DOI: 10.22100/jkh.v19i4.3396

مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی، دوره ۱۹، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود

مقاله پژوهشی

ارتباط‌سنجی تشکیل بیوفیلم با حضور ژن‌های *esp* و *gelE* در ایزوله‌های بالینی *انتروکوکوس فاسیوم* در بیمارستان امام حسین شاهرود

محمدباقر سهرابی[۱]، میلاد رضوانی[۲]، مهدی میرزایی[۱]، محمدعلی نوشک[۱]، مهدی ابراهیمی[۳]، فائزه احمدی‌فر[۲]، مژگان فضلی[۱]، مرجان رشیدان[۱*]

۱- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.

۲- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.

۳- دپارتمان جراحی، مرکز آموزشی، پژوهشی و درمانی امام حسین، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۱۹، **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۳/۱۰/۰۲

چکیده

مقدمه: *انتروکوکوس فاسیوم (Enterococcus faecium) یک پاتوژن بیمارستانی مهم است که به‌دلیل توانایی در تشکیل بیوفیلم، شناخته می‌شود، ویژگی‌ای که به ویرولانس و مقاومت در برابر درمان‌های آنتی‌بیوتیکی کمک می‌کند. درک مکانیسم‌های زیربنایی این قابلیت در ایزوله‌های بالینی اهمیت بسیاری دارد. این مطالعه به بررسی ویژگی‌های فنوتیپی و مولکولی مرتبط با تولید بیوفیلم در سویه‌های انتروکوکوس فاسیوم ایزوله‌شده از نمونه‌های بالینی مختلف می‌پردازد.*

مواد و روش‌ها: *در مجموع ۸۸ انتروکوکوس فاسیوم از بیماران بستری و سرپایی بیمارستان امام حسین شاهرود در طی سال‌های ۱۴۰۲-۱۴۰۱ جمع‌آوری شد. ایزوله‌های به‌دست آمده از لحاظ مورفولوژی کلونی، آزمون‌های شناسایی گونه و آزمون‌های بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند. ارزیابی فنوتیپی تولید بیوفیلم با روش Congo Red Agar (CRA) و Micro Titer Plate (MTP) انجام گرفت. برای شناسایی گونه و حضور ژن‌های esp و gelE از روش PCR استفاده شد.*

نتایج: *این مطالعه ۶۰ (۶۸/۱٪) و ۷۶ (۸۶/۳٪) ایزوله‌ها با روش CRA و MTP قادر به تولید بیوفیلم بودند. بیشترین نمونه‌ها از ادرار (۴۸/۸٪)، خون (۱۸/۱٪) بود؛ که ۹۵/۴٪، ۸۱/۲٪ و ۷۷/۷٪ از ایزوله‌های جدا شده از آنها تولیدکننده بیوفیلم بودند. نتایج PCR نشان داد که ۳۰/۶٪ ایزوله‌ها دارای ژن esp و ۵۳/۴٪ حاوی ژن gelE بودند و ۱۰۰٪ آنها قادر به تولید بیوفیلم بودند که ۷/۹٪ از ایزوله‌های حاوی ژن esp و ۱۰/۱ از ایزوله‌های حاوی ژن gelE بیوفیلم قوی تشکیل دادند.*

نتیجه‌گیری: *نتایج مطالعه ما نشان داد که اکثر نمونه‌های بالینی، تولیدکننده بیوفیلم هستند و ژن‌های esp و gelE نقش مهمی در تشکیل بیوفیلم در بیماران ایفا می‌کنند. این موضوع نه تنها نشان دهنده گسترش آلودگی و بروز بیماری‌های جدی است؛بلکه همچنین پیشرفت فزآینده الگوهای مقاومت دارویی را نیز برجسته می‌کند.*

واژه‌های کلیدی: *انتروکوکوس فاسیوم*، تشکیل بیوفیلم، ژن‌های بیوفیلم، PCR.

***نویسنده مسئول:** میدان هفتم‌تیر- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران، **تلفن:** ۰۲۳۳۲۳۹۵۰۵۴، **نمابر:** ۰۲۳۳۲۳۹۴۸۰۰۰ **Email:** marjan.rashidan@yahoo.com

ارجاع: سهرابی محمدباقر، رضوانی میلاد، میرزایی مهدی، نوشک محمدعلی، ابراهیمی مهدی، احمدی‌فر فائزه، فضلی مژگان، رشیدان مرجان. ارتباط سنجی تشکیل بیوفیلم با حضور ژن‌های *esp* و *gelE* در ایزوله‌های بالینی *انتروکوکوس فاسیوم* در بیمارستان امام حسین شاهرود. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۴۰۳؛۱۹(۴):۶۵-۵۸.

CC BY NC

مقدمه

انتروکوک‌ها باکتری‌های گرم مثبت بی‌هوازی هستند و ۴۹ گونه از آنها در محیط‌های مختلف مانند آب دریا، گیاهان، روده حیوانات و انسان‌ها شناسایی شدند (۱). دو گونه شایع آن، *انتروکوکوس فکالیس* و *انتروکوکوس فاسیوم* اغلب در دستگاه گوارش انسان یافت می‌شوند. اگرچه آنها فلور روده هستند، اما می‌توانند به‌عنوان پاتوژن‌های فرصت‌طلب مسئول عفونت‌های دستگاه ادراری (UTIs)، باکتریمی، اندوکاردیت و منتژیت نوزادی عمل کنند (۱–۵). عفونت‌های ادراری شایع‌ترین عفونت‌های ناشی از انتروکوک‌ها هستند که بیش از ۳۰ درصد از عفونت‌های ادراری اکتسابی در بیمارستان را شامل می شوند و به‌عنوان دومین پاتوژن شایع، پس از *اشریشیاکلی* در عفونت‌های ادراری مرتبط با کاتتر، رتبه‌بندی می‌شوند (۶).

