



شیوع ژن های $PSM \alpha$ و $PSM \beta$ در جدایه های بالینی استافیلوکوکوس

اورئوس تولیدکننده بیوفیلیم

آیا آهنی آذری^۱، علی اصغر آیت اللهی^۲، ابوالفضل خندان دل^{۳*}

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

۲- مرکز تحقیقات علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

۳- مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گلستان، گرگان، ایران

چکیده

مقاله پژوهشی اصیل

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یکی از علل شایع عفونت‌های بیمارستانی و اکتسابی می‌تواند با تشکیل بیوفیلیم به آنتی‌بیوتیک‌ها و سیستم ایمنی میزبان مقاومت پیدا کند. یکی از فاکتورهای حدت این ارگانیسم مدولین‌های محلول در فنل (PSMs) هستند که در تشکیل بیوفیلیم دخالت دارند. در این مطالعه به بررسی شیوع ژن‌های $PSM \alpha$ و $PSM \beta$ در بین سویه‌های بیمارستانی تولیدکننده بیوفیلیم پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های بالینی بیماران جمع‌آوری شده با استفاده از تست‌های میکروپشناسی و بیوشیمیایی از نظر استافیلوکوکوس اورئوس مورد مطالعه قرار گرفتند. وجود بیوفیلیم در جدایه‌ها به روش میکروتیترپلیت تشخیص داده شد و با استفاده از PCR، حضور ژن‌های $PSM \alpha$ و $PSM \beta$ مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

از مجموع ۶۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس، ۴۷ جدایه (۷۸.۳ درصد) از نظر وجود بیوفیلیم مثبت تشخیص داده شدند. با انجام PCR مشخص شد که شیوع ژن‌های $PSM \alpha$ و $PSM \beta$ در جدایه‌های واجد بیوفیلیم به ترتیب ۸۰ درصد و ۹۱/۷ درصد بود در حالی که در جدایه‌های فاقد بیوفیلیم شیوع این ژن‌ها به ترتیب ۱/۷ درصد و ۱۳/۶ درصد بود.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه ژن‌های $PSM \alpha$ و $PSM \beta$ در بین جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس تولیدکننده بیوفیلیم شیوع زیادی داشتند؛ بنابراین به نظر می‌رسد که بین فراوانی این ژن‌ها و تولید بیوفیلیم در این ارگانیسم ارتباطی وجود داشته باشد.

کلیدواژه‌ها

استافیلوکوکوس اورئوس، بیوفیلیم، شیوع، ژن PSM

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۰۷

*نویسنده مسئول: ابوالفضل خندان دل،

مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی،

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی

درمانی گلستان، گرگان، ایران.

تلفن: ۰۹۱۱۲۷۵۰۸۴۱

پست الکترونیک:

Ab.khandandel@gmail.com



مقدمه

استافيلوکوکوس اورئوس يکي از علل شايع عفونت‌هاي بيمارستاني و اکتسابي در دنياست که طيف گسترده‌اي از عفونت‌ها از جمله باکتريمي، سپتي سمی، ذات‌الريه و همچنين عفونت‌هاي پوستي، بافت نرم و استخواني ايجاد مي‌کند (۱، ۲). بسياري از عفونت‌هاي بيمارستاني استافيلوکوکوس اورئوس تنفسي بوده، در حالي که عفونت‌هاي اکتسابي آن از جامعه به صورت عفونت‌هاي پوستي و بافت نرم است (۲)؛ به علاوه، اين ارگانيسم مي‌تواند بيماري‌هاي ديگر از جمله مسموميت غذايي، اندوکاردیت يا استئوميليت نيز ايجاد کند. در بعضي موارد عفونت ناشي از استافيلوکوکوس اورئوس منجر به سپتي سمی شده و زندگي فرد را به خطر مي‌اندازد؛ علاوه بر اين، اين ارگانيسم يکي از علل رايج عفونت‌هاي مرتبط با بيوفيلم، به‌ويژه روي وسايل پزشکي تعبیه شده و بافت ميزباني مي‌باشد (۳)، به طوري که تشکيل بيوفيلم توسط آن و در نتيجه مقاومتش در برابر آنتي‌بيوتیک‌ها و سيستم ايمني ميزبان، اين ارگانيسم را به‌عنوان يک مشکل اساسي براي بيمارستان‌ها و کادر پزشکي تبديل کرده است (۴). يکي از فاکتورهاي حدت استافيلوکوکوس اورئوس مدولين‌هاي محلول در فئل (PSMs) هستند که روي ژنوم اصلي قرار دارند. PSMs خانواده‌اي از پروتئين‌هاي کوچک با عملکردهاي مختلفي مي‌باشند که از جمله اين عملکردها مي‌توان به ايجاد التهاب، عفونت، ليز سلولي، انشار کلني و تشکيل بيوفيلم اشاره کرد. PSM ها توسط باکتری‌هاي جنس استافيلوکوکوس از جمله استافيلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) و استافيلوکوکوس پيدرميديس توليد مي‌شوند (۵). PSMs براي اولين بار در استافيلوکوکوس پيدرميديس شناسايي شد و به‌عنوان يک کمپلکس پيش التهابي متشکل از سه پپتيد توصيف شد (۶).

