مجله دنیای میکروب ها
سال دوم، شماره سوم، پاییز ۱۳۸۸
صفحات ۱۷۶-۱۶۹

بررسی نقش و اهمیت ساختارهای سطحی و آنزیم بتالاکتاماز باسیلوس سرئوس در ایجاد مقاومت دارویی

شیلا جلال پور*[۱]، دکتر حمید ابوسعیدی[۲]

[۱] کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرضا و عضو باشگاه پژوهشگران جوان،اصفهان

[۲] استادیار، گروه داخلی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان.

چکیده

سابقه و هدف: لایه-S خارجی‌ترین پروتئین در اغلب آرکی‌ها و باکتری‌ها است که با مهار ورود آنتی بیوتیک ها منجر به افزایش بیماری‌زایی در باکتری‌ها می‌گردد. با توجه به نقش دست پرسنل و سطوح بیمارستان در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی، آلودگی منابع مزبور با سویه های باسیلوس سرئوس واجد لایه-S و بتا-لاکتاماز منجر به گسترش عفونت‌های بیمارستانی مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها می‌گردد. هدف از این پژوهش، بررسی فراوانی لایه-S و بتا-لاکتاماز و هم چنین نقش لایه-S در مهار ورود آنتی‌بیوتیک‌ها در سویه‌های باسیلوس سرئوس جداسازی شده از دست پرسنل و سطوح بیمارستان می باشد.

مواد و روش ها: این پژوهش به صورت مقطعی-توصیفی بر روی ۲۷۴ نمونه تهیه شده از بیمارستان فوق تخصصی الزهرا و دانشگاه اصفهان در سال‌های ۱۳۸۶-۱۳۸۴ انجام گرفت. برای آماده سازی نمونه‌ها از کشت ۱۶ ساعته باکتری روی محیط TSA (Tryptone Soya Agar) استفاده شد و سپس به وسیله 10X SDS-PAGE الکتروفورز شدند. آنتی بیوگرام نمونه‌ها بر اساس روش کربی بائر و تولید بتا-لاکتاماز بر اساس روش اسیدومتریک انجام گرفت.

یافته ها: از ۲۷۴ نمونه جمع آوری شده، فراوانی باسیلوس سرئوس ۹/۴۹٪ بود. از ۱۳ سویه باسیلوس سرئوس جداسازی شده از دست پرسنل، ۱۱ مورد (۸۴/۶٪) و از ۱۳ سویه باسیلوس سرئوس جداسازی شده از سطوح بیمارستانی ۱ مورد (۷/۷٪) نانوساختار لایه-S را تولید نمودند. نتایج آنتی بیوگرام نشان داد که سویه‌های فاقد لایه-S در مقایسه با سویه‌های واجد آن حساسیت بیشتری در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها دارند.همچنین تمامی سویه‌های دارای لایه-S، مولد بتا-لاکتاماز بودند.

نتیجه گیری: نتایج این پژوهش نشان دهنده‌ی شیوع سویه‌های باسیلوس سرئوس واجد لایه-S و بتا-لاکتاماز در بیمارستان می‌باشد که این امر می‌تواند منجر به گسترش عفونت‌های بیمارستانی مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک گردد و بنابراین ضرورت انجام تدابیر مناسب به منظور کاهش انتقال عوامل بیماری‌زا و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های بیماری‌زا وجود دارد.

واژگان کلیدی: لایه-S ،باسیلوس سرئوس، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، بتا-لاکتاماز، عفونت‌های بیمارستانی

دریافت مقاله: خرداد ۸۸ پذیرش برای چاپ: شهریور ۸۸

مقدمه

باسیلوس سرئوس امروزه یکی از باکتری‌های بیماری‌زای انسانی و از جمله عوامل موثر در عفونت‌های بیمارستانی به ویژه در افراد مبتلا به نقص در سیستم ایمنی محسوب می‌گردد. عفونت‌های بیمارستانی ناشی از باسیلوس سرئوس در دو گروه گاستروانتریت و عفونت‌های غیرگاستروانتریتی طبقه بندی می‌شوند. عفونت‌های

*) **آدرس برای مکاتبه:** شهرضا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرضا، باشگاه پژوهشگران جوان. تلفن ۰۳۲۱۳۲۴۳۰۰۵

