



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- خارجی ترین پروتئین در اغلب آرکی ها و باکتری ها است که با مهار ورود آنتی بیوتیک ها منجر به افزایش بیماری زایی در باکتری ها می گردد. با توجه به نقش دست پرسنل و سطوح بیمارستان در ایجاد عفونت های بیمارستانی، آلودگی منابع مزبور با سویه های باسیلوس سرئوس واجد لایه S- و بتا-لاکتاماز منجر به گسترش عفونت های بیمارستانی مقاوم در برابر آنتی بیوتیک ها می گردد. هدف از این پژوهش، بررسی فراوانی لایه S- و بتا-لاکتاماز و هم چنین نقش لایه S- در مهار ورود آنتی بیوتیک ها در سویه های 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 سال های ۱۳۸۶-۱۳۸۴ انجام گرفت. برای آماده سازی نمونه ها از کشت ۱۶ ساعته باکتری روی محیط TSA (Tryptone Soya Agar) استفاده شد و سپس به وسیله 10X SDS-PAGE الکتروفورز شدند. آنتی بیوگرام نمونه ها بر اساس روش کربی بائر و تولید بتا-لاکتاماز بر اساس روش اسیدومتريک 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 سویه های فاقد لایه S- در مقایسه با سویه های واجد آن حساسیت بیشتری در برابر آنتی بیوتیک ها دارند. همچنین تمامی سویه های دارای لایه S-، مولد بتا-لاکتاماز بودند.

نتیجه گیری: نتایج این پژوهش نشان دهنده شیوع سویه های باسیلوس سرئوس واجد لایه S- و بتا-لاکتاماز در بیمارستان می باشد که این امر می تواند منجر به گسترش عفونت های بیمارستانی مقاوم در برابر آنتی بیوتیک گردد و بنابراین ضرورت انجام تدابیر مناسب به منظور کاهش انتقال عوامل بیماری زا و مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری های بیماری زا وجود دارد.

واژگان کلیدی: لایه S-، باسیلوس سرئوس، مقاومت آنتی بیوتیکی، بتا-لاکتاماز، عفونت های بیمارستانی

دریافت مقاله: خرداد ۸۸ پذیرش برای چاپ: شهریور ۸۸

مقدمه

از جمله عوامل موثر در عفونت های بیمارستانی به ویژه در افراد مبتلا به نقص در سیستم ایمنی محسوب می گردد. عفونت های بیمارستانی ناشی از باسیلوس سرئوس در دو گروه گاستروانتریت و عفونت های غیرگاستروانتریتی طبقه بندی می شوند. عفونت های

باسیلوس سرئوس امروزه یکی از باکتری های بیماری زای انسانی و

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

غربالگری و نفوذپذیری انتخابی از ورود برخی مولکولها مانند آنتی بیوتیکها و آنزیمهای مضر به داخل باکتری ممانعت به عمل می آورد. فقدان لایه-S در باکتریهای بیماریزا منجر به کاهش یا فقدان توان بیماریزایی باکتری می گردد. از مهم ترین باکتریهای بیماریزای واجد لایه-S می توان به جنسهای ریکتسیا، تریپونما، باکتریوئیدس، کلامیدیا، کلاستریدیوم، کمپیلوباکتر و گونه های بیماریزای خانواده باسیلوسهای واجد لایه-S مانند باسیلوس آنتراسیس، باسیلوس تورنجینسیس و باسیلوس سرئوس اشاره نمود (۹-۱۵).

میکروارگانسیمها به تعداد زیادی در اغلب محیطها یافت می شوند اما حضور آنها در دست پرسنل و سطوح بیمارستان از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشد. سطوح بیمارستان و دست پرسنل منابع بالقوه ای در حفظ، نگهداری، انتقال و انتشار باکتریها در بیمارستان مطرح می شوند و ارتباط محسوس با ایجاد عفونت های بیمارستانی دارند، به عبارت دیگر کنترل باکتریها در سطوح بیمارستانی و دست پرسنل منجر به کنترل و حتی توقف عفونت های بیمارستانی می گردد (۹ و ۱۶).