از زمان کشف آن‌ها، نقش‌هاي بسياري از PSMs مشخص شده است؛ با اين حال، بسياري از PSMs به دليل اندازه کوچکشان تاکنون مورد توجه قرار نگرفته‌اند. اگرچه PSMs در همه گونه‌هاي استافيلوکوکي وجود دارند، اما بين آن‌ها تفاوت‌هايي وجود دارد. استافيلوکوکوس اورئوس هشت PSM مختلف، α 1-4 PSM، β 1-2 PSM، γ PSM (همچنين به عنوان δ -سم در استافيلوکوکوس اورئوس شناخته مي‌شود) و PSM-mec کدگذاري مي‌کند. در حالي که استافيلوکوکوس پيدرميديس α PSM، β 1-2 PSM، γ PSM و PSM-mec کدگذاري مي‌کند. علاوه بر اين، استافيلوکوکوس پيدرميديس دو PSMs منحصر به فرد، δ PSM و ϵ PSM را رمزگذاري مي‌کند (۷). PSMs به‌طور کلي براساس ويژگي‌هاي که به خوبي مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، در يکي از دو کلاس PSM نوع α و PSM نوع β قرار مي‌گيرند. PSMs نوع α به عنوان سيتوليزين اصلي در نظر گرفته مي‌شوند؛ در حالي که PSMs نوع β نقش مهمي در تشکيل بيوفيلم دارند، به طوري که با تغيير در ساختار β PSM، در توانايي آن‌ها براي تشکيل بيوفيلم اختلال به وجود آمده است. (۷). با توجه به اين که بيوفيلم يک عامل کليدي در بقا و مقاومت ضدمیکروبي سويه‌هاي استافيلوکوکوس اورئوس به شمار مي‌رود؛ بنابراین بررسی شيوع استافيلوکوکوس اورئوس تشکيل دهنده بيوفيلم و شناسايي ژن‌هاي دخیل در تشکيل بيوفيلم آن به‌ويژه در نمونه‌هاي باليني بسيار حائز اهميت است. هدف از انجام اين مطالعه بررسی شيوع ژن‌هاي α PSM و β PSM در سويه‌هاي استافيلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌هاي باليني بيمارستان آموزشي پنجم آذر گرگان، استان گلستان بود.

مواد و روش‌ها

جداسازي و شناسايي باکتری‌ها: در اين مطالعه توصيفي، طی فروردین تا آذر ۱۳۹۷، در مجموع ۶۰ جدایه



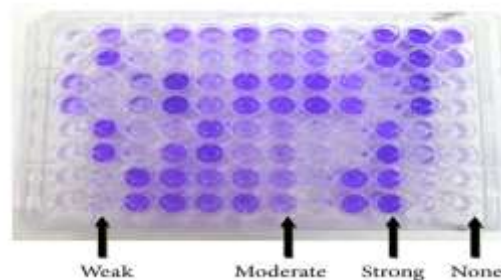
مثبت استفاده شد. برای مشاهده بیوفیلیم ها، ۲۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله ۲ درصد به مدت ۵ دقیقه به هر چاهک اضافه شد. پس از دور ریختن رنگ اضافی، چاهک‌ها سه بار با PBS شسته شد. برای پاک کردن کریستال ویوله از باکتری‌ها و بیوفیلیم از ۲۰۰ میکرولیتر اتانول استون (۲۰ تا ۸۰ درصد) به هر یک از چاهک‌ها اضافه شد. بعد از ۳۰ دقیقه، جذب نوری هر یک از چاهک‌ها توسط ELISA ریدر در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. یک مطالعه نیمه کمی از تشکیل بیوفیلیم با استفاده از محاسبات cut off مطابق با فرمول زیر انجام شد (۸، ۹). میانگین جذب کنترل‌های منفی به علاوه سه برابر انحراف معیار کنترل منفی به عنوان cut off در نظر گرفته شد. برای اطمینان از صحت کار برای جدایه‌های مورد بررسی، میزان جذب هر جدایه سه بار تکرار شد. روش محاسبه مقدار هر گروه و چگونگی تفسیر نتایج در جدول ۱ و شکل ۱ نشان داده شده است.

