مقاله پژوهشی

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال بیست و هفتم/ شماره ۱۰۰/ آذر ۱۳۸۸

شیوع نانوساختار لایه‌ی سطحی (Surface layer) در سویه‌های باسیلوس سرئوس جدا سازی شده از دست پرسنل و سطوح بیمارستانی

شیلا جلال پور*، دکتر روحا کسری کرمانشاهی، دکتر اشرف‌السادات نوحی***، دکتر حمید زرکش اصفهانی*****

* مدرس گروه آموزشی صنایع غذایی، دانشکده فنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرضا ، اصفهان، ایران.
** استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران.
*** استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
**** استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۰/۳
تاریخ پذیرش: ۸۸/۷/۲۶

چکیده

مقدمه: دست پرسنل بیمارستان، بیشترین تماس را با سطوح بیمارستانی دارد و مهم‌ترین عامل انتشار باکتری‌ها در بیمارستان محسوب می‌گردد.

روش‌ها: این مطالعه در سال ۸۶-۱۳۸۴ در اصفهان انجام شد. به این ترتیب که به طور تصادفی ۲۷۴ نمونه (۱۹۴ باکتری از سطوح و۸۰ باکتری از دست پرسنل) مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های محیطی با استفاده از سوآب و NB لوله‌ای از سطوح کم تماس و پر تماس و نمونه‌های دست پرسنل با روش Finger print جمع‌آوری شد، شناسایی باکتری‌ها بر اساس روش‌های میکروبیولوژیک از جمله رنگ آمیزی، تست‌های بیوشیمیایی، محیط‌های افتراقی و محیط اختصاصی باسیلوس سرئوس انجام گرفت. پس از جدا سازی پروتئین‌های سطحی، نمونه‌ها در حضور مارکر وزن مولکولی توسط SDS-PAGE الکتروفورز شد.

یافته‌ها: از ۲۷۴ باکتری مورد بررسی، شیوع باسیلوس سرئوس در نمونه‌های مزبور ۹/۴۹ درصد، در سطوح بیمارستانی و دست پرسنل بیمارستان به ترتیب ۶/۷ و ۱۶/۲۵ درصد بود. از ۱۳ باسیلوس سرئوس جدا سازی شده از دست پرسنل بیمارستان ۱۱ مورد (۸۴/۶ درصد) و از ۱۳ باسیلوس سرئوس جدا سازی شده از سطوح بیمارستانی ۱ مورد (۷/۷ درصد) مولد نانوساختار لایه‌ی سطحی بوده‌اند.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل بیانگر انتشار قابل ملاحظه‌ی باسیلوس سرئوس در دست پرسنل و سطوح بیمارستانی، همچنین نشان دهنده‌ی فراوانی نانوساختار لایه‌ی سطحی در باسیلوس سرئوس‌های جدا سازی شده از دست پرسنل در مقایسه با باسیلوس سرئوس‌های جدا سازی شده از سطوح بیمارستانی می‌باشد.

واژگان کلیدی: **لایه‌ی سطحی، باسیلوس سرئوس، دست پرسنل، سطوح بیمارستان، عفونت‌های بیمارستانی.**

تعداد صفحات: ۱۴
تعداد جدول‌ها: –
تعداد نمودارها: ۵
تعداد منابع: ۴۱

آدرس نویسنده مسؤول: شیلا جلال پور، کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مدرس غیر هیأت علمی، گروه آموزشی صنایع غذایی، دانشکده فنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرضا و عضو باشگاه پژوهشگران جوان، اصفهان، ایران.

E-mail: shilla.jalalpoor@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

پوشش‌های سلولی از جنبه‌های متعددی برای حیات ارگانیسم‌های پروکاریوتی حایز اهمیت می‌باشند و از آن جا که تمامی واکنش‌ها و سنتزها در باکتری به واسطه‌ی اطلاعاتی است که از سطح سلول به داخل ارسال می‌گردد، در واقع می‌توان گفت تنها پل حسی و ارتباطی باکتری با محیط پیرامون، ساختارهای سطحی موجود آن است. ساختارهای سلولی پروکاریوتی، متشکل از غشای سیتوپلاسمی، سیتوپلاسم و ساختارهای خارج دیواره‌ای است؛ اغلب باکتری‌ها واجد ساختارهای خارج دیواره‌ای گلیکوکالیکس (کپسول)، تاژک، تاژه، تار و لایه‌ی سطحی Surface layer (S-layer) نیز می‌باشند (۲-۱).