در محیط بیمارستان انواع متعددی از باکتریهای بیماریزا حضور دارند اما خانواده باسیلوسها به واسطه تولید اسپور از انتشار گسترده ای در بیمارستان برخوردار می باشند. انتشار سویه های باسیلوس سرئوس مجهز به عوامل و بیروانس در سطوح بیمارستان و دست پرسنل در نهایت منجر به گسترش عفونت های بیمارستانی مقاوم در برابر آنتی بیوتیکها می گردد، نظر به اهمیت باسیلوس سرئوس به عنوان یکی از باکتریهای عامل عفونت بیمارستانی این پژوهش با هدف بررسی نقش و اهمیت عوامل و بیروانس لایه-S و بتا-لاکتاماز در مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های 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 نمونه مورد نیاز این پژوهش با استفاده از فرمول برآورد حجم نمونه حداقل ۱۹۲ نمونه محاسبه

غیرگاستروانتریتی شامل عفونت هایی است که توسط وسایل آلوده پزشکی (وسایل آلوده جراحی، دستکش، باند و...) و یا توسط پرسنل بیمارستان در بیماران بستری منتقل می شوند (۱). باکتری می، اندوکاردیت، عفونت های چشمی، عفونت ماهیچه های اسکلتی و عفونت در میزبان حساس مهم ترین عفونت های غیرگاستروانتریتی باسیلوس سرئوس هستند (۲ و ۳). شیوع گاستروانتریت های باسیلوسی در پرسنل مراکز درمانی قابل ملاحظه می باشد. گاستروانتریت باسیلوسی به دنبال مصرف مرغ، برنج سرخ کرده و گوشت بخارپز آلوده به باسیلوس رخ می دهد. سایر عفونت های بیمارستانی باسیلوسی به دنبال انتشار گونه های باسیلوس از منابع آلوده از جمله دستگاه های همودیالیز، پرسنل بیمارستان، دستگاه های تهویه، دستکش و باندهای جراحی به وجود می آید (۷-۴). باسیلوس سرئوس علاوه بر توانایی تولید توکسین ایجاد کننده گاستروانتریت، چندین عامل بیماریزای دیگر نیز مانند همولیزین، کلاژناز، پروتئاز، آگزوتوکسین، بتا-لاکتاماز و لایه-S تولید می کند که در ایجاد عفونت های غیرگاستروانتریتی نقش مهمی را به عهده دارند (۷-۴).

هر عاملی که باعث مهار یا غیرفعال سازی ورود آنتی بیوتیکها به باکتری گردد، در نهایت باعث مقاومت آنتی بیوتیکی و شکست درمان می شود. ساختارهای سطحی مهم ترین عامل و بیروانس در باکتریها محسوب می گردند. لایه-S و بتا-لاکتاماز با مهار ورود برخی از آنتی بیوتیکها و غیرفعال کردن آنتی بیوتیکهای خانواده بتا-لاکتام، منجر به افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتریها می گردند. بدلیل طیف اثر گسترده، سمیت انتخابی آنتی بیوتیکهای خانواده بتا-لاکتام جایگاه ویژه ای را در درمان بیماریهای عفونی دارند. متداول ترین و با اهمیت ترین روش مقاومت در برابر آنتی بیوتیکها، تولید آنزیمهای غیر فعال کننده آنتی بیوتیک مانند آنزیم بتا-لاکتاماز می باشد (۸ و ۹).

لایه-S خارجی ترین ساختار سطحی در پروکاریوتها محسوب می گردد که موجب پایداری و استحکام دیواره سلولی، شکل دهی به سلول، حفاظت باکتری در برابر عوامل محیطی می گردد. لایه-S عملکردهای گوناگونی دارد که به ویژه از مهم ترین آنها می توان به بیماریزا بودن آن اشاره کرد (۱۳-۹). لایه-S با خاصیت

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 ۰/۶ OD (Optical Density) (۴۵۰nm) رسانده شد و مجدداً سانتریفوژ و رسوب حاصله در ۵۰۰ میکرولیتر HCL-SDS-Tris ۱٪ (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 دمای ۱۰۰ 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 (Clinical and Laboratory Standard Institute) CLSI انجام گرفت (۲۴ و ۹). برای این منظور از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی پنی‌سیلین، وانکومایسین، تتراسایکلین و اریترومایسین (ساخت شرکت پادتن طب) استفاده گردید.

بررسی حضور بتا-لاکتاماز در نمونه‌ها با روش اسیدومتريک انجام گرفت. در این روش باکتری به محلولی حاوی پنی‌سیلین G و قرمز فنل (ساخت شرکت Merck) اضافه گردید. تغییر رنگ محلول از بنفش به زرد نشان دهنده شکستن پنی‌سیلین به پنی‌سیلوتیک اسید، مثبت شدن آزمون است (۲۷ و ۹-۲۵). سپس یافته‌های پژوهش با استفاده از نسخه چهاردهم نرم‌افزار SPSS و آمار توصیفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