پست الکترونیک: shilla.jalalpoor@yahoo.com

غیرگاستروانتریتی شامل عفونت‌هایی است که توسط وسایل آلوده پزشکی (وسایل آلوده جراحی، دستکش، باند و...) و یا توسط پرسنل بیمارستان در بیماران بستری منتقل می‌شوند (۱). باکتریمی، اندوکاردیت، عفونت‌های چشمی، عفونت ماهیچه‌های اسکلتی و عفونت در میزبان حساس مهم‌ترین عفونت‌های غیرگاستروانتریتی باسیلوس سرئوس هستند (۲و۳). شیوع گاستروانتریت‌های باسیلوسی در پرسنل مراکز درمانی قابل ملاحظه می‌باشد.گاستروانتریت باسیلوسی به دنبال مصرف مرغ، برنج سرخ کرده و گوشت بخارپز آلوده به باسیلوس رخ می‌دهد. سایر عفونت‌های بیمارستانی باسیلوسی به دنبال انتشار گونه‌های باسیلوس از منابع آلوده از جمله دستگاه‌های همودیالیز، پرسنل بیمارستان، دستگاه‌های تهویه، دستکش و باندهای جراحی به وجود می‌آید (۷-۴). باسیلوس سرئوس علاوه بر توانایی تولید توکسین ایجادکننده گاستروانتریت، چندین عامل بیماریزای دیگر نیز مانند همولیزین، کلاژناز، پروتئاز، اگزوتوکسین، بتا-لاکتاماز و لایه-S تولید می‌کند که در ایجاد عفونت‌های غیرگاستروانتریتی نقش مهمی را به‌عهده دارند (۷-۴).

هر عاملی که باعث مهار یا غیرفعال سازی ورود آنتی‌بیوتیک‌ها به باکتری گردد، در نهایت باعث مقاومت آنتی بیوتیکی و شکست درمان می شود. ساختارهای سطحی مهم‌ترین عامل ویرولانس در باکتری‌ها محسوب می‌گردند. لایه-S و بتا-لاکتاماز با مهار ورود برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها و غیرفعال کردن آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتا-لاکتام، منجر به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها می‌گردند.بدلیل طیف اثر گسترده، سمیت انتخابی آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتا-لاکتام جایگاه ویژه‌ای را در درمان بیماری‌های عفونی دارند. متداول‌ترین و با اهمیت‌ترین روش مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها، تولید آنزیم‌های غیر فعال کنندهٔ آنتی‌بیوتیک مانند آنزیم بتا-لاکتاماز می‌باشد (۸ و۹).

لایه-S خارجی‌ترین ساختار سطحی در پروکاریوت‌ها محسوب می‌گردد که موجب پایداری و استحکام دیوارهٔ سلولی، شکل‌دهی به سلول، حفاظت باکتری در برابر عوامل محیطی می‌گردد. لایه-S عملکردهای گوناگونی دارد که به ویژه از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به بیماری‌زا بودن آن اشاره کرد (۱۳-۹). لایه-S با خاصیت غربال‌گری و نفوذپذیری انتخابی از ورود برخی مولکول‌ها مانند آنتی‌بیوتیک‌ها و آنزیم‌های مضر به داخل باکتری ممانعت به عمل می‌آورد. فقدان لایه-S در باکتری‌های بیماری‌زا منجر به کاهش یا فقدان توان بیماری‌زایی باکتری می‌گردد. از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زای واجد لایه- S می‌توان به جنس‌های ریکتسیا، ترپونما، باکتریوئیدس، کلامیدیا، کلاستریدیوم، کمپیلوباکتر و گونه‌های بیماریزای خانواده باسیلوس‌های واجد لایه-S مانند باسیلوس آنتراسیس، باسیلوس تورنجینسیس و باسیلوس سرئوس اشاره نمود (۱۵-۹).

میکروارگانیسم‌ها به تعداد زیادی در اغلب محیط‌ها یافت می‌شوند اما حضور آن‌ها در دست پرسنل و سطوح بیمارستان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. سطوح بیمارستان و دست پرسنل منابع بالقوه‌ای در حفظ، نگه‌داری، انتقال و انتشار باکتری‌ها در بیمارستان مطرح می‌شوند و ارتباط محسوسی با ایجاد عفونت‌های بیمارستانی دارند، به عبارت دیگرکنترل باکتری‌ها در سطوح بیمارستانی و دست پرسنل منجر به کنترل و حتی توقف عفونت‌های بیمارستانی می‌گردد (۹و۱۶).