عوامل متعددی در بیماری‌زایی این باکتری در بیمارستان‌ها نقش دارند، از جمله مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فاکتورهای بیماری‌زایی (۷ و ۸). این باکتری از طریق اتصال و کلونیزاسیون، تهاجم به بافت میزبان، تعدیل ایمنی میزبان و ترشح سموم و آنزیم‌ها، که به‌طور بالقوه شدت عفونت‌ها را افزایش می‌دهند، بیماری‌زایی را تسهیل می‌کند. عوامل بیماری‌زای قابل توجه عبارتند از تولید کپسول، ژلاتیناز کدگذاری شده توسط ژن (gelE)، مواد تجمعی و پروتئین سطحی esp (کدگذاری شده توسط ژن esp) ، که همگی به اتصال باکتری‌ها و تشکیل بیوفیلم در محیط‌های بیمارستانی کمک می‌کنند (۹).

آنزیم ژلاتیناز، که توسط ژن *gelE*، رمزگذاری می‌شود، یک متالوپروتئاز است که کلاژن، ژلاتین و پپتیدهای کوچک را هیدرولیز کرده و نقش مهمی در بیماری‌زایی انتروکوک‌ها و تشکیل بیوفیلم‌ها ایفا می‌کند (۱۰). ژن *esp* که رمزگذاری‌کننده یک پروتئین سطحی در انتروکوک‌ها است، در اتصال اولیه و تشکیل بیوفیلم نقش دارد و ارتباط آن با عفونت‌های مجاری ادراری در مدل‌های حیوانی تأیید شده است (۱۱ و ۱۲).

تولید بیوفیلم یک عامل بیماری‌زای مهم در عفونت‌های انتروکوکی است زیرا می‌تواند با جلوگیری از رسیدن آنتی‌بیوتیک‌ها به باکتری، عفونت را طولانی‌تر کند (۹). بیوفیلم‌ها زمانی تشکیل می‌شوند که باکتری‌ها به یک سطح می‌چسبند و شروع به تولید مواد پلیمری می‌کنند و به‌عنوان یک مانع فیزیکی در برابر سیستم ایمنی عمل می‌کنند و از باکتری‌ها در برابر عوامل ضد میکروبی محافظت می‌کنند (۱۳). باکتری‌های تشکیل دهنده بیوفیلم حدود ۶۵ درصد از عفونت‌های بیمارستانی و ۸۰ درصد عفونت‌های مربوط به ادرار را ایجاد می‌کنند (۱۴). تحقیقات متعدد ارتباط بین ژن‌های *gelE* و *esp* و توانایی تولید بیوفیلم را در این باکتری نشان می‌دهد که باعث افزایش بیماری‌زایی و مقاومت آنها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود (۱۱، ۱۵–۱۸).

روش‌های مختلفی برای مطالعه تولید بیوفیلم باکتریایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. روش میکروتیترپلیت (MTP) اغلب برای تجزیه و تحلیل کمی استفاده می‌شود. در مقابل، روش کنگو رد آگار (CRA) به‌عنوان یک تکنیک کیفی استفاده می‌شود (۱۹).

به‌طور کلی، اطلاعات کمتری در مورد *انتروکوکوس فاسیوم* در مقایسه با *انتروکوکوس فکالیس* وجود دارد و مطالعات کمتری روی آن متمرکز شده است. علاوه بر این مطالعات کمی در مورد بررسی تولید بیوفیلم و ژن‌های مرتبط با آن در *انتروکوکوس فاسیوم* انجام گرفته است، بنابراین هدف از مطالعه حاضر ارتباط سنجی تشکیل بیوفیلم با حضور ژن‌های *esp* و *gelE* در ایزوله‌های بالینی انتروکوکوس فاسیوم در بیمارستان امام حسین شاهرود می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر که از نوع مطالعات مقطعی (Cross-Sectional) است؛ به‌صورت توصیفی در سال ۱۴۰۲ در دپارتمان میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی شاهرود انجام شده است. این مطالعه بر روی ۸۸ ایزوله بالینی شامل زخم، ادرار، خون و مایعات بدن جدا شده از بیماران بستری و سرپایی بیمارستان امام حسین (ع) شاهرود انجام پذیرفت. علاوه بر این ، مشخصات بیماران مانند سن، جنس و نوع عفونت نیز ثبت گردید. تمامی جدایه‌ها توسط روش‌های معمول باکتری‌شناسی نظیر رنگ‌آمیزی گرم، آزمایش‌های بیوشیمیایی کاتالاز، بایل اسکولین، رشد در محیط ۶/۵٪ نمک و قند آرابینوز مورد شناسایی و تأیید قرار گرفتند (۲۰). سویه‌های *انتروکوکوس فاسیوم* تأیید شده به روش میکروبیولوژی و بیوشیمیایی، به روش مولکولی PCR بااستفاده از پرایمر اختصاصی تهیه شده از شرکت سیناژن بار دیگر تأیید شدند. سپس نمونه‌ها در محیط TSB (Tryptic Soy Broth)حاوی ۲۰ درصد گلیسرول قرار گرفتند و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای بررسی تولید بیوفیلم روش‌های کنگو رد آگار (CRA) و تکنیک میکروتیترپلیت (MTP) به کار گرفته شدند (۲۱).

تشکیل بیوفیلم به‌صورت کیفی با کشت سویه‌های انتروکوک روی پلیت CRA مورد ارزیابی قرار گرفت (۲۲ و ۲۳). برای آماده‌سازی پلیت CR آگار، ۱ لیتر آگار انفیوژن Brain-heart (BHI, Merck,Germany) با ۰/۸ گرم رنگ رد کنگو (Merck , Germany) و ۳۶ گرم ساکارز مخلوط شد. پلیت‌ها برای ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و سپس یک شب در دمای اتاق نگهداری شدند. سویه‌های تولیدکننده

CC BY NC

بیوفیلم دارای کلونی‌های سیاه و سویه‌های بدون توانایی تولید بیوفیلم کلونی‌های قرمز تولید کردند.