استافیلوکوکوس اورئوس از نمونه‌های بالینی مختلف بیماران بستری شامل ادرار، خون، مایع مغزی-نخاعی، زخم و آبسه جمع‌آوری شد. برای کشت از دو محیط بلادآگار و مانیتول سالت آگار و برای شناسایی جدایه‌ها از تست‌های افتراقی مرسوم، نظیر رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، کوآگولاز اسلایدی و لوله‌ای، OF، تست حساسیت به نوویوسین و DNase استفاده شد.

تست تولید بیوفیلیم: توانایی تشکیل بیوفیلیم در جدایه‌ها توسط روش میکروتیتیرپلیت مورد بررسی قرار گرفت. از کشت ۲۴ ساعته باکتری‌ها به محیط کشت TSB حاوی ۱ درصد گلوکز تلقیح شد و لوله‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از لوله‌هایی که کدورت آن‌ها به کدورت لوله نیم مک فارلند می‌رسید یا در طول موج ۵۷۰ نانومتر جذبی حدود ۰/۱ تا ۰/۸ داشتند، در میکروپلیت پلی استیرن ۹۶ خانه‌ای تلقیح می‌شد. از محیط کشت TSB تلقیح نشده به عنوان کنترل منفی و از استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 35556 به عنوان کنترل

جدول ۱- رتبه بندی تشکیل بیوفیلیم به روش میکروتیتیر پلیت

قدرت تشکیل بیوفیلیم	محاسبه میزان cut off	(حداکثر جذب OD) نتایج میانگین
قوی	$OD > 4 \times OD_c$	$OD > 1.2$
متوسط	$2 \times OD_c < OD \leq 4 \times OD_c$	$0.7 < OD \leq 1.2$
ضعیف	$OD_c < OD \leq 2 \times OD_c$	$0.3 < OD \leq 0.6$
منفی	$OD < \text{cut off}$	$OD \leq 0.3$



شکل ۱- چگونگی تفسیر نتایج تشکیل بیوفیلیم در جدایه‌ها به روش میکروتیتیرپلیت



استخراج DNA: يک تک کلني از جدايه‌ها به محيط کشت TSB حاوي ۱ درصد گلوکز تلقیح شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. يک ميلي‌لیتر از اين محيط کشت برای استخراج DNA با استفاده از کيت استخراج DNA QIAamp (Qiagen، آلمان)، طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. DNA استخراج شده پس از ارزیابی کیفی روی ژل آگارز ۱.۵ درصد (ساخت شرکت SinaClon، ايران) و ارزیابی کمی توسط اندازه‌گیری جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر و محاسبه نسبت جذب نوری ۲۶۰/۲۸۰ برای تعیین خلوص (نسبت جذب نوری ۲۶۰/۲۸۰ در طیف ۱.۸ تا ۲ نشان دهنده خلوص DNA است) به عنوان DNA الگو برای انجام آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR): تکثیر ژن‌هاي PSM α و β PSM در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر حاوي بافر ۲.۵ میکرولیتر بافر PCR 1X، ۰.۸ میکرولیتر $MgCl_2$ ، ۰.۵ میکرولیتر dNTP، يک میکرولیتر از هر پرایمر، ۰.۳ میکرولیتر از آنزیم Taq پلی‌مراز (ساخت شرکت SinaClon