در محیط بیمارستان انواع متعددی از باکتری‌های بیماری‌زا حضور دارند اما خانواده باسیلوس ها به واسطه تولید اسپور از انتشار گسترده‌ای در بیمارستان برخوردار می‌باشند. انتشار سویه‌های باسیلوس سرئوس مجهز به عوامل ویرولانس در سطوح بیمارستان و دست پرسنل در نهایت منجر به گسترش عفونت‌های بیمارستانی مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها می‌گردد، نظر به اهمییت باسیلوس سرئوس به عنوان یکی از باکتری‌های عامل عفونت بیمارستانی این پژوهش با هدف بررسی نقش و اهمیت عوامل ویرولانس لایه-S و بتا-لاکتاماز در مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه‌های بیمارستانی باسیلوس سرئوس انجام گردید.

مواد و روش ها

این پژوهش در سال‌های ۱۳۸۴ تا ۱۳۸۶ به صورت مقطعی-توصیفی در بیمارستان فوق تخصصی الزهرا و دانشکده علوم دانشگاه اصفهان انجام شد. حجم نمونهٔ مورد نیاز این پژوهش با استفاده از فرمول برآورد حجم نمونه حداقل ۱۹۲ نمونه محاسبه

شد. با توجه به گستردگی نمونه‌های محیطی و وجود سطوح پرتماس و کم‌تماس و هم چنین به دلیل بالا بردن دقت در محاسبات آماری ۱۹۴ نمونهٔ محیطی و ۸۰ نمونه از دست پرسنل بیمارستان مورد بررسی قرار گرفت. سپس در پرسش‌نامه تنظیمی بخش بیمارستان، باکتری‌های جداسازی شده، توان تولید یا عدم تولید بتا ـ لاکتاماز و الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی ثبت گردید.

نمونه‌های محیطی از سطوح کم‌تماس و پرتماس بیمارستان مانند صندلی، میز کنار تخت، کف اتاق، تشک پلاستیکی و لبه کنار پنجره اتاق بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان جمع آوری گردیدند. برای تهیه نمونه از سطوح بیمارستان از روش جمع آوری نمونه‌های محیطی با استفاده از سوآب و محیط تریپتون سویا براث (TSB) (ساخت شرکت Merck) استفاده شد (۱۶،۹ و۱۷).

پس از انتقال نمونه‌های جمع آوری شده به آزمایشگاه در شرایط استریل، با استفاده از لوپ، هم‌زمان هر نمونه روی محیط‌های بلادآگار و ائوزین متیلن بلو (EMB) (ساخت شرکت Merck) به روش خطی کشت داده شد (۹و۱۸). برای تهیه نمونه از دست پرسنل از روش Fingerprint استفاده شده است. برای این منظور نمونه‌ها مستقیماً با تماس سرانگشتان دست پرسنل، هم‌زمان روی محیط‌های بلادآگار و EMB جمع‌آوری و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرما گذاری گردید (۱۶،۹ و۱۹).

گونه باکتری‌های خالص سازی شده با انجام روش‌های میکروبیولوژیک مانند: رنگ آمیزی گرم، تست‌های بیوشیمیایی، کاتالاز، اکسیداز، بتا ـ لاکتاماز (ساخت شرکت Merck) و محیط اختصاصی Bacillus cereus (ساخت شرکت Q-UELAB) شناسایی گردید (۹ و ۱۸).

برای شناسایی لایه‌ـ S نمونه‌ها در محیط تریپتون سویاآگار (TSA) غنی شده با ۰/۶gr٪ عصارهٔ مخمر (ساخت شرکت Merck) به مدت ۱۶ ساعت در شرایط هوازی کشت داده شد (۲۳-۲۰). سپس پروتئین‌های سطحی نمونه‌ها جداسازی و توسط SDS-PAGE آنالیز گردیدند. جداسازی پروتئین‌های سطحی با افزودن فسفات بافرسالین (PBS) (ساخت شرکت Merck) روی پلیت و با استفاده از میلهٔشیشه‌ای سرکج انجام گرفت. برای این منظور سوسپانسیون باکتری ۶ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید و رسوب حاصله در بافر یاد شده حل شد. سپس در PBS به OD: ۰/۶ (Optical Density) (۴۵۰nm) رسانده شد و مجدداً سانتریفوژ و رسوب حاصله در ۵۰۰ میکرولیتر HCL-Tris ۱٪SDS (pH:۸) (ساخت شرکت Merck) سوسپانسیون گردید (۲۳-۲۰). سپس محلول تهیه شده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در شیکر لرزان با سرعت ۸۰ دور در دقیقه نگهداری شد. رنگ آمیزی پروتئین‌های سطحی با استفاده از Sample Buffer (ساخت شرکت Merck) انجام گرفت. برای این منظور ۱۵ میکرولیتر سوسپانسیون به همراه ۵ میکرولیتر Sample Buffer به مدت ۵ دقیقه در دمای۱۰۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد (۲۳-۲۰). در مرحله بعد نمونه‌های آماده سازی شده توسط 10× SDS-PAGE الکتروفورز شدند.

