تحقیقی

دارای رتبه علمی – پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

مقایسه میزان تشکیل بیوفیلم با برخی از شاخصه های فنوتیپی و ژنوتیپی *استافیلوکوکوس اورئوس*

میثم حسن نژاد بی بالان
دانشجوی دکتری باکتری شناسی، گروه میکروبشناسی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

ناعمه جاوید
کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبشناسی،دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

مطهره صامت
کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبشناسی،دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

فاطمه شاکری
کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبشناسی،دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

عزت الله قائمی
استاد باکتری شناسی، گروه میکروبشناسی،دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

نویسنده مسئول: عزت الله قائمی

پست الکترونیک:eghaemi@yahoo.com

تلفن:۰۹۱۲۲۸۳۵۶۰۱

آدرس: گروه میکروب شناسی،دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

دریافت:۹۲/۶/۲
ویرایش پایانی:۹۲/۹/۱۴
پذیرش:۹۲/۹/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: *بیوفیلم یک جمعیت میکروبی پیچیده و به هم چسبیده است که توسط یک ماده زمینه ای پلیمری خارج سلولی احاطه شده است. در این مطالعه فراوانی تولید بیوفیلم در جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس و ارتباط بین شدت تشکیل بیوفیلم با برخی از شاخص های فنوتیپی و ژنوتیپی استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی قرار گرفت.*

روش بررسی: *تعداد ۱۵۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از شهر گرگان برای مطالعه انتخاب گردید. برای ارزیابی تشکیل بیوفیلم از روش microtiter plates assay استفاده شد میزان تشکیل بیوفیلم در جدایه ها ثبت و پراکندگی آن بر حسب نوع ژن agr و مقاومت / حساسیت به آنتی بیوتیک ها با تست آماری x^2ارزیابی شد.*

یافته ها: *در مجموع تعداد ۸۴ جدایه (۵۶٪) قادر به تشکیل بیوفیلم بودند. جدایه های متعلق به agr group I توانایی بیشتری در تشکیل بیوفیلم قوی داشتند. در بین جدایه های بیماران ، جدایه های جداشده از زخم وادرار(هر دو مورد با ۷۵٪) بیشترین توانایی را در تشکیل بیوفیلم از خود نشان دادند. علاوه بر این، جدایه های مقاوم به متی سیلین توانایی بیشتری در تشکیل بیوفیلم از خود نشان دادند.*

نتیجه گیری: *توانایی تشکیل بیوفیلم در جدایه های مقاوم به متی سیلین دارای فراوانی بیشتری بود. با توجه به اهمیت و مشکلات درمانی جدایه های MRSA و به ویژه CA-MRSA توجه به حذف یا کنترل بیوفیلم در کنار درمان آنتی بیوتیکی ضروری است.*

واژه های کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس، بیوفیلم، Microtiter plates assay، PCR*

آدرس مقاله:
حسن نژاد بی بالان م، جاوید ن، صامت م، شاکری ف، قائمی ع" مقایسه میزان تشکیل بیوفیلم با برخی از شاخصه های فنوتیپی و ژنوتیپی *استافیلوکوکوس اورئوس*" مجله علوم آزمایشگاهی، پاییز ۱۳۹۳، دوره هشتم(شماره۳):۱-۷