با وجودی که بیش از پنج قرن از بررسی‌های شیمیایی روی دیواره‌ی سلولی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌گذرد، نانوساختار لایه‌ی سطحی، جدیدترین ساختار سطحی شناسایی شده در پروکاریوت‌ها محسوب می‌گردد. با انجام بیش از سه دهه تحقیق، امروزه مشخص گردیده است یکی از متداول‌ترین ساختارهای سطحی موجود در اکثر آرشی‌ها و باکتری‌ها، یک ساختار کریستالی منظم و تک لایه‌ای است که از زیر واحدهای مشابه پروتئینی یا گلیکوپروتئینی به‌وجود آمده است. این ساختار خارجی‌ترین پروتئین دیواره‌ی سلولی در پروکاریوت‌ها محسوب می‌گردد. در طول این سه دهه اسامی مختلفی برای این ساختار پیشنهاد شده است از جمله ساختار منظم، پروتئین فراکریستالی، ساختار سطحی کریستالی باکتریایی و ...، اما امروزه این ساختار، لایه‌ی سطحی نامیده می‌شود (۵-۲).

پروتئین‌های موجود در یک سلول به طور کلی به دو دسته‌ی پروتئین‌های سطحی و پروتئین‌های داخلی تقسیم‌بندی می‌گردند. پروتئین‌های سطحی در برابر عوامل محیطی بسیار پایدار شده‌اند در صورتی که پروتئین‌های داخلی در برابر عوامل خارجی حساس می‌باشند و به همین دلیل توسط پوشش‌های سلولی محافظت می‌شوند. از آن جهت که نانوساختار لایه‌ی سطحی یک پروتئین خارج سلولی می‌باشد، در برابر تغییرات فیزیکی و شیمیایی بسیار پایدار است و در واقع می‌توان گفت حضور لایه‌ی سطحی، در انتخاب طبیعی باکتری تحت شرایط متفاوت محیطی، نقش مهمی ایفا می‌کند (۵، ۳، ۱).

لایه‌ی سطحی از زیر واحدهای پروتئینی یا گلیکوپروتئینی مشابهی به وجود آمده است. به زیر واحدهای تشکیل‌دهنده‌ی لایه‌ی سطحی واحدهای مورفولوژیکی گفته می‌شود. یک واحد مورفولوژیکی حاوی ۱، ۲، ۳، ۴ یا ۶ زیر واحد مشابه است. گردهمایی و تجمع واحدهای مورفولوژیکی منجر به شکل‌گیری یک شبکه‌ی منظم کریستالی متقارن در سطح باکتری‌ها می‌گردد (۴).

لایه‌ی سطحی شبکه‌ای پویا و بسته است که از سطح انرژی آزاد کمی برخوردار می‌باشد. این شبکه در حین تقسیم سلولی باز می‌شود و به این ترتیب زیر واحدهای جدید به ساختار قبلی اضافه می‌گردد. زیر واحدهای قدیمی لایه‌ی سطحی تکیه گاهی برای اضافه شدن زیر واحدهای جدید محسوب می‌شوند و افزایش میزان پروتوپلاسم سلولی عاملی برای سنتز زیر واحدهای جدید لایه‌ی سطحی می‌باشد. سنتز زیر واحدهای جدید در حین فرایندهای رشد و تقسیم سلولی به دقت کنترل می‌شود و به همین علت است که مقادیر اندکی از زیر واحدها به محیط کشت

Archive of SID
www.SID.ir

انتقال می‌یابد. انتقال زیر واحدهای سنتز شده به سطح سلول توسط یک قطعه‌ی ترشحی که در ناحیه‌ی N ترمینال زیر واحدها قرار دارد انجام می‌پذیرد. قطعه‌ی مزبور پس از انتقال زیر واحد به غشای پلاسمایی از آن جدا می‌گردد. پایداری و بقای لایه‌ی سطحی روی سلول اهمیت ویژه‌ای دارد. زیرواحدهای تشکیل‌دهنده‌ی لایه‌ی سطحی به واسطه‌ی پیوندهای غیر کووالانسی با زیر واحدهای مجاور خود و پوشش سلولی پیوند برقرار می‌کنند. اتصال و پیوند زیر واحدهای لایه‌ی سطحی به یکدیگر و به پوشش سلولی از نوع پیوندهای یونی، هیدروژنی و آب‌گریز می‌باشد (۶، ۳، ۱).