بررسی الگوی آنتی‌بیوگرام نمونه‌ها با روش استاندارد انتشار دیسک در آگار CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) انجام گرفت (۹و۲۴). برای این منظور از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی پنی‌سیلین،وانکومایسین، تتراسایکلین و اریترومایسین (ساخت شرکت پادتن طب) استفاده گردید.

بررسی حضور بتا ـ لاکتاماز در نمونه‌ها با روش اسیدومتریک انجام گرفت. در این روش باکتری به محلولی حاوی پنی‌سیلین Gو قرمز فنل (ساخت شرکت Merck) اضافه گردید. تغییر رنگ محلول از بنفش به زرد نشان دهندهٔ شکستن پنی‌سیلین به پنی‌سیلوئیک اسید، مثبت شدن آزمون است (۹و۲۷-۲۵).

سپس یافته‌های پژوهش با استفاده از نسخه چهاردهم نرم‌افزارSPSS و آمار توصیفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها

از مجموع ۲۷۴ نمونه مورد بررسی، باسیلوس سرئوس فراوانی ۹/۴۹٪ را داشت که ۶/۷٪ آن مربوط به سطوح بیمارستانی و ۱۶/۲۵٪ مربوط به دست پرسنل بیمارستان بود.بر اساس نتایج SDS-PAGE، ۴۶/۲٪ از سویه‌های مورد بررسی واجد لایه‌ـ S و ۵۳/۸٪ فاقد توانایی تولید لایه‌ـ S بودند. به این ترتیب که ۸۴/۶٪ از دست پرسنل بیمارستان و ۷/۷٪ از سطوح بیمارستانی واجد

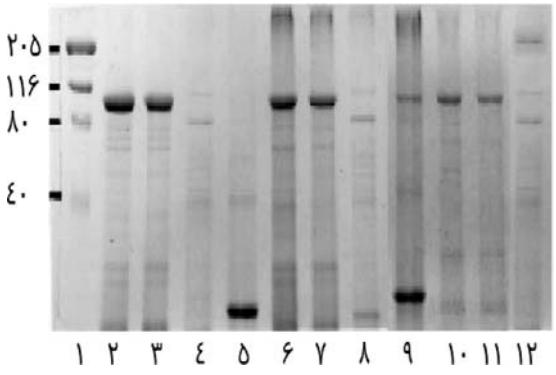
لایه‌ـS بودند (شکل ۱). نتایج اسیدومتریک نشان داد که تمامی سویه‌های واجد لایه‌ـ S، توانایی تولید بتا‌ـلاکتاماز را نیز دارند. نتایج حاصل از فراوانی لایه‌ـ S و بتا‌ـلاکتاماز در سویه‌های مورد بررسی، نشان‌دهنده شیوع گسترده و قابل ملاحظه عوامل مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها در باسیلوس سرئوس بود. به این ترتیب که تنها ۷/۱٪ از سویه‌های مورد بررسی فاقد لایه‌ـS و بتا‌ـلاکتاماز بودند. اما تمامی سویه‌های واجد لایه‌ـS، هم زمان بتا‌ـلاکتاماز را نیز داشتند. از طرف دیگر ۹۲/۲٪ از سویه‌های فاقد لایه‌ـS، آنزیم بتا‌ـلاکتاماز را تولید می‌کردند که این امر نشانگر شیوع گسترده‌تر بتا‌ـلاکتاماز در مقایسه با لایه‌ـS در سویه‌های باسیلوس سرئوس می‌باشد.

نتایج آنتی‌بیوگرام نشان داد که، به ترتیب ۰٪ از سویه‌های واجد لایه‌ـS و ۷/۷۰٪ از سویه‌های فاقد لایه‌ـ Sدر برابر پنی‌سیلین، ۹۰٪ از سویه‌های واجد لایه‌ـS و ۹۳٪ از سویه‌های فاقد لایه‌ـS در برابر وانکومایسین، ۷۲٪ از سویه‌های واجد لایه‌ـS و ۸۵٪ از سویه‌های فاقد لایه‌ـS در برابر اریترومایسین و ۹۰٪ از سویه‌های واجد لایه‌ـS و ۹۲٪ از سویه‌های فاقد لایه‌ـ Sدر برابر تتراسایکلین حساس بودند.