، ايران)، ۱۶.۹ میکرولیتر آب مقطر استريل و ۲ میکرولیتر DNA انجام شد. تکثیر در دستگاه ترموسایکلر (ساخت شرکت اپندورف آلمان) به صورت زیر انجام شد: واسرشت اولیه (۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه)، به‌دنبال آن يک الگوی سه مرحله‌ای از واسرشت (۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانيه)، اتصال (۵۸ درجه به مدت ۳۰ ثانيه) و گسترش (۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه) در مجموع ۳۵ چرخه انجام شد. يک گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. توالی آغازگرهاي مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده است. محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱.۵ درصد در بافر تریس-بورات اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (TBE) الکتروفورز شده و با رنگ DNA safe stain (ساخت شرکت SinaClon، ايران) رنگ‌آمیزی شدند. از لدر 100 bp Plus (ساخت شرکت SinaClon، ايران) استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و با استفاده از آزمون مجذور کای مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقدار p کمتر از ۰/۰۵ (p < 0/05) از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

جدول ۲- توالی آغازگرهاي مورد استفاده در اين تحقيق

Name	Sequence (5 to 3)	Product Size (bp)	Reference
PSM α (F)	CTTTCACATGGGTATCATTGCAGG	266	(10)
PSM α (R)	CAATAGCCATCGTTTTGTCTCTCT		
PSM β (F)	TAATAATGACGGCGCAAATTAGG	238	(10)
PSM β (R)	GCAACGATGTCTACGATACTTGTGC		

یافته‌ها

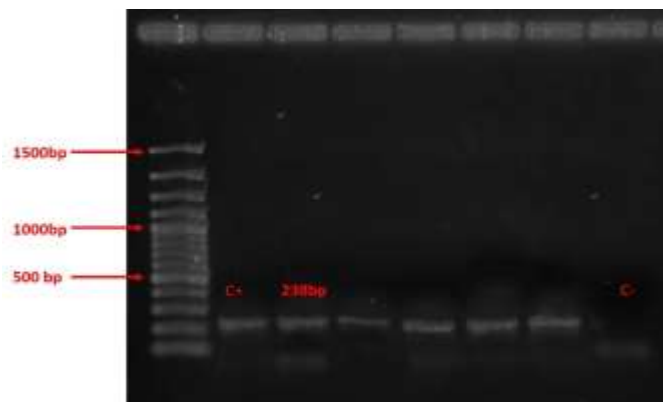
بیوفيلم با استفاده از روش میکروتیتیر پلیت مشخص شد که ۳۰ جدایه (۵۰ درصد) دارای فعالیت چسبندگی، ۱۷ جدایه (۲۸.۳ درصد) دارای چسبندگی ضعیف و ۱۳ جدایه (۲۱.۷ درصد)

در مجموع ۶۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس از نمونه‌هاي باليني مختلف جدا شده و با استفاده از آزمایشات میکروب شناسی و بیوشیمیایی تعیین هویت شدند. در مورد تولید



PCR مشخص شد که شیوع ژن‌های α PSM و β PSM در جدایه‌های واجد بیوفیلیم به ترتیب ۸۰ درصد و ۹۱/۷ درصد بود، در حالی که در جدایه‌های فاقد بیوفیلیم شیوع این ژن‌ها به ترتیب ۱/۷ درصد و ۱۳/۶ درصد بود. از نظر آماری ارتباط معنی داری بین حضور بیوفیلیم و ژن‌های PSM وجود داشت ($p = ۰/۰۳۷$).

درصد) فاقد چسبندگی بودند. بنابراین ۴۷ جدایه (۷۸.۳ درصد) از نظر وجود بیوفیلیم مثبت تشخیص داده شدند. پس از انجام PCR روی DNA های استخراج شده‌ای که از نظر کمی و کیفی در حد مطلوبی بودند، محصولات PCR روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد برده شده و باندهای مربوط به تکثیر ژن‌های α PSM و β PSM به ترتیب با اندازه‌های ۲۶۶ bp و ۲۳۸ bp ظاهر شدند. بر اساس نتایج به دست آمده از



شکل ۳ - محصول ۲۳۸ bp ژن β PSM روی ژل آگاروز ۱.۵ درصد



شکل ۲ - محصول ۲۶۶ bp ژن α PSM روی ژل آگاروز ۱.۵ درصد

تشکیل بیوفیلیم آن به ویژه در نمونه‌های بالینی بسیار حائز اهمیت است. در مطالعه حاضر از ۶۰ جدایه مورد بررسی، ۷۸/۳ درصد (۴۷ جدایه) از جدایه‌ها قادر به تشکیل بیوفیلیم بودند. نوریخش و ممتاز (۲۰۱۶) نیز گزارش کردند که ۸۶ درصد از سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی قادر به تشکیل بیوفیلیم بودند (۱۲). نتیجه پژوهش آریا و همکاران (۲۰۰۵) هم نشان داد که ۸۷ درصد (۵۲ سویه) از سویه‌های جدا شده از کشت خون از نظر تولید بیوفیلیم مثبت بودند (۱۳)؛ بنابراین درصد گزارش شده فراوانی جدایه‌های تشکیل دهنده بیوفیلیم توسط این