تولید بیوفیلم انتروکوک با استفاده از آزمون چسبندگی نیمه کمی به روش MTP ارزیابی شد. به‌طور خلاصه، سویه‌های باکتریایی یک شبانه‌روز، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در تریپتیکاز سوی براث (TSB;Merck,Germany) رشد کردند. کشت‌های انتروکوک به نسبت ۱:۱۰۰ در TSB تازه حاوی۲٪ گلوکز رقیق شدند. سپس محلول رقیق شده به چاهک‌های پلی استایرن ته تخت میکروتیتر (Sigma Aldrich, Darmstadt, Germany) اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. چاهک‌های با TSB استریل حاوی ۲٪ گلوکز، به‌عنوان کنترل منفی استفاده می شوند. پس از انکوباسیون، هر چاهک سه بار با ۳۰۰ میکرولیتر سالین بافر فسفات (pH: 7.2؛PBS) تخلیه و تمیز شد. باکتری‌های چسبنده در اتانول ۹۵ درصد به مدت ۵ دقیقه تثبیت شدند و با ۱۰۰ میکرولیتر کریستال ویولت ۱٪ رنگ‌آمیزی شدند. سپس سه بار با ۳۰۰ میکرولیتر لیتر آب مقطر استریل شسته شدند. میکروپلیت‌ها در هوا خشک شدند. میزان جذب نوری (OD) با دستگاه الایزا ریدر (Anthos 2020 microplate reader, United Kingdom) در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانش شد (۲۱).

چاهک‌ها بر اساس میزان OD تولید شده به گروه‌های زیر تقسیم شدند؛ همان‌طور که Christensen و همکاران گفته‌اند (۲۴)؛ که البته استپانوویک و همکاران کمی آن را اصلاح کردند (۲۵). OD<۰/۱۲۰ ایزوله‌های ضعیف یا غیر تولیدکننده بیوفیلم‌اند، ۰/۱۲۰<OD<۰/۲۴۰ که تولید کننده‌های بیوفیلم متوسطاند و OD>۰/۲۴۰ که تولیدکننده‌های بیوفیلم قوی‌اند.

استخراج DNA از نمونه‌ها با استفاده از کیت پویا ژن آزما انجام شد. و به منظور شناسایی *انتروکوکوس فاسیوم* و ژن‌های بیماری‌زا از روش PCR و پرایمر اختصاصی آن‌ها استفاده گردید (جدول ۱).

مراحل واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بر اساس پروتکل عمومی به شرح زیر اجرا شد:

برنامه زمانی واکنش زنجیره پلی مراز در دستگاه ترموسایکلر (Germany-Eppendorf) با شرایط دمایی دناتوراسیون اولیه به مدت یک دقیقه در دمای۹۴ درجه سلسیوس و ۳۵ چرخه با دمای دناتوراسیون ۹۴ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه، دمای واسرشت شدن ۵۵ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه و دمای طویل‌سازی اولیه ۷۲ درجه سلسیوس به مدت دو دقیقه تنظیم شد. مرحله طویل‌سازی نهایی نیز در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه انجام شد. محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵٪ حاوی Safe stain الکتروفورز و توسط دستگاه Gel Documentation مشاهده گردید.

داده‌های جمع‌آوری شده توسط نرم افزار SPSS با استفاده از(Chi-square(x^2 در سطح اطمینان ۹۵ درصد تحلیل شدند. مقدار P<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معناداری آماری در نظر گرفته شد.

استخراج DNA از نمونه‌ها با استفاده از کیت پویا ژن آزما انجام شد و به‌منظور شناسایی *انتروکوکوس فاسیوم* و ژن‌های بیماری‌زا از روش PCR و پرایمر اختصاصی آنها استفاده گردید (جدول ۱).

مراحل واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بر اساس پروتکل عمومی به شرح زیر اجرا شد:

برنامه زمانی واکنش زنجیره پلی مراز در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf–Germany) با شرایط دمایی دناتوراسیون اولیه به مدت یک دقیقه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس و ۳۵ چرخه با دمای دناتوراسیون ۹۴ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه، دمای واسرشت شدن ۵۵ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه و دمای طویل‌سازی اولیه ۷۲ درجه سلسیوس به مدت دو دقیقه تنظیم شد. مرحله طویل‌سازی نهایی نیز در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه انجام شد. محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵٪ حاوی Safe stain الکتروفورز و توسط دستگاه Gel Documentation مشاهده گردید.

جدول ۱- ژن‌ها و پرایمر اختصاصی آنها

ژن هدف	Primers (5′→3′)	محصول (bp)	Reference
esp	AGATTTCATCTTTGATTCTTGG AATTGATTCTTTAGCATCTGG	۵۱۰	(۲۶)
gelE	TATGACAATGCTTTTTGGGAT AGATGCACCCGAAATAATATA	۲۱۳	(۲۶)
$ddl_{E.faecium}$	TAGAGACATTGAATATGCC TCGAATGTGCTACAATC	۵۵۰	(۲۷)

داده‌های جمع‌آوری شده توسط نرم‌افزار SPSS با استفاده از آزمون Fisher و (Chi-square(x^2 در سطح اطمینان ۹۵ درصد تحلیل شدند. مقدار P<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معناداری آماری در نظر گرفته شد.

نتایج

در این مطالعه مقطعی، ۸۸ سویه *انتروکوکوس فاسیوم* جدا شده از نمونه‌های مختلف بالینی در بیمارستان امام حسین از سال ۱۴۰۲-۱۴۰۱ جمع‌آوری شد. سویه‌ها به روش‌های فنوتیپی و مولکولی تعیین هویت شدند که نتایج در ادامه بیان شده است.

در این مطالعه نمونه‌ها از ۴۵ مرد (۵۱/۱٪) و ۴۳ زن (۴۸/۹٪) دریافت شد. بیشترین فراوانی نمونه‌ها از ادرار ۴۸/۹٪ و خون ۱۸/۲٪ بود. میزان فراوانی نمونه‌های مختلف بالینی در جدول ۲ نشان داده شده است. همچنین بیشترین نمونه جداشده از بخش ICU بیمارستان بود. میزان

CC BY NC

فراوانی نمونه‌ها در بخش‌های مختلف بیمارستان در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۲- فراوانی *انتروکوکوس فاسیوم‌های* جدا شده از نمونه‌های بالینی مختلف