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از عوامل اصلی عفونت های کسب شده از اجتماع و بیمارستان است. این باکتری یکی از اعضای فلور میکروبی انسان است که قادر به تولید توکسین های متعددی از قبیل انتروتوکسین، پنتون والنتین، اگزفولیاتیوتوکسین می باشدکه مسئول طیف وسیعی از عفونت ها از قبیل مسمومیت غذایی، آبسه زیرجلدی، کورک، کفگیرک، سندرم فلسی شدن پوست، سندرم شوک سمی، سپسیس و پنومونی است(۱). یکی از عوامل مهم در افزایش قدرت بیماری زایی و مقاومت در برابر عوامل ضد میکروبی توانایی تشکیل بیوفیلم است. بیوفیلم یک جمعیت میکروبی پیچیده و به هم چسبیده است که توسط یک ماده زمینه ای پلیمری خارج سلولی که توسط خود میکروب تولید می شود احاطه شده است. بیوفیلم دارای ویژگی های کلینیکی آشکاری است و باکتری های موجود در بیوفیلم دارای مقاومت ذاتی به آنتی بیوتیک ها، ضدعفونی کننده ها و سیستم ایمنی میزبان هستند که این منجر به بروز مقاومت به درمان می شود(۲). بیش از ۸۰ درصد عفونت های مزمن باکتریایی ناشی از تشکیل بیوفیلم هاست. توانایی *استافیلوکوکوس اورئوس* برای اتصال به سطح و تشکیل بیوفیلم یک مرحله تعیین کننده از مزمن شدن بیماری است. این توانایی منجر به کلونیزاسیون باکتری روی سطوح خارجی از قبیل کاتتر وorthopedic implant و بافت های میزبان شده است که نتایج و آسیب های حاصل از این کلونیزاسیون را می توان در بیماری هایی مثل استئومیلیت و اندوکاردیت عفونی مشاهده کرد (۳،۴). در مواردی که باکتری قادر به تشکیل بیوفیلم باشد میزان بروز عفونت بیمارستانی پیچیده افزایش می یابد. گسترش شیوع تشکیل بیوفیلم بر روی وسایل و تجهیزات پزشکی وجود راهکارهای مناسب به منظور حذف اینگونه آلودگی ها را ضروری ساخته است. زیرا تشکیل بیوفیلم بر روی کاتترهای داخل عروقی مهم ترین علت باکتریمی اولیه در بیمارستان است. از طرفی بیوفیلم می تواند سبب افزایش مقاومت در برابرآنتی بیوتیک ها گردد. پیدایش جدایه های مقاوم به متی سیلین MRSA و نقش احتمالی آن در پیدایش بیوفیلم می تواند دارای اهمیت بالینی برای درمان عفونت های *استافیلوکوکی* باشد(۵). تشکیل بیوفیلم می تواند تحت تاثیر عوامل مختلف میزبانی و میکروبی باشد. در بسیاری از بیماری های انسانی ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* تشکیل بیوفیلم و هماهنگی در تولید عوامل بیماری زای دیگر از قبیل توکسین ها و همولیزین ها و بروز برخی از عوامل سطحی و چسبندگی به عهده سیستم agr است. این سیستم متشکل از دو جزء لکوس agr که رفتارش وابسته به تراکم سلول باکتری است(پدیده Quorum sensing) و ترشح پپتید خود القاگر(Auto inducer peptide) که به جمعیت باکتری این امکان را می دهد که به یک غلظت آستانه یا بحرانی برسد تشکیل شده است(۶،۷). در این مطالعه فراوانی تولید بیوفیلم در جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* تعیین و سپس بررسی هایی به منظور تعیین ارتباط بین شدت تشکیل بیوفیلم با برخی از شاخص های فنوتیپی و ژنوتیپی *استافیلوکوکوس اورئوس* از قبیل agr group و مقاومت و حساسیت به آنتی بیوتیک ها انجام گرفت.

روش بررسی

تعداد ۱۵۰ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* که بین سال های ۱۳۸۸تا۱۳۹۱ از بیماران، حاملین سالم شاغل در بیمارستان های آموزشی ونمونه های غذایی شهر گرگان جداسازی شده بود، برای مطالعه استفاده شد. در مطالعات قبلی، تمامی ۱۵۰ جدایه با استفاده از روش PCR و بر اساس پرایمرهای اختصاصی لکوس agr تیپ بندی شده بودند و مقاومت و حساسیت شان به متی سیلین بر حسب وجود ژن mecA ارزیابی شده بود و به منظور بررسی سایر آنتی بیوتیک ها از روش انتشار دیسک استفاده شد(۸). در این مطالعه برای ارزیابی تمامی جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* را به محیط کشت جامد مانیتول سالت آگار جهت احیا تلقیح و سپس کلنی های تک رشد کرده روی محیط جامد به محیط مایع TSB(tripticase soy broth) حاوی یک درصد گلوکز