بحث

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهمترین باکتری‌هایی است که با تولید بیوفیلیم، توانایی چسبیدن به سطوح خارجی و انتقال به بیماران را دارد. به علاوه تشکیل بیوفیلیم یک عامل کلیدی در بقا و مقاومت ضد میکروبی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به خصوص در بیمارستان‌هاست و امروزه خطر انتشار آن‌ها، ایجاد عفونت و انتقال این مقاومت به سایر سویه‌های بیمارستانی نگرانی‌های زیادی را ایجاد کرده است (۱)؛ بنابراین بررسی شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* تشکیل دهنده بیوفیلیم و شناسایی ژن‌های دخیل در



محققین با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. در مطالعه Cafiso و همکاران (۲۰۰۲) ۵۷/۵ درصد از سویه‌های جدا شده از تجهیزات پزشکی بیماران تولید کننده بیوفیلیم بودند (۱۴). در مطالعه Croes و همکاران (۲۰۰۹) تولید بیوفیلیم در بین سویه‌های بیمارستانی ۷۱/۴ درصد گزارش شد (۱۵). در مطالعه ناموار و همکاران (۲۰۱۳) خوشه ژن چسبندگی بین سلولی (ica) در جدایه‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی شد و نتایج آن‌ها در ارزیابی کمی بیوفیلیم نشان داد که ۵۸ درصد از جدایه‌ها بیوفیلیم تولید می‌کردند در حالی که ۴۲ درصد جدایه‌ها این خاصیت را نشان نمی‌دادند (۱۶). با توجه به نتایج مطالعات از نقاط مختلف جهان به نظر می‌رسد بیش از ۵۰ درصد جدایه‌های بیمارستانی استافیلوکوکوس اورئوس توانایی تولید بیوفیلیم را دارند که بیانگر شیوع بالای این سویه‌ها در محیط بیمارستان و نمونه‌های بالینی است.

مشخص شده که تولید بیوفیلیم در باکتری‌ها چند فاکتوری بوده و توسط عوامل ژنتیکی مختلفی کنترل می‌شود؛ در نتیجه بررسی و شناسایی کامل ژن‌های دخیل در فرآیند تشکیل بیوفیلیم به منظور کنترل عفونت و انتشار سویه‌های واجد بیوفیلیم ضروری به نظر می‌رسد. PSM ها مسئول ساختار بیوفیلیم هستند (۱۷-۱۸). همان طور که اعتقاد بر این است که تجمعات باکتریایی شبه بیوفیلیم روی سطوح اپیتلیال می‌توانند وجود داشته باشند، به احتمال PSM ها نیز در فیزیولوژی حالت کومنسال استافیلوکوک‌ها نقش دارند؛ با این حال، به طور کلی هنوز اطلاعات دقیقی درباره نقش PSM ها وجود ندارد. به تازگی گزارشی نشان داده که PSM ها می‌توانند برای تشکیل ساختارهای فیبریلی آمیلوئیدی که به ثبات بیوفیلیم استافیلوکوکوس اورئوس در شرایط آزمایشگاه کمک می‌کنند پلیمریزه شوند (۱۹). جالب