منبع	تعداد	درصد
ادرار	۴۳	۴۸/۹
خون	۱۶	۱۸/۲
مایعات بدن	۹	۱۰/۲
زخم	۸	۹/۱
سوند	۳	۳/۴
تراشه	۳	۳/۴
CSF	۲	۲/۳
آسیت	۱	۱/۱
فیستول	۱	۱/۱
کاتتر	۱	۱/۱
خلط	۱	۱/۱
جمع کل	۸۸	۱۰۰/۰

جدول ۳- فراوانی نمونه‌ها در بخش‌های مختلف بیمارستان

بخش‌ها	تعداد	درصد
ICU	۲۹	۳۳/۰
بخش داخلی	۱۶	۱۸/۲
بیماران سرپایی	۱۰	۱۱/۴
جراحی	۹	۱۰/۲
CCU	۶	۶/۸
اورژانس	۶	۶/۸
اورولوژی	۵	۵/۷
بیماران بستری	۳	۳/۴
اطفال	۲	۲/۳
پیوند کلیه	۲	۲/۳
جمع کل	۸۸	۱۰۰/۰

بررسی تولید بیوفیلم توسط روش کنگورد آگار و میکروتیتر پلیت:

در روش کنگورد، ۶۰ مورد (۶۸/۱٪) از *انتروکوکوس فاسیوم‌های* جدا شده از نمونه‌های بالینی قادر به تولید بیوفیلم بودند. از میان آنها ۸ مورد (۱۳/۳٪) قادر به تولید بیوفیلم قوی بودند و ۱۳ مورد (۲۱/۶٪) بیوفیلم متوسط تشکیل دادند. ۳۹ مورد (۶۵٪) نیز تشکیل‌دهنده بیوفیلم ضعیف بودند.همچنین در روش میکروتیتر پلیت، ۷۶ مورد (۸۶/۳٪) از ایزوله‌ها قادر به تولید بیوفیلم بودند در حالی‌که ۱۳/۶٪ توانایی تولید بیوفیلم را نداشتند. از میان مواردی که قادر به تشکیل بیوفیلم بودند ۱۰ (۱۳/۱٪) بیوفیلم قوی، ۱۸ (۲۳/۶٪) بیوفیلم متوسط و ۴۸ (۶۳/۱٪) بیوفیلم ضعیف تشکیل دادند (جدول ۴).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد نمونه‌های خون ۱۳ (۸۱/۲٪) و ادرار ۴۱ (۹۵/۴٪) بالاترین قدرت تولید بیوفیلم را در بین نمونه‌ها نشان دادند که به‌ترتیب ۶/۲۵٪ و ۱۶/۲٪ قادر به تولید بیوفیلم قوی بودند. همچنین ارتباط معنی‌داری بین نوع نمونه و تشکیل بیوفیلم مشاهده شد (P=۰/۰۴) (جدول ۵).

نتایج آمپلیکاسیون PCR نشان داد ۲۷ (۳۰/۶٪) *از انتروکوکوس فاسیوم‌ها* حاوی ژن *esp* و ۴۷ (۵۳/۴٪) حاوی ژن *gelE* بودند. سایر ایزوله‌ها فاقد این دو ژن بودند. مطابق جدول ۶ ارتباط معنی‌داری بین حضور ژن‌های *esp* و *gelE* و تشکیل بیوفیلم مشاهده شد (P<۰/۰۵).

جدول ٤- بررسی تولید بیوفیلم در *انتروکوکوس فاسیوم‌های* جدا شده از نمونه‌های بالینی به دو روش کنگو رد آگار و میکروتیتر پلیت

نوع بیوفیلم	MTP		CRA	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
ضعیف	۴۸	۵۴/۵	۳۹	۴۴/۳
متوسط	۱۸	۲۰/۵	۱۳	۱۴/۸
قوی	۱۰	۱۱/۴	۸	۹/۱
منفی	۱۲	۱۳/۶	۲۸	۳۱/۸
جمع کل	۸۸	۱۰۰/۰	۸۸	۱۰۰/۰

جدول ٥- بررسی تشکیل بیوفیلم به تفکیک نوع نمونه بالینی

نوع نمونه	تولید بیوفیلم			
	ضعیف	متوسط	قوی	منفی
خون	۱۰ (۶۲/۵٪)	۲ (۱۲/۵٪)	۱ (۶/۲۵٪)	۳ (۱۸/۷۵٪)
مایع آسیت	۰	۰	۰	۱ (۱۰۰٪)
سوند	۰	۰	۲ (۶۶/۶٪)	۱ (۳۳/۳٪)
ادرار	۲۴ (۵۵/۸٪)	۱۰ (۲۳/۲٪)	۷ (۱۶/۲٪)	۲ (۴/۶٪)
خلط	۱ (۱۰۰٪)	۰	۰	۰
تراشه	۲ (۶۶/۶٪)	۱ (۳۳/۳٪)	۰	۰
کاتتر	۱ (۱۰۰٪)	۰	۰	۰
زخم	۲ (۲۵٪)	۳ (۳۷/۵٪)	۰	۲ (۲۲/۲٪)
CSF	۰	۲ (۱۰۰٪)	۰	۰
مایعات بدن	۷ (۷۷/۷٪)	۰	۰	۲ (۲۲/۲٪)
فیستول	۱ (۱۰۰٪)	۰	۰	۰

جدول ٦- بررسی تشکیل بیوفیلم در سویه‌های حاوی ژن‌های بررسی شده

نوع بیوفیلم	سویه‌های حاوی *gelE*	سویه‌های حاوی *esp*
قوی	۹ (۱۰/۱٪)	۷ (۷/۹٪)
متوسط	۱۲ (۱۳/۶٪)	۱۲ (۱۳/۶٪)
ضعیف	۲۶ (۲۹/۵٪)	۸ (۹٪)
جمع کل	۴۷ (۵۳/۴٪)	۲۷ (۳۰/۶٪)

بحث

انتروکوک‌ها از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی در سراسر جهان هستند که می‌توانند باعث بروز بیماری‌های جدی مانند عفونت‌های ادراری، باکتریمی، اندوکاردیت، التهاب کیسه صفرا، التهاب مجاری صفراوی، پریتونیت و موارد دیگر شوند. نرخ بروز عفونت‌های

ناشی از این باکتری‌ها در حال افزایش است. انتروکوک‌ها به‌عنوان سومین باکتری ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی شناخته می‌شوند و پس از *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* قرار دارند. (۲۸ و ۲۹). انتروکوک‌ها مسئول ۱۰-۱۲٪ عفونت‌های بیمارستانی، ۱۰-۱۲٪ عفونت‌های ادراری اکتسابی از بیمارستان و ۵-۱۰٪ عفونت‌های خون می‌باشند. مخزن انتروکوک‌ها روده بزرگ بوده و اکثر عفونت‌های انتروکوکی اندوژنوس می‌باشند (۳۰). در مطالعه ما نیز میزان آلودگی با انتروکوک در بیماران بستری در بیمارستان نیز بالا می‌باشد.