نتایج حاصل از بررسی و مقایسه هم‌زمان تولید لایه‌ـS و بتا‌ـلاکتاماز در سویه‌های باسیلوس سرئوس مشخص شد که تمامی سویه‌های واجد لایه‌ـS (۱۰۰٪)، بتا‌ـلاکتاماز را نیز تولید می‌کنند.

بحث

در این پژوهش، فراوانی جداسازی باسیلوس سرئوس از سطوح و دست پرسنل بیمارستان مشابه سایر مطالعات انجام شده در ایران می‌باشد. بر اساس نتایج به دست آمده از مطالعات der Zwet Van در سال ۲۰۰۰، از دست ۳۷٪ از پرسنل بیمارستان گونه‌های باسیلوس جداسازی شده است و بر اساس مطالعه دیگری فراوانی باسیلوس سرئوس در دست پرسنل مراکز درمانی ۱۵٪ گزارش شده است (۲،۱و۹). نتایج حاصل در پژوهش‌های انجام شده در خصوص اپیدمیولوژی گونه‌های باسیلوس در بیمارستان‌ها، با نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان دهنده‌ی انتشار گسترده گونه‌های باسیلوس در سطوح بیمارستان و سویه‌های باسیلوس



شکل ۱- الکتروفورز پروتیئن‌های سطحی سویه‌های باسیلوس سرئوس با روش SDS-PAGE ×10

سرئوس در دست پرسنل بیمارستان می‌باشد (۱۷و۲۸).

در ارتباط با لایه‌ـS تاکنون تحقیقی در ایران انجام نگرفته است و این پژوهش اولین بررسی در این زمینه می‌باشد، در پژوهش‌های Kotiranta در سال‌های ۱۹۹۹-۱۹۹۸، بر روی چهار سویه باسیلوس سرئوس (۲ سویهٔ استاندارد و ۲ سویهٔ بالینی) نشان داده شد که سویه‌های جداسازی شده از نمونه‌های بالینی واجد لایه‌ـS و سویه‌های استاندارد فاقد آن می‌باشند (۲۰و۲۱).

نتایج حاصل از این پژوهش و سایر مطالعات، نشان دهنده‌ی فراوانی بیشتر لایه‌ـS در باکتری‌های جداسازی شده از شرایط زیستی‌در مقایسه با شرایط غیر زیستی می‌باشد. با توجه به این‌که باسیلوس سرئوس یک باکتری بیماری‌زای انسانی است و لایه‌ـS یک ساختار بیماری‌زا محسوب می‌گردد، می‌توان نتیجه گیری نمود که سویه‌های باسیلوس سرئوس در صورت قرار گرفتن در شرایط زیستی با تولید لایه‌ـS خود را از نفوذ آنتی‌بیوتیک و آنزیم‌های موجود در بدن انسان محافظت می‌کنند (۹،۲۰،۲۱و۲۳).

بر اساس نتایج حاصل از آنتی‌بیوگرام، سویه‌های فاقد لایه‌ـS در مقایسه با سویه‌های واجد لایه‌ـS از حساسیت بیشتری در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها برخوردار بودند. نکته قابل توجه، مقاومت تمامی سویه‌های باسیلوس سرئوس واجد لایه‌ـS در برابر مهم‌ترین آنتی‌بیوتیک انتخابی در درمان عفونت‌های باسیلوسی یعنی پنی‌سیلین بود. اما سویه‌های باسیلوس سرئوس واجد و فاقد لایه‌ـS در برابر آنتی‌بیوتیک‌های وانکومایسین، تتراسایکلین و اریترومایسین، از حساسیت قابل ملاحظه‌ای برخوردار بودند.

فراوانی و انتشار قابل ملاحظه باکتری‌های مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها در محیط حساس بیمارستان، یکی از مهم‌ترین دلایل افزایش شیوع عفونت‌های بیمارستانی مقاوم در برابر دارو می‌باشد (۳۵-۲۹).

