبات مشابه مطالعه قبلی را با محدوده MIC ۸-۳ گزارش نمودند و ۱۲۰ نمونه با MIC ۲ به عنوان سویه حساس به این ماده بیوساید گزار ش دادند (۱۱) و مهدوی در سال ۱۳۸۷ در بررسی تاثیر ضدعفونی کننده ها بر بیوفیلم نشان دادند که سلول‌های بیوفیلم در مقایسه با سلول‌های آزاد به مواد ضدعفونی کننده مقاومت بیش تری نشان می دهند و باید در انتخاب آن‌ها جانب احتیاط را رعایت کرد (۲۷).

گومز و همکارانش نشان دادند که تشکیل بیوفیلم در عفونت‌های استافیلوکوکی به دلیل پایداری و مقاومت چشمگیری که در برابر عوامل ضد میکروبی دارد منجر به درمان مشکل آنها می گردد (۲۸).

کنترل و حذف بیوفیلم ها در محیط‌های بیمارستانی و تجهیزات پزشکی یکی از بحث‌برانگیزترین موضوع‌ها است و با توجه به اطلاعات اندکی در رابطه با کنترل تشکیل بیوفیلم باکتری‌ها بر روی سطوح پزشکی و مقاومت آن‌ها به مواد باکتریسیدال وجود دارد تحقیق و بررسی در این رابطه حائز اهمیت بوده و لزوم پژوهش و مطالعه گسترده در این رابطه باید مورد توجه و تأکید قرار بگیرد.

این مطالعه نشان داد که درصد بالایی از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم جداشده از نمونه‌های بالینی قابلیت تشکیل بیوفیلم را داشته و این سویه‌ها در برابر بیوساید های رایج مراکز بهداشتی مقاومت قابل توجهی را نشان دادند.

شیوع سویه‌های بیمارستانی با قابلیت تشکیل بیوفیلم می‌تواند خطر جدی برای سلامت جامعه باشد و چون امروزه مقاومت سلول‌های بیوفیلم به عوامل ضدمیکروبی بسیار شایع و درمان آن بسیار مشکل است به همین خاطر تنها راه جلوگیری از تشکیل بیوفیلم ضدعفونی کردن منظم سطوح قبل از تشکیل بیوفیلم است.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از زحمت‌های گران‌قدر همکاران آزمایشگاه میکروبیولوژی محمودیه سرکار خانم ساجدی و سرکار خانم کاتوزیان کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

منابع

1. Clauditz A, Resch A, Wieland KP, Peschel A, Götz F. Staphyloxanthin plays a role in the fitness of Staphylococcus aureus and its ability to cope with oxidative stress. Infect.immun; 2006. 74(8): 4950-3.

2. Pournajaf A, Ardebili A, Goudarzi L, Khodabandeh M, Narimani T, Abbaszadeh H. PCR-based identification of methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains and their antibiotic resistance profiles. Asian Pac J Trop Biomed; 2014 May. 4(Suppl 1): S293–S297.

3. Mah TF, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. Trends Microb; 2001; 9(1): 34-39.

4. Cimolai N. MRSA and the environment, implications for comprehensive control measures. European J clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology; 2008. 27(7): 481-93.

5. Curran JP, Al-Salihi FL. Neonatal staphylococcal scalded skin syndrome: massive outbreak due to an unusual phage type. Pediatrics; 1980. 66(2): 285–90.

6. Rachid Sh, Ohlsen K, Witte W, Hacker J, Ziebuhr W. Effect of sub inhibitory antibiotic

concentration on polysaccharide intercellular adhesion expression in biofilm-forming Staphylococcus epidermidis. Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 2000. 44:3357-3363.

7. Cramton SE, Ulrich M, Götz F, Döring G. Anaerobic conditions induce expression of polysaccharide intercellular adhesin in Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis. Infection and Immunity; 2001. 69:4079-4085.

8. Cenci-Goga BT, Karama M, Rossitto PV, Morgante RA, Cullor JS. Enterotoxin production by Staphylococcus aureus isolated from mastitic cows. J food protection; September 2003. 66(9): 1693–6.

9. Patel AH, Nowlan P, Weavers ED, Foster T.Virulence of protein A-deficient and alpha-toxin-deficient mutants of Staphylococcus aureus isolated by allele replacement. Infect. Immun; December 1987. 55 (12): 3103.

10. Ryan KJ, Ray CG. Sherris Medical Microbiology, 4th ed., McGraw Hill; 2004.

11. Lewis K. Riddle of biofilm resistance. Antimicrob Agents Chemother; 2001. 45(4):999-007.

12. Brakstad OG, Aasbakk K, Maeland JA. Detection of Staphylococcus aureus by polymerase chain reaction amplification of the nuc gene. J Clin Microbiol; 1992 Jul. 30(7):1654-1660.

13. Abdoli Oskoii Sh, Ahangarzade M. Detrmination of antibiotic resistant patterns and minimal inhibition concentration of vancomicin in S.aureus coagulase negative isolated from clinical samples in children in Tabriz Spring 1392. J Ardebil uni med sci; 2013. 1(13). (Persian).