در این مطالعه فراوانی سویه‌های *انتروکوکوس فاسیوم* در ادرار (۴۸/۹٪) و خون (۱۸/۲٪) بیشتر از سایر نمونه‌ها بود که با مطالعه مخرجی و همکاران در کولکاتا در سال ۲۰۱۶ (بیشترین شیوع در ادرار(۸۰٪) و چرک (۱۶٪)) و سالم و همکاران در ریاض در سال ۲۰۱۲ (بیشترین شیوع در مدفوع (۱۹/۲٪) و خون (۱۲/۱٪)) متفاوت می‌باشد (۳۱ و ۳۲). نتایج مطالعه گودرزی و همکاران که در لرستان در سال ۲۰۱۸ انجام شد نیز مغایرت‌هایی با مطالعه ما داشت؛ در مطالعه آنها بیشترین ایزوله‌ها از نمونه ادرار (۳۷/۸٪) و مدفوع (۲۵/۸٪) بود در حالی که ایزوله‌های جدا شده از خون مقام پنجم از نظر شیوع (۴/۸٪) را به خود اختصاص داده بودند (۲۹). در مطالعه سوسن اکرمی و همکاران در اهواز در سال ۲۰۲۳ نیز بیشترین میزان در ادرار (۶۸/۴٪) و زخم (۱۰/۹٪) و سپس در خون (۹٪) بود (۳۳). که این اختلاف‌ها می‌تواند به علت تفاوت در منشا نمونه‌ها، موقعیت جغرافیایی، الگوی مقاومت دارویی و غیره باشد.

در مطالعه حاضر، در روش MTP ۸۶/۳٪ از ایزوله‌ها توانایی تولید بیوفیلم داشتند که ۱۱/۴٪ بیوفیلم‌ها از نوع قوی بود. که در مقایسه با مطالعات قاضی عسگری و همکاران در تهران در سال ۲۰۱۷، که همه ایزوله‌ها بیوفیلم ضعیف تولید کردند و فلاح و همکاران در تهران در سال ۲۰۱۷، که اکثر ایزوله‌ها تولیدکننده بیوفیلم متوسط بودند، متفاوت بود (۳۴ و ۳۵). همچنین در مطالعه ما، در روش CRA، ۶۸/۱ ٪ ایزوله‌ها توانایی تولید بیوفیلم داشتند که ۹/۱ ٪ از نوع قوی بود و با نتایج مطالعه‌ی هاشم و همکاران در مصر در سال ۲۰۱۷ تفاوت داشت (۳۶) که در آن از میان ۹۵٪ تولیدکننده بیوفیلم ۵/۵٪ بیوفیلم قوی تشکیل دادند. نتایج مطالعه ال هاشمی و الهالبی در بصره در سال ۲۰۱۶ نیز تفاوت‌هایی با مطالعه ما داشت؛ بر اساس نتایج آنها همه ایزوله‌ها در هر دو روش بیوفیلم تولید کردند که در روش MTP ۴۰/۹٪ ایزوله‌ها و در روش CRA ۴۵/۴٪ ایزوله‌ها بیوفیلم قوی تشکیل دادند (۳۷). این اختلاف‌ها می‌تواند به‌دلیل تفاوت جامعه‌ی آماری و منشاء نمونه‌های گرفته شده باشد.

براساس نتایج مطالعه ما روش MTP دقیق‌تر، حساس‌تر و قابل اعتمادتر از CRA است که با نتایج مطالعه خلیل ماها و همکاران در شهر Taif در سال ۲۰۲۲ و نتایج مطالعه مطالعه ال هاشمی و الهالبی در بصره در سال ۲۰۱۶ نیز همخوانی دارد (۲۱ و ۳۷).

در مطالعه ما بیشترین میزان تشکیل بیوفیلم در نمونه ادرار بود (۹۵/۴٪)، که می‌تواند به علت تعداد بیشتر سویه‌های جمع‌آوری شده از نمونه‌ی ادرار باشد؛ در مطالعه گودرزی و همکاران نیز ایزوله‌های جداشده از نمونه ادرار بیشترین میزان تولید بیوفیلم را در مقایسه با سایر نمونه‌ها داشتند (۱۸٪) (۲۹). همچنین بر اساس نتایج مطالعه ما ۸۱/۲٪ از ایزوله‌هایی که از خون گرفته شدند، بیوفیلم تشکیل دادند که با نتایج مطالعه یانگ و همکاران در چین در سال ۲۰۲۴ متفاوت است که در آن ۲۰٪ از ایزوله‌های جدا شده از خون بیوفیلم تشکیل دادند؛ این تفاوت می‌تواند به این علت باشد که روش ارزیابی بیوفیلم در مطالعه آنها بر خلاف مطالعه ما کریستال ویوله بود (۳۸). ژلاتیناز یک پروتئین ترشحی مرتبط با بیماری‌زایی است (مشابه پروتئین esp) که به کلونیزاسیون و تداوم در عفونت‌های دستگاه ادراری صعودی کمک می‌کند (۳۹). طبق نتایج مطالعه ما ۳۰/۶٪ ایزوله‌ها حاوی ژن *esp* و ۵۳/۴٪ حاوی ژن *gelE* بودند که با نتایج مطالعه رحمی و همکاران در اصفهان در سال ۲۰۱۸ (*esp* ۵۸/۸٪ و *gelE* ۷۶/۵٪) متفاوت است (۴۰). در مطالعه کیروتیجا و همکاران در چین در سال ۲۰۲۰ نیز ۶۰/۷٪ ایزوله‌ها حاوی *gelE* بودند (۴۱). بر اساس نتایج مطالعه‌ای که ما انجام دادیم ۱۰/۲٪ از ایزوله‌های حاوی *gelE* و ۷/۹٪ از ایزوله‌های حاوی *esp*، بیوفیلم قوی تشکیل دادند. که با نتایج مطالعه رزا و همکاران در ایتالیا در سال ۲۰۰۶ مغایرت دارد؛ براساس نتایج آنها ارتباطی بین این ژن‌ها و تشکیل بیوفیلم یافت نشد (۴۲). اما در مطالعه زامکان و محمد در غنا در سال ۲۰۲۱ که بر روی ایزوله‌های گرفته شده از شیر بزها و گوسفندهای مبتلا به ماستیت ساب‌کلینیکال انجام شد، مشخص شد که از بین ایزوله‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم قوی، ۱۰۰٪ حاوی *gelE* و تقریباً ۷۰٪ حاوی *esp* بودند (۴۳) که به دلیل اختلاف در منبع ایزوله‌ها، ژن‌های مورد بررسی و غیره به‌طور دقیق قابل مقایسه با مطالعه ما نیست.