تلقیح شد. بعد از رسیدن کدورت محیط ها به نیم مک فارلند، ۲۰۰ میکرولیتر از هر سوسپانسیون به چاهک های پلیت ۹۶ تایی الایزا افزوده شد. پلیت مورد نظر به مدت ۲۰ ساعت در ۳۷ درجه گرماگذاری شد(۳) و سپس فاز رویی(supernatant) هر چاهک بیرون ریخته شد و چاهک ها با PBS(phosphate-buffered saline) چهار مرتبه شسته شد. پلیت را در ۶۵ درجه به مدت یک ساعت قرار داده تا کاملا خشک شود. در مرحله بعد رنگ آمیزی با رنگ کریستال ویوله به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد و رنگ موجود در چاهک ها بیرون ریخته و پلیت به آرامی با آب شسته شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط حاوی اتانول ۷۰ درصد به همراه ایزوپروپیل الکل ۱۰ درصد به چاهک ها افزوده شد(۸). در مرحله آخر جذب در 570nm توسط دستگاه ELISA Reader قرائت گردید. جدایه هایی که متوسط جذب نوری شان در این طول موج بیش از سه برابر انحراف معیار مربوط به نمونه کنترل منفی(محیط TSB-1%Glc) بود، از نظر تشکیل بیوفیلم مثبت در نظر گرفته شد ارزیابی میزان بیوفیلم تشکیل شده، نمونه های با OD کمتر از ۰/۱ فاقد بیوفیلم، بین ۰/۱-۰/۲ به عنوان بیوفیلم ضعیف، بین ۰/۲-۰/۳ بعنوان بیوفیلم متوسط و بیش از ۰/۳ به عنوان بیوفیلم قوی ارزیابی شد. میزان تشکیل بیوفیلم در جدایه ها ثبت شده و پراکندگی آن بر حسب نوع ژن agr و مقاومت و حساسیت به آنتی بیوتیک ها با آزمون آماری x^2 ارزیابی شد.

یافته ها

از میان ۱۵۰ جدایه تعداد ۸۴ جدایه (۵۶٪) در محیط TSB حاوی یک درصدگلوکز قادر به تشکیل بیوفیلم بودندکه به ترتیب ۴۸، ۲۰ و ۱۶ مورد بیوفیلم ضعیف، متوسط و قوی داشتند (جدول۱). همچنین توزیع فراوانی تشکیل بیوفیلم در جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* بر حسب تیپ agr بررسی شد و بین تشکیل بیوفیلم و نوع agr group جدایه ها تفاوت معنی داری مشاهده نشد، اما جدایه های متعلق به agr group I توانایی بیشتری در تشکیل بیوفیلم قوی داشتند.

جدول۱-توزیع فراوانی شدت تشکیل بیوفیلم بر مبنای تیپ agr

بیوفیلم	Agr group I	Agr group II	Agr group III	Agr group IV	کل
عدم تشکیل	۲۸(٪۳۸/٤)	۹(٪٤۲)	۲٦(٪۵۲)	۳(٪۵۰)	٦٦(٪٤٤)
بیوفیلم ضعیف	۲٦	٦	۱۵	۱	٤۸(٪۳۲)
بیوفیلم متوسط	۸	۵	۵	۲	۲۰(٪۱۳/۳)
بیوفیلم قوی	۱۱	۱	٤	۰	۱٦(٪۱۰/۷)
کل	۷۳	۲۱	۵۰	٦	۱۵۰

جدول۲-توزیع فراوانی تشکیل بیوفیلم در جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* بر حسب منبع جداسازی

بیوفیلم	بیماران	ناقلین	مواد غذایی	کل
تشکیل بیوفیلم	٤۲(٪۵۵/۲)	۳۲(٪۵۹/۲)	۱۰(٪۵۰)	۸٤
عدم تشکیل بیوفیلم	۳٤(٪٤٤/۷)	۲۲(٪٤۰/۷)	۱۰(٪۵۰)	٦٦
کل	۷٦	۵٤	۲۰	۱۵۰

توزیع فراوانی تشکیل بیوفیلم در جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* بر حسب منبع جداسازی بررسی شد و بیشترین میزان تشکیل بیوفیلم در جدایه های جدا شده از ناقلین بود ولی بین شدت تشکیل بیوفیلم و محل جداسازی جدایه ها اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول۲). در بین جدایه های جداشده از بیماران که قادر به تشکیل بیوفیلم بودند، جدایه های جداشده از زخم وادرار(هر دو مورد با ۷۵٪) بیشترین توانایی را در تشکیل بیوفیلم از خود نشان دادند ولی تفاوت آماری معنی داری بین نوع عفونت و توانایی تشکل بیوفیلم وجود

نداشت(P>۰/۰۵). میزان تشکیل بیوفیلم در بین جدایه های مقاوم و حساس به آنتی بیوتیک هایی از قبیل جنتامایسین، نالیدیکسیک اسید، کلرامفنیکل، پنی سیلین،آمپی سیلین و سفالوتین فاقد تفاوت معنی دار بود. این میزان در جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی سیلین (MSSA) و مقاوم به متی سیلین (MRSA) به ترتیب ۴۹/۵ درصد و ۶۹/۳ درصد بودکه تفاوت معنی داری نداشت (P>۰/۰۵) ولی جدایه های مقاوم به متی سیلین توانایی بیشتری در تشکیل بیوفیلم از خود نشان دادند(جدول ۳).