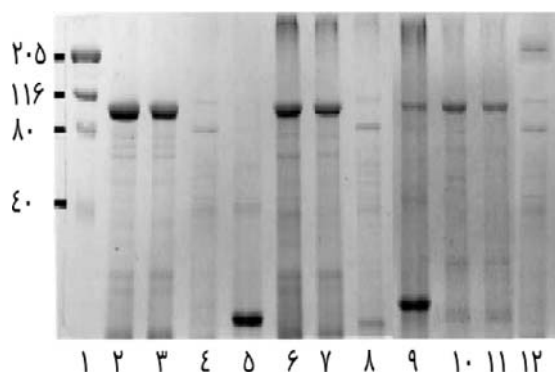
از مجموع ۲۷۴ نمونه مورد بررسی، باسیلوس سرنوس فراوانی ۹/۴۹٪ را داشت که ۶/۷٪ آن مربوط به سطوح بیمارستانی و ۱۶/۲۵٪ مربوط به دست پرسنل بیمارستان بود. بر اساس نتایج SDS-PAGE، ۴۶/۲٪ از سویه‌های مورد بررسی واجد لایه-S و ۵۳/۸٪ فاقد توانایی تولید لایه-S بودند. به این ترتیب که ۸۴/۶٪ از دست پرسنل بیمارستان و ۷/۷٪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

شد. با توجه به گستردگی نمونه‌های محیطی و وجود سطوح پرتماس و کم‌تماس و هم‌چنین به دلیل بالا بردن دقت در محاسبات آماری ۱۹۴ نمونه 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-لاکتاماز و الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی 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 برات (TSB) (ساخت شرکت Merck) استفاده شد (۹، ۱۶ و ۱۷).

پس از انتقال نمونه‌های جمع آوری شده به آزمایشگاه در شرایط استریل، با استفاده از لوپ، هم‌زمان هر نمونه روی محیط‌های بلاداگار و ائوزین متیلن بلو (EMB) (ساخت شرکت Merck) به روش خطی کشت داده شد (۹ و ۱۸). 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 بلاداگار و EMB جمع‌آوری و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری گردید (۹، ۱۶ و ۱۹).

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

برای شناسایی لایه-S نمونه‌ها در محیط تریپتون سویا آگار (TSA) غنی شده با ۰/۶gr٪ عصاره 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 میله‌شیشه‌ای سرکج انجام گرفت. برای این



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

سرئوس در دست پرسنل بیمارستان می‌باشد (۲۸ و ۱۷). در ارتباط با لایه-S تاکنون تحقیقی در ایران انجام نگرفته است و این پژوهش اولین بررسی در این زمینه می‌باشد، در پژوهش‌های Kotiranta در سال‌های ۱۹۹۸-۱۹۹۹، بر روی چهار سویه باسیلوس سرئوس (۲ سویه استاندارد و ۲ سویه بالینی) نشان داده شد که سویه‌های جداسازی شده از نمونه‌های بالینی واجد لایه-S و سویه‌های استاندارد فاقد آن می‌باشند (۲۰ و ۲۱).

نتایج حاصل از این پژوهش و سایر مطالعات، نشان دهنده‌ی فراوانی بیشتر لایه-S در باکتری‌های جداسازی شده از شرایط زیستی در مقایسه با شرایط غیر زیستی می‌باشد. با توجه به این‌که باسیلوس سرئوس یک باکتری بیماری‌زای انسانی است و لایه-S یک ساختار بیماری‌زا محسوب می‌گردد، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که سویه‌های باسیلوس سرئوس در صورت قرار گرفتن در شرایط زیستی با تولید لایه-S خود را از نفوذ آنتی‌بیوتیک و آنزیم‌های موجود در بدن انسان محافظت می‌کنند (۹، ۲۰، ۲۱ و ۲۳).

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

لایه-S بودند (شکل ۱). نتایج اسیدومتريک نشان داد که تمامی سویه‌های واجد لایه-S، توانایی تولید بتا-لاکتاماز را نیز دارند. نتایج حاصل از فراوانی لایه-S و بتا-لاکتاماز 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 لایه-S و بتا-لاکتاماز بودند. اما تمامی سویه‌های واجد لایه-S، هم‌زمان بتا-لاکتاماز را نیز داشتند. از طرف دیگر ۹۲/۲٪ از سویه‌های فاقد لایه-S، آنزیم بتا-لاکتاماز را تولید می‌کردند که این امر نشانگر شیوع گسترده‌تر بتا-لاکتاماز در مقایسه با لایه-S در سویه‌های باسیلوس سرئوس می‌باشد.

نتایج آنتی‌بیوگرام نشان داد که، به ترتیب ۰٪ از سویه‌های واجد لایه-S و ۷/۷۰٪ از سویه‌های فاقد لایه-S در برابر پنی‌سیلین، ۹۰٪ از سویه‌های واجد لایه-S و ۹۳٪ از سویه‌های فاقد لایه-S در برابر وانکومايسين، ۷۲٪ از سویه‌های واجد لایه-S و ۸۵٪ از سویه‌های فاقد لایه-S در برابر اریترومايسين و ۹۰٪ از سویه‌های واجد لایه-S و ۹۲٪ از سویه‌های فاقد لایه-S در برابر تتراسایکلین حساس بودند.