در مطالعه ما مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌طور جزیی بررسی نشده است اما طبق مطالعه خلیل ماها و همکاران در شهر طائف در سال ۲۰۲۲ مقاومت آنتی‌بیوتیکی به وضوح در انتروکوک‌های تولیدکننده بیوفیلم بیشتر است (۲۱).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد اکثر ایزوله‌های موجود در مطالعه حاضر، قادر به تولید بیوفیلم بودند. همچنین اکثر *انتروکوکوس فاسیوم‌های* تشکیل‌دهنده بیوفیلم، حاوی ژن‌های بیماری‌زای *esp* و *gelE* بودند. بیشتر سویه‌های *انتروکوکوس فاسیوم* جدا شده از نمونه‌های مختلف بالینی نیز توانایی تولید بیوفیلم داشتند. با این که تعداد زیادی از سویه‌ها بیوفیلم ضعیف تشکیل دادند؛ اما تشکیل بیوفیلم به تنهایی نیز می‌تواند بر مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف اثر گذار باشد. بهتر است

مطالعات بیشتری در این زمینه انجام گیرد تا بتوانیم روش‌های درمانی مؤثرتری در برابر سویه‌های مقاوم موجود بیابیم.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله ازکارشناسان محترم بخش میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شاهرود تقدیر و تشکر می‌شود. نویسندگان این مقاله قدردانی و سپاس خود را ازآن مرکز اعلام می‌دارند.

تعارض منافع

نویسندگان تأیید می‌کنندکه‌هیچ تضاد منابعی ندارند.

حمایت مالی

حمایت مالی برای این کار وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان این پژوهش اعلام می‌دارند که نتایج گزارش شده درآن،پیش ازاین در هیچ مجله دیگری منتشر نشده است و کلیه ملاحضات اخلاقی مرتبط با نگارش و تحقیق رعایت شده‌است.

مشارکت نویسندگان

دکتر محمد باقر سهرابی:آماده‌سازی درفت اولیه و آنالیز داده‌ها، میلاد رضوانی: آماده‌سازی درفت اولیه، دکتر مهدی میرزایی: مشاوره و ویرایش مقاله و نظارت بر مطالعه، دکتر محمدعلی نوشک: ویرایش مقاله و نظارت بر مطالعه، دکتر مهدی ابراهیمی: ویرایش و آماده‌سازی بخشی از مقاله و تحلیل داده‌ها، فائزه احمدی‌فر: آماده‌سازی درفت اولیه، مژگان فضلی: جمع‌آوری داده‌ها، دکتر مرجان رشیدان: انجام روش کار و جمع‌آوری و استخراج داده‌ها و ویرایش مقاله