نتیجه گیری

با توجه به این‌که باسیلوس سرئوس یکی از باکتری‌های ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی به ویژه در افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی است و به دلیل گستردگی انتشار اسپور آن در محیط بیمارستان و مقاومت آن‌ها به بسیاری از دست شویه‌های مصرفی و مواد ضدعفونی کننده سطوح در بیمارستان‌ها باشند، شیوع سویه‌های مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها در بیمارستان می‌تواند منجر به افزایش فراوانی عفونت‌های باسیلوسی مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها گردد. از این رو پیشنهاد می‌گردد در راستای کنترل تراکم باکتری‌ها و کنترل ایجاد سویه‌های مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها در بیمارستان‌ها، موارد زیر مورد توجه قرار گیرد: ۱ـاعمال محدودیت برای ترددهای غیرضروری در بیمارستان که در نتیجه این امر از یک سو انتقال باکتری‌ها از محیط خارج به داخل بیمارستان کاهش می‌یابد و از دیگر سو انتقال باکتری‌های مقاوم از بیمارستان به محیط خارج و در نهایت به جامعه کنترل می‌گردد ۲ـاستفاده از وسایل حفاظت فردی مانند جوراب، کفش، ماسک و لباس‌های یک بار مصرف برای افرادی که در بیمارستان تردد دارند به ویژه در بخش‌های عفونی ۳ـبه کارگیری دست شویه‌ها و مواد ضد عفونی کننده استاندارد و کارآمد برای ضدعفونی کردن دست پرسنل بیمارستان ۴ـ ارزیابی عوامل ضدمیکروبی جدید ۵ـجداسازی بیماران بستری شده در بیمارستان ۶ـتجویز مناسب و به موقع آنتی‌بیوتیک‌ها و ۶ـ کنترل عفونت در بیمارستان‌ها (۴۲-۳۶). هم‌چنین پیشنهاد می‌گردد در درمان عفوت‌های ناشی از باسیلوس سرئوس،آنتی‌بیوتیک‌های وانکومایسین، تتراسایکلین و اریترومایسن، جایگزین پنی‌سیلین گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از مدیریت بیمارستان فوق تخصصی الزهرا، مدیریت آزمایشگاه‌های تحقیقاتی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان، مدیریت مجلات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، کمیته کنترل عفونت بیمارستان الزهرا، خانم دکتر روحا کسری کرمانشاهی، خانم دکتر اشرف السادات نوحی، آقای دکتر حمید زرکش اصفهانی، آقای دکتر اردشیر طالبی، آقای دکتر مهرداد معمارزاده، آقای دکترکامیار مصطفوی زاده، آقای سینا مباشری زاده، آقای فریبرز کیانپور، آقای محسن حسینی بالام، خانم کبری مقصودی، آقای مهندس علی مهرابی که در انجام این پژوهش همکاری صمیمانه ای داشته کمال امتنان را دارند.

References

1. Van der Zwet WC, Parlevliet GA, Savelkoul PH, Stoof J, Kaiser AM. Outbreak of *Bacillus cereus* infection in a neonatal intensive care unit traced to balloons used in manual ventilation. J Clin Microbiol, 2000; 38: 4131-6.
2. Amaout M.K, Tamburro RF, Bodner S.M. *Bacillus cereus* causing fulminanl sepsis and hemolysis in two patients with acule leukemia.Pediatr Hematol Oncol, 1999; 21: 431-5.
3. Hilliard NJ, Schelonka RL, Waites KB. *Bacillus cereus* bacteremia in a preterm neonate. J Clin Microbiol, 2003; 41: 3441-4.
4. Chu WP, Que TL, Lee WK, Wong SN.Meningoencephalitis caused by *Bacillus cereus* in a neonate. Hong Kong Med J., 2001; 7: 89-92.
5. Gaur AH. Patrick CC, McCullers JA.*Bacillus cereus* bacteremia and meningitis in immuno compromised children. Clin Infect Dis. 2001;32:1456-62.
6. Tuladhar R, Patole SK, Koh TH .*Bacillus cereus* infection in a neonate. Int J Clin Pract. 2000; 54:345-47.
7. Mori T. Tokuhira M. Takae. Successful non-surgicallrealment of brain abscess and necrolizing fasciitis caused by Bacilus cereus. Intern Med-II, 2002; 671-73.