نتایج حاصل از بررسی و مقایسه هم‌زمان تولید لایه-S و بتا-لاکتاماز در سویه‌های باسیلوس سرئوس مشخص شد که تمامی سویه‌های واجد لایه-S (۱۰۰٪)، بتا-لاکتاماز 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 (۱، ۲ و ۹). 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

افرادى که در بیمارستان تردد دارند به ویژه در بخش‌های عفونى ۳- به کارگیری دست شویه‌ها و مواد ضد عفونى کننده استاندارد و کارآمد برای ضد عفونى کردن دست پرسنل بیمارستان ۴- ارزیابى عوامل ضد میکروبیى جدید ۵- جداسازى بیماران بسترى شده در بیمارستان ۶- تجویز مناسب و به موقع آنتى بیوتیک‌ها و ۶- کنترل عفونت در بیمارستان‌ها (۳۶-۴۲). هم چنین پیشنهاد مى‌گردد در درمان عفوت‌های ناشى از باسیلوس سرئوس، آنتى بیوتیک‌های وانکومايسين، تتراسايکلين و اريترومايسن، جایگزین پنی سیلین گردد.

تشکر و قدردانى

نویسندگان این مقاله از مدیریت بیمارستان فوق تخصصى الزهراء، مدیریت آزمایشگاه‌های تحقیقاتى دانشکده علوم دانشگاه اصفهان، مدیریت مجلات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، کمیته کنترل عفونت بیمارستان الزهراء، خانم دکتر روحا کسرى کرمانشاهی، خانم دکتر اشرف السادات نوحى، آقای دکتر حمید زرکش اصفهانی، آقای دکتر اردشیر طالبی، آقای دکتر مهرداد معمارزاده، آقای دکتر کامیار مصطفوی زاده، آقای سینا مباحثی زاده، آقای فریبرز کیانپور، آقای محسن حسینی بالام، خانم کبری مقصودی، آقای مهندس علی مهربانی که در انجام این پژوهش همکاری صمیمانه ای داشته کمال امتنان را دارند.

فراوانى و انتشار قابل ملاحظه باکترى‌های مقاوم در برابر آنتى بیوتیک‌ها در محیط حساس بیمارستان، یکى از مهم‌ترین دلایل افزایش شیوع عفونت‌های بیمارستانى مقاوم در برابر دارو مى‌باشد (۲۹-۳۵).

نتیجه گیرى

با توجه به این‌که باسیلوس سرئوس یکى از باکترى‌های ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانى به ویژه در افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنى است و به دلیل گستردگى انتشار اسپور آن در محیط بیمارستان و مقاومت آن‌ها به بسپارى از دست شویه‌های مصرفى و مواد ضد عفونى کننده سطوح در بیمارستان‌ها باشند، شیوع سويه‌های مقاوم در برابر آنتى بیوتیک‌ها در بیمارستان مى‌تواند منجر به افزایش فراوانى عفونت‌های باسیلوسى مقاوم در برابر آنتى بیوتیک‌ها گردد. از این رو پیشنهاد مى‌گردد در راستای کنترل تراکم باکترى‌ها و کنترل ایجاد سويه‌های مقاوم در برابر آنتى بیوتیک‌ها در بیمارستان‌ها، موارد زیر مورد توجه قرار گیرد: ۱- اعمال محدودیت برای تردهای غیر ضرورى در بیمارستان که در نتیجه این امر از یک سو انتقال باکترى‌ها از محیط خارج به داخل بیمارستان کاهش مى‌یابد و از دیگر سو انتقال باکترى‌های مقاوم از بیمارستان به محیط خارج و در نهایت به جامعه کنترل مى‌گردد ۲- استفاده از وسایل حفاظت فردى مانند جوراب، کفش، ماسک و لباس‌های یک بار مصرف برای

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 fulminant sepsis and hemolysis in two patients with acute 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 immunocompromised 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-surgical treatment of brain abscess and necrotizing fasciitis caused by *Bacillus cereus*. Intern Med-II, 2002; 671-73.

8. Paterson DL, Bonomo Ra. Extended spectrum β -lactamases: A Clinical Update. *Clin 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, Hirofujii 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. Schulster 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 Frequency 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 williams & 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 Esfahani 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 Esfahani 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, Gutierrez 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 -lactamase. 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. *Clin 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 nano-structured 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 Esfahani 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 Esfahani 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 edition.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 infections.*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. *Infect 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.



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

Shilla Jalalpoor¹, Hamid Abousaidi²

¹Shahreza Branch, Young Researchers Club, Islamic Azad University, Shahreza, Iran

²Department 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