کد اخلاق

IR.SHMU.REC.1401.148

References

1. Zhong Z, Zhang W, Song Y, Liu W, Xu H, Xi X, et al. Comparative genomic analysis of the genus Enterococcus. Microbiological Research 2017;196:95-105. doi: 10.1016/j.micres.2016.12.009
2. Amarnani R, Rapose A. Colon cancer and enterococcus bacteremia co-affection: A dangerous alliance. Journal of infection and public health. 2017;10:681-4. doi: 10.1016/j.jiph.2016.09.009
3. Martínez LC, Álvarez CEG, Álvarez MP, del Río RdlF, Velasco CG, Enciso BS. Meningitis neonatal por Enterococcus faecalis. Revista Del Laboratorio Clínico 2018;11:101-3. doi: 10.1016/j.labcli.2017.11.007
4. Olmos C, Vilacosta I, Fernández-Pérez C, Bernal JL, Ferrera C, García-Arribas D, et al. The evolving nature of infective endocarditis in Spain: a population-based study (2003 to 2014). Journal of the American College of Cardiology 2017;70:2795-804. doi: 10.1016/j.jacc.2017.10.005
5. Shah KJ, Cherabuddi K, Shultz J, Borgert S, Ramphal R, Klinker KP. Ampicillin for the treatment of complicated urinary tract infections caused by vancomycin–resistant Enterococcus spp (VRE): a single-center university hospital experience. International Journal of Antimicrobial Agents 2018;51:57-61. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.06.008
6. Lin E, Bhusal Y, Horwitz D, Shelburne SA, Trautner BW. Overtreatment of enterococcal bacteriuria. Archives of Internal Medicine 2012;172:33-8. doi: 10.1001/archinternmed.2011.565
7. Gilmore MS, Lebreton F, Van Schaik W. Genomic transition of enterococci from gut commensals to leading causes of multidrug-resistant hospital infection in the antibiotic era. Current Opinion in Microbiology 2013;16:10-6. doi:10.1016/j.mib.2013.01.006
8. Armin S, Fallah F, Karimi A, Rashidan M, Shirdust M, Azimi L. Genotyping, antimicrobial resistance and virulence factor gene profiles of vancomycin resistance Enterococcus faecalis isolated from blood culture. Microbial Pathogenesis 2017;109:300-4. doi: 10.1016/j.micpath.2017.05.039
9. Strateva T, Atanasova D, Savov E, Petrova G, Mitov I. Incidence of virulence determinants in clinical Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium isolates collected in Bulgaria. Brazilian Journal of Infectious Diseases 2016;20:127-33. doi: 10.1016/j.bjid.2015.11.011
10. Tang SS, Apisarnthanarak A, Hsu LY. Mechanisms of β-lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community-and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. Advanced Drug Delivery Reviews 2014;78:3-13. doi: 10.1016/j.addr.2014.08.003
11. Mohamed JA, Huang DB. Biofilm formation by enterococci. Journal of Medical Microbiology 2007;56:1581-8. doi: 10.1099/jmm.0.47331-0
12. Soto SM. Importance of biofilms in urinary tract infections: new therapeutic approaches. Advances in biology. 2014;2014:543974. doi: 10.1155/2014/543974
13. Stoodley P, Cargo R, Rupp CJ, Wilson S, Klapper I. Biofilm material properties as related to shear-induced deformation and detachment phenomena. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 2002;29:361-7. doi: 10.1038/sj.jim.7000282
14. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. Emerging Infectious Diseases 2002;8:881. doi: 10.3201/eid0809.020063
15. Igbinosa EO, Beshiru A. Antimicrobial resistance, virulence determinants, and biofilm formation of Enterococcus species from ready-to-eat seafood. Frontiers in Microbiology 2019;10:728. doi: 10.3389/fmicb.2019.00728
16. Soares RO, Fedi AC, Reiter KC, Caierão J, d'Azevedo PA. Correlation between biofilm formation and gelE, esp, and agg genes in Enterococcus spp. clinical isolates. Virulence 2014;5:634-7. doi:10.4161/viru.28998
17. Zheng J-X, Wu Y, Lin Z-W, Pu Z-Y, Yao W-M, Chen Z, et al. Characteristics of and virulence factors associated with biofilm formation in clinical Enterococcus faecalis isolates in China. Frontiers in Microbiology 2017;8:2338. doi: 10.3389/fmicb.2017.02338
18. Aghdam MA, Barhaghi MS, Aghazadeh M, Jafari F, Hagh MB, Haghdoost M, et al. Virulence genes in biofilm producer Enterococcus faecalis isolates from root canal infections. Cellular and Molecular Biology 2017;63:55-9. doi: 10.14715/cmb/2017.63.5.11
19. Melo PdC, Ferreira LM, Nader Filho A, Zafalon LF, Vicente HIG, Souza Vd. Comparison of methods for the detection of biofilm formation by Staphylococcus aureus isolated from bovine subclinical mastitis. Brazilian Journal of Microbiology 2013;44:119-24. doi: 10.1590/s1517-83822013005000031
20. JF M. Biochemical tests for identification of medical bacteria. Lippinccot, Williams & Williams, Baltimore. 2000.
21. Khalil MA, Alorabi JA, Al-Otaibi LM, Ali SS, Elsilk SE. Antibiotic resistance and biofilm formation in Enterococcus spp. isolated from urinary tract infections. Pathogens 2022;12:34. doi: 10.3390/pathogens1201003.

22. Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas M, Giske C, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clinical microbiology and infection. 2012;18:268-81. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x

23. Khalil M, Sonbol F. Investigation of biofilm formation on contact eye lenses caused by methicillin resistant Staphylococcus aureus. Nigerian Journal of Clinical Practice. 2014;17:776-84. doi: 10.4103/1119-3077.144398

24. Christensen GD, Simpson WA, 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;22:996-1006. doi:10.1128/jcm.22.6.996-1006.1985

25. Stepanović S, Vuković D, Hola V, Bonaventura GD, Djukić S, Ćirković I, et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. Apmis. 2007;115:891-9. doi: 10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x

26. Vankerckhoven V, Van Autgaerden T, Vael C, Lammens C, Chapelle S, Rossi R, et al. Development of a multiplex PCR for the detection of asa1, gelE, cylA, esp, and hyl genes in enterococci and survey for virulence determinants among European hospital isolates of Enterococcus faecium. Journal of clinical microbiology. 2004;42:4473-9. doi: 10.1128/jcm.42.10.4473-4479.2004

27. Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. Journal of Clinical Microbiology 1995;33:24-7. doi: 10.1128/jcm.33.5.1434-1434.1995

28. Jahansepas A, Ahangarzadeh Rezaee M, Hasani A, Sharifi Y, Rahnamaye Farzami M, Dolatyar A, et al. Molecular epidemiology of vancomycin–resistant Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium isolated from clinical specimens in the Northwest of Iran. Microbial Drug Resistance 2018;24:1165-73. doi: 10.1089/mdr.2017.0380

29. Goudarzi M, Mobarez AM, Najar-Peerayeh S, Mirzaee M. Prevalence of biofilm formation and vancomycin-resistant genes among Enterococcus faecium isolated from clinical and environmental specimens in Lorestan hospitals. IJM 2018;10:74.

30. Shankar N, Lockatell CV, Baghdayan AS, Drachenberg C, Gilmore MS, Johnson DE. Role of Enterococcus faecalis surface protein Esp in the pathogenesis of ascending urinary tract infection. Infection and Immunity 2001;69:4366-72. doi: 10.1128/iai.69.7.4366-4372.2001

31. Mukherjee K, Bhattacharjee D, Chakraborti G, Chatterjee S. Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of Enterococcus species from various clinical samples in a tertiary care hospital in Kolkata. International Journal of Contemporary Medical Research 2016;3:1565-7. doi: 10.53555/jptcp.v31i7.6903

32. Salem-Bekhit M, Moussa I, Muharram M, Alanazy F, Hefni H. Prevalence and antimicrobial resistance pattern of multidrug-resistant enterococci isolated from clinical specimens. Indian Journal of Medical Microbiology 2012;30:44-51. doi: 10.4103/0255-0857.93032

33. Akrami S, Abouali R, Heidary Lal –Abady R Olapour M.M, Yousefi Avarvand A. Antibiotic Resistance Pattern of Enterococci Isolates from Nosocomial Infections in Imam Khomeini Hospital, Ahvaz City. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences 2023;30:6519-25. doi: 10.18502/ssu.v31i3.12809