8. Paterson DL, Bonomo Ra.Extended spectrum β-lactamases: A Clinical Update. Cli Microbiol Rev, 2005; 18:657-86.
9. Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Esfahani H. Study Production of β-lactamase and Surface layer, Nano Structure in some of Isolated Pathogen Bacteria From Clinical and Environmental Hospital Samples.MSc, Islamic Azad University Science and Research Branch. Iran, Tehran, 2007; 46-84.
10. Sara M,Uwe B. Sleytr. S-Layer Proteins.J Bacteriol, 2000; 182(4): 859-68.
11. Eichler j.Facing extremes:archaeal surface-layer (glyco) proteins. Microbiology, 2003; 149: 3347-51.
12. Schaffer Ch, Paul M.The structure of secondary cell wall polymers: how Gram-positive bacteria stick their cell walls together. Microbiol, 2005; 15: 643-51.
13. Masahiro Y, Hirofuji T, Motooka N, Nozoe K, Shigenaga K, Anan H, et al. Humoral Immune Responses to S-Layer-Like Proteins of Bacteroides forsythus. Clin Diagnost Laborate Immune, 2003; 10(3): 383-7
14. Sara M.Conserved anchoring mechanisms between crystalline cell surface S-layer proteins and secondary cell wall polymers in Gram-positive bacteria.Trends Microbiol, 2001; 9:47-9.
15. Messner P, Steiner K, Zarschler K, Schaffer C. S-layer nanoglycobiology of bacteria. Carbohydr Rese, 2008; 343(12)1934-51.
16. Sehulster L, Raymond Y.W. Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities. U.S.Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2003; Atlanta GA 30333.
17. Jalalpoor Sh,Kasra Kermanshahi R , Nouhi A.S , Zarkesh Esfahani. Survey Frequence of β-lactamase Enzyme and Antibiotic Sensitivity Pattern in Isolated Pathogen Bacteria from Low and High Hospital Contact Surfaces. Pajuhandeh Journal. 1389; 15(2): 77-82.
18. Washington C, Stephen A, Janda W , Koneman E, Procop G,Schreckenberger P, Woods G.Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Sixth edition.USA: Lippincott wiiliams & wilkins; 2006; 775-9.
19. Estes R. Food, Hands and Bacteria.2000.Available at http://pubs.caes.uga.edu/ caespubs/pubcd/ B693.htm#Wash. Accessed July 8, 2006.
20. Kotiranta A, Haapasalo M ,Kari K. Surface Structure, Hydrophobicity, Phagocytosis ,and Adherence to Matrix Proteins of *Bacillus cereus* Cells with and without the Crystalline Surface Protein Layer. Infect and Immun. 1998; 66(10): 4895-902.
21. Kotiranta AK, Hitoshi I, Markus P.Haapasalo P,Kari L. Radiation sensitivity of *Bacillus cereus* with and without a crystalline surface protein layer. FEMS Microbiol Lett. 1999; 179: 275-80.
22. Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Isfahani H. Determination nano structure surface layer in B.cereus. Proceedings of the 2nd International Biology Congress; 2008 February 6-7; Tehran, Iran. p. 14.
23. Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Isfahani H. Survey effect of in-vivo and in-vitro condition on expression of surface layer genes in bacteria. Journal of the Iranian Chemical Society, 2009; 6(suppl): S11.
24. Sambrook J, Russell D.W. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd Edition. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.
25. Wikler MA, Cockerill FR, Craig WA, Dudley MN, Eliopoulos GM, Hecht DW, Hindler JF, et al Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. Ninth Edition. 2006; 26(1).

26. Llanes R, Gonzalez M, Martinez I, Sosa J, Guzman D, Gutirrez O, et al. Evaluation of Four Methods for Detecting the Beta-lactamase Activity in Neisseria gonorrhoeae Isolated in Cuba. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2003; 98(8): 1089-91.
27. β-lacatamase. testing for beta lactamase production. 2006. Available at www.Aecom .yu.edu/home/id/idmicro/betalactamase.htm. 2006. Accessed 9.5. 2006.
28. Kampf G, Kramer A. Epidemiologic Background of Hand Hygiene and Evaluation of the Most Important Agents for Scrubs and Rubs. Clinl Microbiol Rev. 2004; 17(4): 863-93.
29. Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Esfahani. Comparison of the Frequency β-lactamase Enzyme in Isolated Nosocomial Infectious Bacteria. Journal of Rafsanjan University of Medical Science. 1388; 8(3): 203-214.
30. Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Esfahani H. The role of nanos-tructured surface layer and production of β-lactamase in penicillin resistant *Bacillus cereus* strains. Iranian Journal of Medical Microbiology, 2010; 4(1): 18-26.
31. Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Isfahani H. The Prevalence of Nano-structure Surface Layer in Bacillus Cereus Strains Isolated from Staff Hands and Hospital Surfaces. Journal of Isfahan Medical School. 27(100); 2009: 632-645.
32. Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Isfahani H. Survey Prevalence Nano Structure Surface layer in Isolated Bacteria from Bacterial flora in Staff Hands. 1st East Mediterranean Microbiology Congress: 2010 Mey 10-13. Gilan, Iran. p. 392.
33. Girard R ,Perraud M, Pruss A ,Savey A, Tikhomirov E, Thuriaux M, Vanhems P.Prevention of hospital-acquired infections,A practical guide, Department of Communicable Disease,Surveillance and Response, Editors; Ducel G, Fabry j, Nicolle L, 2nd edi-tion.2002.Available at WHO/CDS/CSR/EPH/2002.12.
34. Widmer AF.Replace hand washing with use of a waterless alcohol hand rub. Clin Infect Dis. 2000; 31: 136-43.
35. Pratt RJ.The epic project: Developing national evidence-based guidelines for preventing healthcare associated infections.Phase I:Guidelines for preventing hospital- acquired infec-tions.J Hosp Infect .2001;47(Supplement):S3-S4.
36. World Health Organization. Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. Original: English, Distribution: General. 2001. 2.Available at WHO/CDS/CSR/DRS/ 2001.2. Accessed 3.6.2007.
37. Rosenthal Victor D, Maki G ,Dennis Silom Jamulitrat. International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary for 2003-2008, issued June 2009. Am J Infect Control. 2010; 38: 95-106.
38. Victor D. Rosenthal, Dennis G. Maki, Camila Rodrigues. Impact of International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) Strategy on Central Line-Associated Bloodstream Infection Rates in the Intensive Care Units of 15 Developing Countries. Infec cont hosp epidemiol. 2010; 31(12).
39. Rosenthal VD, Maki DG, Jamulitrat S. International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary for 2003- 2008, issued June 2009. Am J Infect Control. 2010; 38(2): 95-104.
40. Madani N, Rosenthal VD, Dendane T, Abidi K, Zeggwagh AA, Abouqal R. Healthcare-associated infections rates, length of stay, and bacterial resistance in an intensive care unit of Morocco: findings of the International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC). Int Arch Med. 2009; 2:29.
41. Mielke M.Prevention and control of nosocomial infections and resistance to antibiotics in