جدول۳- میزان تشکیل بیوفیلم در بین جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم و حساس به متی سیلین

بیوفیلم	حساس به متی سیلین	مقاوم به متی سیلین	کل
تشکیل بیوفیلم	۵۰(٪۴۹/۵)	۳٤(٪٦۹/۳)	۸٤
عدم تشکیل بیوفیلم	۵۱(٪۵۰/٤)	۱۵(٪۳۰/٦)	٦٦
کل	۱۰۱	٤۹	۱۵۰

بحث

در این مطالعه میزان تولید بیوفیلم توسط جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* تعیین شد و سپس بررسی هایی به منظور تعیین ارتباط بین شدت تشکیل بیوفیلم با برخی از شاخص های فنوتیپی و ژنوتیپی *استافیلوکوکوس اورئوس* از قبیل agr group ومقاومت و حساسیت به آنتی بیوتیک ها انجام گرفت. اولین بار Christensen و همکاران(۹) در سال۱۹۹۵ در آمریکا از روش رنگ آمیزی با کریستال ویوله برای بررسی میزان چسبندگی و تولید بیوفیلم در باکتری های استافیلوکوک کوآگولاز منفی استفاده کرد. Croes و همکاران در مطالعه خود در سال ۲۰۰۹ در هلند نشان داند که۶۰ درصد جدایه های جدا شده از بیماران قادر به تولید بیوفیلم بودند(۸). همچنین Vuong و همکاران در مطالعه خود در سال ۲۰۰۰ در آلمان نشان داند که۷۸ درصد جدایه ها قادر به تولید بیوفیلم بودند(۱۰)، در حالی که در مطالعه ما ۵۶ درصد جدایه ها قادر به تولید بیوفیلم بودند. مطالعاتی که بعدها بر روی جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* براین اساس انجام شده نشان می دهد که بعضی از تیپ های agr دارای بیشترین توانایی در تشکیل بیوفیلم هستند. برای مثال Cafisoو همکاران در مطالعه خود در سال ۲۰۰۷ در ایتالیا نشان داند که تمام جدایه هایی که قادر به تشکیل بیوفیلم قوی هستند متعلق به agr group II می باشند(۱۱). همچنین Ikonomidis و همکاران در مطالعه خود در سال ۲۰۰۹در یونان نشان دادند که جدایه های متعلق به agr group II قادر به تشکیل بیوفیلم قوی تری هستند(۱۲). در مطالعه قبلی که بر روی جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از شهر گرگان انجام شد، بیشترین فراوانی مربوط به agr group I بود ولی در جدایه های جدا شده از بیماران agr group III از شیوع بالاتری برخوردار بود. در این مطالعه ارتباط بین گروه agr و توانایی تشکیل بیوفیلم توسط *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی شد و جدایه های متعلق به agr group I قادر به تشکیل بیوفیلم قوی تری بودند. همچنین بعد از agr group I گروه II بیشترین توانایی را در تشکیل بیوفیلم نشان داد (٪۶۱/۶ در مقابل٪۵۸). با توجه به اهمیت تاثیر تشکیل بیوفیلم در بیماری زایی جدایه های کلینیکی، بسیاری از مطالعات انجام شده بر روی بیوفیلم روی نمونه های جدا شده از بیماران انجام شده بود(۱۱،۱۲) اما به دلیل اهمیت تاثیر تشکیل بیوفیلم برافزایش مقاومت و بیماری زایی جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* موجود در نمونه های غذایی، مطالعاتی نیز در این خصوص انجام شده است. برای مثال Møretrø و همکاران در مطالعه خود در سال ۲۰۰۳ در نروژ نشان دادند که از میان ۱۴۴ جدایه جدا شده از مواد غذایی،۱۹/۴ درصد جدایه ها قادر به تشکیل بیوفیلم بودند (۱۳)، در حالی که در مطالعه ما از میان۲۰ جدایه، ۵۰