اینجاست که ساختارهای آمیلوئیدی جدا شده از کشت استافیلوکوکوس اورئوس فقط از PSM های تغییر شکل یافته تشکیل می‌شوند؛ با این حال، تحقیقات بیشتری لازم است تا وجود این ساختارها در داخل بدن و نقش آنها در بیماری‌های زایی استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس پیدرمیدیس در طی عفونت بیوفیلیمی مشخص گردد. در این مطالعه، شیوع ژن‌های α PSM و β PSM در جدایه‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس تولید کننده بیوفیلیم مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده شیوع ژن‌های α PSM و β PSM در جدایه‌های بالینی واجد بیوفیلیم به ترتیب ۸۰ درصد و ۹۱/۷ درصد بود در حالی که در جدایه‌های فاقد بیوفیلیم شیوع این ژن‌ها به ترتیب ۱/۷ درصد و ۱۳/۶ درصد بود؛ بنابراین به نظر می‌رسد این ژن‌ها در تشکیل بیوفیلیم نقش زیادی داشته باشند البته همانطور که پیشتر گفته شد تحقیقات تکمیلی در این خصوص لازم است. از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به بررسی نمونه‌های بالینی بیماران بستری فقط در یک بیمارستان و تعداد کم جدایه‌ها اشاره کرد که می‌تواند اعتبار خارجی نتایج بدست آمده را تحت تأثیر قرار دهد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، به احتمال ژن‌های α PSM و β PSM در تشکیل بیوفیلیم جدایه‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس نقش زیادی دارند اما با توجه به این که PSM ها به تازگی مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند، اطلاعات اندکی در خصوص شیوع و عملکرد آن‌ها وجود دارد. پیشنهاد می‌گردد در مطالعات بعدی نمونه‌های بالینی و جدایه‌های بیشتری مورد مطالعه قرار گرفته تا شیوع ژن‌های α PSM و β PSM در جدایه‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس تولید کننده بیوفیلیم دقیق‌تر تعیین گردد.



تشکر و قدردانی

در کار آزمایشگاه قدردانی می‌گردد. این طرح توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گلستان با شماره IR.GOUMS.REC.1397.116 تصویب شده است.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله ابراز می‌دارند که تضاد منافی وجود ندارد.

این پروژه با حمایت مالی شماره ۱۱۰۱۵۲ مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی دانشگاه علوم پزشکی گلستان، انجام شده‌است. بدین وسیله از همکاران عزیز در بخش میکروبی‌شناسی دانشکده پزشکی گرگان به‌خاطر مشارکت

References

1. Secchi C, Antunes ALS, Perez LRR, Cantarelli VV, d'Azevedo PA. Identification and detection of methicillin resistance in non-epidermidis coagulase-negative staphylococci. Brazilian Journal of Infectious Diseases. 2008; 12(4):316-20.
2. DeLeo FR, Otto M, Kreiswirth BN, Chambers HF. Community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus. The Lancet. 2010; 375(9725):1557-68.
3. DeLeo FR, Otto M. An antidote for Staphylococcus aureus pneumonia? Journal of Experimental Medicine. 2008; 205(2):271-4.
4. Piette A, Verschraegen G. Role of coagulase-negative staphylococci in human disease. Veterinary microbiology. 2009; 134(1-2):45-54.
5. Bryan J. Berube, Georgia R. Sampedro, Michael Otto, Juliane Bubeck Wardenburg. The $\text{psm}\alpha$ Locus Regulates Production of Staphylococcus aureus Alpha-Toxin during Infection. Infect Immun. 2014; 82(8):3350-8.
6. Shu Li, Hui Huang, Xiancai Rao, Wei Chen, Zhengqing Wang, Xiaomei Hu. Phenol-soluble modulins: novel virulence-associated peptides of staphylococci. Future Microbiology, 2014; 9, (2).
7. Gordon Y.C. Cheung, Hwang-Soo Joo, Som S. Chatterjee & Michael Otto. Phenol-soluble modulins – critical determinants of staphylococcal virulence. FEMS Microbiol Rev 2014; 38: 698–719.
8. Rautenberg M, Joo H-S, Otto M, Peschel A. Neutrophil responses to staphylococcal pathogens and commensals via the formyl peptide receptor 2 relates to phenol-soluble modulin release and virulence. The FASEB Journal. 2011; 25(4):1254-63.
9. Cheung GY, Rigby K, Wang R, Queck SY, Braughton KR, Whitney AR, et al. Staphylococcus epidermidis strategies to avoid killing by human neutrophils. PLoS pathogens. 2010; 6(10):e1001133.
10. Fursova K, Shchannikova M, Loskutova I, Shepelyakovskaya A, Laman A, Boutanaev A, et al. Exotoxin diversity of Staphylococcus aureus isolated from milk of cows with subclinical mastitis in Central Russia. Journal of dairy science. 2018; 101(5):4325-31.
11. Wallecha A, Oreh H, van der Woude MW. Control of Gene Expression at a Bacterial Leader RNA, the agn43 Gene Encoding Outer Membrane Protein Ag43 of Escherichia coli. Journal of bacteriology. 2014; 196(15):2728-35.
12. Nourbakhsh F, Momtaz H. [Evaluation of phenotypic and genotypic biofilm formation in Staphylococcus aureus isolates isolated from hospital infections in Shahrekord, 2015]. Rahavarde Danesh. 2016; 19(4):69–79. Persian.
13. Arya M, Shergill IS, Williamson M, Gommersall L, Arya N, Patel HR. Basic principles of real-time quantitative PCR. Expert review of molecular diagnostics. 2005; 5(2):209-19.