لایه‌ی سطحی در باکتری‌های گرم منفی از طریق ترکیبات موجود در غشای خارجی از جمله لیپوپلی‌ساکارید و در باکتری‌های گرم مثبت از طریق پلیمرهای ثانویه دیواره‌ی سلولی، به دیواره‌ی سلولی باکتری اتصال می‌یابد. لایه‌ی سطحی در آرشی‌های فاقد دیواره‌ی سلولی به غشای پلاسمایی متصل می‌گردد (لازم به ذکر است که لایه‌ی سطحی در آرشی‌ها تنها، ترکیب موجود در دیواره‌ی سلولی آن‌ها محسوب می‌شود) (۷-۵، ۱).

جدا سازی پروتئین‌های لایه‌ی سطحی از سطح سلول با به کارگیری غلظت‌های بالای موادی که توانایی شکستن پیوندهای هیدرونی را دارا می‌باشند از جمله گوانیدین هیدروکلراید و اوره همچنین افزایش یا کاهش pH و به کارگیری مواد فلزی چلات کننده (EDTA ،EGTA) امکان‌پذیر می‌باشد. جدا سازی لایه‌ی سطحی در باکتری‌های گرم منفی اغلب با به کارگیری مواد فلزی چلات کننده و محلول‌های کاتیونی (جایگزینی یون سدیم با یون کلسیم) و ایجاد تغییراتی در pH محیط ($pH > ۴$) به خوبی انجام می‌گیرد. این در حالی است که جدا سازی لایه‌ی سطحی در باکتری‌های گرم مثبت اغلب با به کارگیری اوره یا گوانیدین هیدروکلراید انجام پذیر می‌باشد (۴-۱).

لایه‌ی سطحی سبب پایداری و استحکام دیواره‌ی سلولی، شکل‌دهی به سلول به ویژه در آرشی‌ها، همچنین باعث حفاظت باکتری در برابر عوامل محیطی از جمله حرارت‌های زیاد، تغییرات pH، پروتئازهای خارج سلولی، استرس‌های مکانیکی ناشی از فشارهای اسمزی و تغییرات فشاری و فشار ناشی از محلول‌های یونی می‌گردد (۸، ۵).

لایه‌ی سطحی عملکردهای گوناگونی دارد که از جمله مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به خاصیت ویرولانس بودن آن اشاره کرد. لایه‌ی سطحی خاصیت اتصال و چسبندگی دارد و به این ترتیب می‌تواند به سلول‌های میزبان و سطوح محیطی متصل می‌شود. همچنین با مهار فاگوسیتوز و دفاع غیر اختصاصی میزبان، منجر به پایداری عفونت در میزبان گردد. همچنین باعث مهار تهاجم برخی از باکتری‌های انگل از جمله بدلو ویبریو (Bdellovibrio) و برخی از فاژها به باکتری نیز می‌شود. از آن جا که یک شبکه‌ی لایه‌ی سطحی از یک نوع زیر واحد به وجود آمده است، در نتیجه منافذ چنین شبکه‌ای از نظر اندازه، مورفولوژی، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی تشابه کامل یکدیگر می‌باشند و همچون یک غربالگر در سطح باکتری، بر اساس اندازه و وزن مولکولی، مولکول‌ها مانع ورود برخی ماکرومولکول‌ها به داخل باکتری می‌گردند و می‌تواند به عنوان نوعی فیلتر مولکولی در سطح سلول عمل کند و با نفوذپذیری انتخابی از ورود برخی مولکول‌ها مانند آنتی‌بیوتیک‌ها و آنزیم‌های مضر به داخل باکتری

Archive of SID
www.SID.ir

ممانعت به عمل آورد. بنا بر آن چه بیان گردید می‌توان این چنین اظهار داشت که لایه‌ی سطحی یک عامل ویرولانس در باکتری‌ها محسوب می‌گردد و نقش مؤثری در افزایش بیماری‌زایی باکتری‌های پاتوژن به عهده دارد. به این ترتیب که فقدان آن در باکتری‌های پاتوژن منجر به کاهش یا فقدان توان بیماری‌زایی در باکتری می‌گردد (۱۰-۸، ۲).