14. Locht, Camille; Simonet, Michel,14, Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach (2nd ed.). Norfolk, UK: Caister Academic Press, c2012.

15. Ahmadi Z, Tagbakhsh A. Determination of pattern of antibiotic resistant in S.aureus strains isolated from clinical samples in Imam Reza hospital Kermanshah. W microb J; 2013. 4: 299-311.(Persian).

16. Rahimi F. Biofilm formation in S.aureus isolated from normal adults. Ofoni Garmsiri; 2015. 68(20): 21-29. (Persian)

17. Raad I, Hanna H, Jiang Y, Dvorak T, Reitzel R, Chaiban G, Sherertz R, et al. Comparative activities of daptomycin, linezolid, and tigecycline against catheter-related methicillin-resistant Staphylococcus bacteremic isolates embedded in biofilm. Antimicrobial Agents Chemotherapy; 2007. 51:1656-1660.

18. Wayne Pa. Clinical and Laboratory Standard Institute C .Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A7. Clinical and Laboratory Standard Institute; 2006.

19. PCR for the identification of coagulase-positive Staphylococcus. Ciênc. Tecnol. Aliment; 2011. 31(4): 946-949.

20. Sidhu MS, Sorum H, Holk A. Frequency of disinfectant resistant genes and genetic linkage with lactamase transporter Tn552 among clinical Staphylococci. Antimicrob. Agents Chemother; 2002. 46: 2797-280

21. Ahmadi Z, Tagbakhsh A, Determination of pattern of antibiotic resistant in S.aureus strains isolated from clinical samples in Imam Reza hospital Kermanshah, W microb J; 2013. 4: 299-311.(Persian).

22. Yoefi Mashoof R, Fallah M. Estimination of effects of desenfectants and antiseptics uses in educational hospitals. Lorestan uni med sci; 2006. 1(8). (Persian).

23. Mola Abbaszade H, Eslami K. Frequency and antibiotic resistant pattern in S.aureus isolated from clinical samples in Arad Tehran Hospital in 1387-90 years. Ofoni Garmsiri; 2011. 63: 53-94 (Persian)

24. Hosseini F, Ghavam Shirazi M, Norouzi J. The effects of antimicrobial agents on planktonic and biofilm strains of Streptococcus mutans isolated from dental plague. J GonabadUniv Med Sci; 2011. 2(17) (Persian)

25. Bjorland J, Steinum T, Kvitle B, Waage S, Sude M, Heir E. Widespread distribution of disinfectant resistance genes among Staphylococci of boving and caprine origine in Norway. J Clin Microbiol; 2001. 43: 4363-4368.

26. Mahdavi M, Kasra Kermanshahi R, Jalali M. The assessment of disinfectants on various bacterial biofilms. Isfahan uni J; 2008. 2(31): 35-46. (Persian)

27. JW. Biofilm associated urinary tract infections, p. Biofilm associated urinary tract infections, In H. M. Lappin-Scott and J. W Costerton (ed.), Microbial biofilms. 1995, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom; 2011. 261–273.

28. Gomes B, Leite P, Teixeira, Oliveira R. Strategies to control Staphylococcus epidermidis biofilms, IBB- Institute for Biotechnology and Bioengineering, Centre of Biological Engineering, University of Minho, Campus de Gualtar; 2011. 4710-057.

29. Peeters E, Nelis HJ, Coenye T. Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. J Microbiological Methods; 2008. 72:157-165.

Study of some of antiseptic drugs on Staphylococcal strains biofilm isolated from patients with infectious skin during 2014-2015 in Tehran city

Bita Hatefizade, MA Student, Department of mMicrobiology, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran.
***Farzaneh Hosseini**, Assistant Professor of Microbiology, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran (*Corresponding author). hosseinimicrobiology@gmail.com
Soheila Moradi Bidhendi, Associate Professor of Microbiology, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran.

Abstract

Background: Excessive use of antibiotics and biocides has led to emergence of resistant Staphylococcal strains. The aim of this study was to examine resistance of Staphylococcal strains biofilm isolated to biocidal components.
Methods: 100 clinical isolates of Staphylococcus aureus were collected from hospitalized patients with infectious skins from two Shohadaye Tajrish and Valiasr hospitals for one year in Tehran City. Isolated strains were identified by standard biochemical tests and confirmed using polymerase chain reaction. The pattern of resistance of strains to antibiotics and biocides such as Savlon, Decosept and Deconex (Dermocept) were determined by disc diffusion method and their minimal inhibition and cidal concentrations were estimated using microdilution. The biofilm of MDR strains were formed on polystyrene microplates.
Results: Most of strains were resistant to penicillin, amoxicillin, ampicillin and methicillin and the most sensitivity was seen to clarythromicin. The phenotyping findings of biofilm formation show that 6%, 23.2% and 50.4% of isolates were able to biofilm formation as strong, intermediate and weak, repectively, and only 20.4% were unable to form biofilm. Biofilm had the lower and higher resistant to Savlon and Deconex, respectively.
Conclusion: The prevalence of hospital resistance strains with ability of biofilm formation can be serious danger for health of society in an extended spectrum of patients.

Keywords: Staphylococcus aureus, Antiseptic, Biofilm