14. Cafiso V, Bertuccio T, Santagati M, Demelio V, Spina D, Nicoletti G, et al. agr-Genotyping and transcriptional analysis of biofilm-producing *Staphylococcus aureus*. FEMS Immunology & Medical Microbiology. 2007; 51(1):220-7.
15. Croes S, Deurenberg RH, Boumans M-LL, Beisser PS, Neef C, Stobberingh EE. *Staphylococcus aureus* biofilm formation at the physiologic glucose concentration depends on the *S. aureus* lineage. BMC microbiology. 2009; 9(1):229.
16. Namvar AE, Asghari B, Ezzatifar F, Azizi G, Lari AR. Detection of the intercellular adhesion gene cluster (ica) in clinical *Staphylococcus aureus* isolates. GMS hygiene and infection control. 2013; 8(1).
17. Wang R, Khan BA, Cheung GY, Bach TH, Jameson-Lee M, Kong KF, Queck SY & Otto M. *Staphylococcus epidermidis* surfactant peptides promote biofilm maturation and dissemination of biofilm-associated infection in mice. J Clin Invest. 2011; 121: 238–248.
18. Periasamy S, Joo H-S, Duong AC, Bach T-HL, Tan VY, Chatterjee SS, et al. How *Staphylococcus aureus* biofilms develop their characteristic structure. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2012; 109(4):1281-6.
19. Schwartz K, Syed AK, Stephenson RE, Rickard AH & Boles BR Functional amyloids composed of phenol soluble modulins stabilize *Staphylococcus aureus* biofilms. PLoS Pathog 2012; 8: e1002744.2.



Prevalence of *PSM α* and *PSM β* genes in biofilm-producing *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples

Ania Ahani Azari¹, Ali Asghar Ayatollahi², Abolfazl Khandan Del^{3*}

1- Department of Microbiology, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran.

2- Medical Laboratory Sciences Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.

3- Department of Microbiology, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran.

4- Infectious Diseases Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.

Original Article

Received: 7 Jul 2020

Accepted: 28 Sep 2020

***Corresponding Author:**

Abolfazl Khandan Del, PhD
of Microbiology, Infectious
Diseases Research Center,
Golestan University of
Medical Sciences, Gorgan,
Iran

TEL: 989112750841

Email:

ab.khandandel@gmail.com

ABSTRACT

Introduction

Staphylococcus aureus is one of the common causes of community- and hospital-acquired infections can be resistant to antibiotics and host immune systems through biofilm formation. One of the virulence factors of this organism is phenol-soluble modulus (PSMs) which are involved in biofilm formation. In this study, the prevalence of *PSM α* and *PSM β* genes among biofilm-producing *S. aureus* isolated from clinical samples was investigated.

Materials and Methods

The clinical samples were collected and examined for *S. aureus* using microbiological and conventional biochemical tests. Then, the presence of biofilm in the isolates was detected by a microtiter plate. Using PCR, the prevalence of *PSM α* and *PSM β* genes was determined.

Results

Out of the 60 isolates, the 47 isolates (78.3%) were positive for biofilm. Based on the PCR, the prevalence of *PSM α* and *PSM β* genes in the biofilm-producing isolates was 80% and 91.7%, respectively, while in the isolates without biofilm, the prevalence of these genes was 1.7% and 13.6%, respectively.

Conclusion

In this study, the *PSM α* and *PSM β* genes in the *S. aureus* isolates had a high prevalence. Therefore, it seemed to be a relationship between the frequency of these genes and the production of biofilms in this organism.

Keywords

Biofilm, *Staphylococcus aureus*, Prevalence, *PSM* gene

► Please cite this article as: Ahani Azari A, Ayatollahi AA, Khandan Del A. Prevalence of *PSM α* and *PSM β* genes in biofilm-producing *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples. J Neyshabur Univ Med Sci 2021;9(1):85-93.