Europe - Primum non-nocere: elements of successful prevention and control of healthcare-associated infections. Int J Med Microbiol, 2010; 300(6): 346-50.

42. Rosenthal VD, Maki DG, Rodrigues C, Alvarez-Moreno C, Leblebicioglu H, Sobreyra-Oropeza M, Berba R, Madani N. Impact of International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) strategy on central line-associated bloodstream infection rates in the intensive care units of 15 developing countries. Infect Control Hosp Epidemiol, 2010; 31(12): 1264-72.

Journal of Microbial World
Volume 2, No. 3, 2009

Survey Role and Important of Surfaces Structure and β-lactamase of Bacillus cereus in Drug Resistant

Shilla Jalalpoor[1], Hamid Abousaidi[2]

[1]Shahreza Branch, Young Researchers Club, Islamic Azad University, Shahreza, Iran
[2]Department of Internal Medicine, University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

Abstract

Background and Objectives: S-layer is a outer protein in bacteria and archaea which intensifies bacterial pathogenicity due to inhibiting antibiotic's entrance to cells. Because staffs and hospital surfaces have a major role in nosocomial infections, contaminating this source with S-layer and β-lactamase positive strains of B. cereus can lead to spread the antibiotic resistant nosocomial infections. In this study, in addition to determine the frequency of S-layer and β-lactamase positive strains in hospital environment, their function in inhibition of antibiotic's entrance has been surveyed.

Material and Methods: The descriptive research was performed on 274 samples isolated from Azzahra hospital and Isfahan University during 2005/2007. In order to preparation of samples, 16 hours bacterial culture in TSA (Tryptone Soya Agar) were used and then electrophoresis with 10X SDS-PAGE were performed. Antibiogram were performed with Kirby Bauer method and β-lactamase production, with acidimetric method.

Results: From 247 isolated bacteria, frequency of B. cereus strains was %9.49. Eleven sample (84/6%) from 13 isolated B. cereus of staff hand and 1 sample (7/7%) from 13 isolated B.cereus from hospital surfaces produce S-layer nanostructure. According to antibiogram result, non producer S-layer strains, in comparative S-layer producer strains, were more sensitive to antibiotics and all S-layer producer B.cereus strains, produce β-lactamase.

Conclusion: Result of this study show high prevalence S-layer and β-lactamase producer B. cereus strains in hospital, that lead to increase antibiotic resistance nosocomial infection and is necessary go on to reduce transfer virulence agent and antibiotic resistant in pathogen bacteria.

Keywords: S-layer, Bacillus cereus, Antibiotic Resistant, β-lactamase, Nosocomial Infections

Correspondence to: Shilla Jalalpoor
Tel: (+98)321-3243005
E-mail: shilla.jalalpoor@yahoo.com
Journal of Microbial World 2009, 2(3). 169-176