34. Ghaziasgar F, Poursina F, Hassanzadeh A. Virulence factors, biofilm formation and antibiotic resistance pattern in Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium isolated from clinical and commensal human samples in Isfahan, Iran. Annali Di Igiene Medicina Preventiva E Di Comunita 2019;31:156-64. doi: 10.7416/ai.2019.2268

40. Rahimi N, Poursina F, sadat Ghaziasgar F, Sepehrpor S, Hassanzadeh A. Presence of virulence factor genes (gelE and esp) and biofilm formation in clinical Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium isolated from urinary tract infection in Isfahan, Iran. Gene Rep 2018;13:72-5. doi: 10.1016/j.genrep.2018.09.004

41. Kiruthiga A, Padmavathy K, Shabana P, Naveenkumar V, Gnanadesikan S, Malaiyan J. Improved detection of esp, hyl, asa1, gelE, cylA virulence genes among clinical isolates of Enterococci. BMC Res Notes 2020;13:1-7. doi: 10.1186/s13104-020-05018-0

42. Di Rosa R, Creti R, Venditti M, D'Amelio R, Arciola CR, Montanaro L, et al. Relationship between biofilm formation, the enterococcal surface protein (Esp) and gelatinase in clinical isolates of Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium. FEMS Microbiol Lett 2006;256:145-50. doi: 10.1111/j.1574-6968.2006.00112.x

43. El-Zamkan MA, Mohamed HM. Antimicrobial resistance, virulence genes and biofilm formation in Enterococcus species isolated from milk of sheep and goat with subclinical mastitis. PloS One 2021;16:e0259584. doi: 10.1371/journal.pone.0259584

35. Fallah F, Yousefi M, Pourmand M, Hashemi A, Alam AN, Afshar D. Phenotypic and genotypic study of biofilm formation in Enterococci isolated from urinary tract infections. Microbial Pathogenesis 2017;108:85-90. doi: 10.1016/j.micpath.2017.05.014

36. Hashem YA, Amin HM, Essam TM, Yassin AS, Aziz RK. Biofilm formation in enterococci: genotype-phenotype correlations and inhibition by vancomycin. Scientific Reports 2017;7:5733. doi: 10.1038/s41598-017-05901-0

37. Al-Hashimy A, Alhalaby A. Molecular identification of (Efa A) in Enterococcus fecalis and Enterococcus facium and their role in biofilm formation. Basra J Vet Res 2016. doi: 10.5555/20173094434

38. Yang J-x, Liu C-w, Wu F-w, Zhu L, Liang G-w. Molecular characterization and biofilm formation ability of Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis bloodstream isolates from a Chinese tertiary hospital in Beijing. International Microbiology 2024;27:929-39. doi: 10.1007/s10123-023-00441-2

39. Shankar N, Baghdayan AS, Gilmore MS. Modulation of virulence within a pathogenicity island in vancomycin-resistant Enterococcus faecalis. Nature 2002;417:746-50. doi: 10.1038/nature00802

Journal of Knowledge & Health
in Basic Medical Sciences 2025; Vol 19, No 4

DOI: 10.22100/jkh.v19i4.3396

Original Article

Correlation between Biofilm Formation, Presence of *Esp* and *gelE* Genes in Clinical Isolates of *Enterococcus Faecium* at Imam Hossein Hospital, Shahroud

Mohammad.B Sohrabi (M.D.)[1], Milad Rezvani (G.P.)[2], Mehdi Mirzaei (Ph.D.)[1], Mohammad Ali Noshak (Ph.D.)[1], Mehdi Ebrahimi (M.D.)[3], Faeze Ahmadifar(M.D.)[2], Mozhgan Fazli (M.Sc.)[1], Marjan Rashidan (Ph.D.)[1]

1- School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.
2- Student Research Committee, School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.
3- Department of Infectious, Imam Hossain Center for Education, Research and Treatment, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

Received: 9 November 2024**, Accepted:** 22 December 2024

Abstract:

Introduction: *Enterococcus faecium is an important hospital-acquired pathogen known for its ability to form biofilms, a feature that contributes to its virulence and resistance to antibiotic treatments. Understanding the underlying mechanisms of this ability in clinical isolates is crucial. This study investigates the phenotypic and molecular characteristics associated with biofilm production in Enterococcus faecium strains isolated from various clinical samples.*

Methods: *A total of 88 Enterococcus faecium isolates were collected from inpatients and outpatients at Imam Hossein Hospital in Shahroud during 2022-2023. The isolates were analyzed for morphology, colony characteristics, species identification, and biochemical tests. Phenotypic evaluation of biofilm production was performed using the Congo Red Agar (CRA) method and the Microtiter Plate (MTP) method. PCR was used to identify the species and detect the presence of the esp and gelE genes.*

Results: *In this study, 60 (68.1%) and 76 (86.3%) isolates were able to produce biofilms using the CRA and MTP methods, respectively. The majority of samples were obtained from urine (48.8%) and blood (18.1%) with 95.3% and 81.2% of the respective isolates producing biofilms. PCR results revealed that 30.6% of the isolates carried the esp gene, and 53.4% carried the gelE gene. All these isolates were capable of producing biofilms, with 7.9% of the esp-positive strains and 10.1% of the gelE-positive strains forming strong biofilms.*

Conclusion: *The results of our study showed that most of the clinical samples are biofilm producers, and the esp and gelE genes play an important role in biofilm formation in patients. This not only indicates the spread of contamination and the occurrence of serious diseases, but also highlights the increasing advancement of drug resistance patterns.*

Keywords: *Entrococcous faecium*, Biofilm formation, Biofilm genes, PCR.

Conflict of Interest: No

***Corresponding author**: M. Rashidan, **Email:** marjan.rashidan@yahoo.com*

Citation: Sohrabi MB, Rezvani M, Mirzaei M, Noshak MA, Ebrahimi M, Ahmadifar F, Fazli M, Rashidan M. Correlation between Biofilm Formation, Presence of *esp* and *gelE* Genes in Clinical Isolates of *Enterococcus faecium* at Imam Hossein Hospital, Shahroud. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2025;19(4):58-65.