درصد جدایه ها قادر به تشکیل بیوفیلم بودند. مقاومت به متی سیلین یکی از مشکلات جدی بهداشتی در قرن ۲۱ می باشد، زیرا پیدایش این مقاومت مشکلات جدی در درمان عفونت های استافیلوکوکی ایجاد می کند. Souza و همکاران در مطالعه خود در سال ۲۰۰۹ در برزیل نشان دادند که جدایه های مقاوم به متی سیلین (MRSA) قادر به تشکیل بیوفیلم بر روی سطوح پلی استرین هستند(۱۴). از طرفی دیگر Pozzi و همکاران در مطالعه خود در سال ۲۰۱۲ درآمریکا نشان دادند که جدایه های مقاوم به متی سیلین (MRSA) توانایی بیشتری در تشکیل بیوفیلم دارند که این موضوع درمان بیماری را با مشکلات بیشتری همراه خواهد کرد(۱۵). در مطالعه ما اگرچه توانایی تشکیل بیوفیلم در جدایه های MSSA و MRSA از نظر آماری تفاوت معنی داری نداشت ولی جدایه های مقاوم به متی سیلین (MRSA) توانایی بیشتری در تشکیل بیوفیلم از خود نشان دادند که تایید کننده یافته Pozzi می باشد و به همین دلیل لازم است در جدایه های مقاوم به متی سیلین علاوه بر روش های درمان دارویی با ونکومایسین یا داروهای مشابه به کنترل بیوفیلم و حذف آن نیز توجه نمود. زیرا ممکن است علیرغم حساسیت باکتری به ونکومایسین در خارج از بدن، شکست درمانی مشاهده شود. اما در ارتباط با سایر آنتی بیوتیک هایی که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت، برخلاف آنچه تصور می شد جدایه های دارای بیوفیلم قوی تر، مقاومت بیشتری در برابر آنتی بیوتیک ها نداشتند.

نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد که ۵۶ درصد جدایه های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از بیماران، ناقلین سالم و مواد غذایی توانایی تشکیل بیوفیلم در محیط TSB-1%Glc را دارند. این توانایی در جدایه های مختلف با منشاء جدا سازی، گروه agr و مقاومت آنتی بیوتیکی تفاوت معنی داری ندارد ولی در جدایه های مقاوم به متی سیلین دارای فراوانی بیشتری می باشد. با توجه به اهمیت و مشکلات درمانی جدایه های MRSA و CA-MRSA به ویژه توجه به حذف یا کنترل بیوفیلم در کنار درمان آنتی بیوتیکی ضروری است و پیشنهاد می شود مطالعه ای با این هدف انجام شود.

تشکر و قدردانی

با تشکر از کارکنان گروه میکروبیولوژی و تمام افرادی که ما را در انجام این پژوهش یاری دادند.

References

1. Jarraud S, Mougel C, Thioulouse J, Lina G, Meugnier H, Forey F, et al. *Relationships between Staphylococcus aureus genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease*. Infection and immunity. 2002; 70(2): 631-41..

2. Yarwood JM, Bartels DJ, Volper EM, Greenberg EP. *Quorum sensing in Staphylococcus aureus biofilms*. Journal of Bacteriology. 2004; 186(6): 1838-50.

3. Coelho LR, Souza RR, Ferreira FA, Guimarães MA, Ferreira-Carvalho BT, Figueiredo AMS. *Agr RNAIII divergently regulates glucose-induced biofilm formation in clinical isolates of Staphylococcus aureus*. Microbiology. 2008; 154(11): 3480-90.

4. Lauderdale KJ, Boles BR, Cheung AL, Horswill AR. *Interconnections between Sigma B, agr, and Proteolytic Activity in Staphylococcus Aureus Biofilm Maturation*. Infection and Immunity. 2009; 77(4): 1623-35.

5. Boles BR, Horswill AR. *Agr-mediated dispersal of Staphylococcus aureus biofilms*. PLoS Pathogens. 2008; 4(4): e1000052.

6. Novick RP, Ross H, Projan S, Kornblum J, Kreiswirth B, Moghazeh S. *Synthesis of staphylococcal virulence factors is controlled by a regulatory RNA molecule*. The EMBO Journal. 1993; 12(10): 3967.

7. Novick R, Projan S, Kornblum J, Ross H, Ji G, Kreiswirth B, et al. *Theagr P2 operon: An autocatalytic sensory transduction system inStaphylococcus aureus*. Molecular and General Genetics MGG. 1995; 248(4): 446-58.

8. Bibalan MH, Shakeri F, Javid N, Ghaemi A, Ghaemi EA. *Accessory Gene Regulator Types of Staphylococcus aureus Isolated in Gorgan, North of Iran.Journal of Clinical and Diagnostic Research.* 2014 ; (4)7-9

9.Croes S, Deurenberg R, Boumans M-L, Beisser P, Neef C, Stobberingh E. *Staphylococcus aureus biofilm formation at the physiologic glucose concentration depends on the S*. aureus lineage. BMC microbiology. 2009; 9(1): 229.

10.Christensen GD, Simpson W, Younger J, Baddour L, Barrett F, Melton D, et al. *Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices*. Journal of clinical microbiology. 1985; 22(6): 996-1006.

11.Vuong C, Saenz HL, Götz F, Otto M. *Impact of the agr quorum-sensing system on adherence to polystyrene in Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2000; 182(6): 1688-93.

12.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.

13. Ikonomidis A, Vasdeki A, Kristo I, Maniatis AN, Tsakris A, Malizos KN, et al. *Association of biofilm formation and methicillin-resistance with accessory gene regulator (agr) loci in Greek Staphylococcus aureus clones.* Microbial pathogenesis. 2009; 47(6): 341-4.

14.Møretrø T, Hermansen L, Holck AL, Sidhu MS, Rudi K, Langsrud S. *Biofilm formation and the presence of the intercellular adhesion locus ica among staphylococci from food and food processing environments*. Applied and Environmental Microbiology. 2003; 69(9): 5648-55.

15.Souza R, Coelho L, Botelho A, Ribeiro A, Rito P, Vieira V, et al. *Biofilm formation and prevalence of lukF-pv, seb, sec and tst genes among hospital and community acquired isolates of some international methicillin resistant Staphylococcus aureus lineages*. Clinical Microbiology and Infection. 2009; 15(2): 203-7.

16.Pozzi C, Waters EM, Rudkin JK, Schaeffer CR, Lohan AJ, Tong P, et al. *Methicillin resistance alters the biofilm phenotype and attenuates virulence in Staphylococcus aureus device-associated infections.* PLoS Pathogens. 2012; 8(4): e1002626.

Biofilm Formation in *Staphylococcus Aureus* and its Relation to Phenotypic and Genotypic Criteria

Hasannejad Bibalan, M. (MSc)
PhD Student of Bacteriology, Department of Microbiology, Iran University of Medical Sciences, Tehran Iran

Javid, N. (MSc)
MSc of Microbiology, Department of Microbiology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

Samet, M. (MSc)
MSc of Microbiology, Department of Microbiology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

Shakeri, F. (MSc)
MSc of Microbiology, Department of Microbiology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

Ghaemi, EA. (PhD)
Professor of Microbiology, Department of Microbiology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

Corresponding Author: Ghaemi, EA.

Email: eghaemi@yahoo.com

Received: 24 Aug 2013
Revised: 5 Dec 2013
Accepted: 7 Dec 2013

Abstract

Background and Objective: Biofilm is a complex microbial community embedded in a self-produced extracellular polymeric matrix. We aimed to study the extent of biofilm formation by S. Areas isolates and its relation to some phenotypic and genotypic criteria.

Material and Methods: One hundred-fifty strains of *Staphylococcus aureus* isolated from Gorgan were studied. Microtiter plate assay method was used for investigation of biofilm formation.The biofilm formation of strains were recorded and its relation to accessory gene regulator (agr) and antibiotic resistance were assessed by X^2 *test.*

Results: Eighty-four isolates (56%) were able to form biofilm. The strength of biofilm formation in agr group I was more than that of other groups. The biofilm formation among *S. Areas* isolated from the wound and urine (both with 75 %) had the highest capability. Methicillin-resistant isolates had a greater ability to biofilm formation.

Conclusion: Methicillin resistant isolates had a greater ability to biofilm formation. Given the importance and treatment related problems of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) especially Community Acquired-Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (CA-MRSA), it is a necessity to control or remove the biofilm formation alongside antibiotic treatment.

Keywords: Staphylococcus Aureus, Biofilm, Microtiter Plates Assay, PCR

This paper should be cited as: Hasannejad Bibalan M, Javid N, Samet M, Shakeri F, Ghaemi EA. [Biofilm Formation in Staphylococcus Aureus and its Relation to Phenotypic and Genotypic Criteria]. MLJ. 2014; 8(3):1-7 [Article in Persian]