از جمله باکتری‌های پاتوژن واجد این ساختار می‌توان به گونه‌های ریکتسیا، ترپونما، باکتریوئیدس، کلامیدیا، آئرومونـاس، کلستریدیوم، کمپیلوباکتر و باسیلوس اشاره کرد (۱۱، ۸، ۱).

دانشمندان از باسیلوس‌ها به طور ویژه‌ای در شناسایی و بررسی عملکرد نانوساختار لایه‌ی سطحی استفاده می‌کنند. به این ترتیب که اطلاعات حاصل از چگونگی تجمع زیر واحدهای لایه‌ی سطحی در شرایط زنده (in-vivo) و شرایط آزمایشگاهی (in-vitro)، اغلب به واسطه‌ی بررسی لایه‌ی سطحی موجود در باسیلوسی‌ها حاصل شده است (۳، ۱).

پیرامون ما جمعیت متنوعی از میکروارگانیسم‌ها حضور دارند، به گونه‌ای که باکتری‌ها حجم عمده‌ای از بیوماس محیط‌های خاکی آبی و مواد آلی در حال تجزیه را تشکیل می‌دهند، با توجه به نقش دست پرسنل و سطوح بیمارستانی در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی، حضور باکتری‌ها در دست پرسنل و سطوح بیمارستانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. برای ایجاد عفونت‌های بیمارستانی وجود چند شاخصه ضروری است؛ این شاخصه‌ها عبارتند از وجود سطوحی که توانایی حفظ و نگهداری باکتری‌ها را دارا باشند و حضور یک عامل انتقال دهنده‌ی باکتری‌ها از روی سطوح به بیماران بستری در بیمارستان. بنابراین حضور باکتری‌های در دست پرسنل و سطوح بیمارستانی، در نهایت به گسترش عفونت‌های بیمارستانی منتهی می‌گردد. تراکم باکتری‌ها در محیط بیمارستان باید به دقت کنترل شود؛ چرا که بنا بر شرایط خاص حاکم بر بیمارستان (تردد زیاد افراد، حضور بیماران عفونی و ...) باکتری‌ها به سرعت در آن جا منتشر می‌شوند (۱۶-۱۲).

سطوح بیمارستانی و دست پرسنل منابع بالقوه‌ای در حفظ و نگهداری، انتقال و انتشار باکتری‌ها در بیمارستان مطرح می‌شوند و ارتباط محسوسی با ایجاد عفونت‌های بیمارستانی دارند. به عبارت دیگر کنترل باکتری‌ها در سطوح بیمارستانی و دست پرسنل باعث کنترل و مهار عفونت‌های بیمارستانی می‌گردد. سطوح بیمارستانی منابع بالقوه‌ی ذخیره باکتری‌ها محسوب می‌گردند. اما باکتری‌ها به خودی خود از توان انتقال و انتشار محدودی در محیط برخوردار بوده، تنها در حضور یک عامل انتقالی می‌تواند به سرعت در محیط بیمارستان و بیماران بستری منتشر گردند. دست پرسنل بیمارستان مهم‌ترین عامل انتقال و انتشار باکتری‌ها در بیمارستان می‌باشد. به طور کلی انتقال میکروارگانیسم‌ها در بیمارستان با ۲ روش انجام می‌گیرد: انتقال مستقیم میکروارگانیسم‌ها شامل انتقال میکروارگانیسم‌ها از یک بیمار به بیمار دیگر و انتقال غیرمستقیم میکروارگانیسم‌ها شامل انتقال میکروارگانیسم‌های گذرای موجود روی دست پرسنل بیمارستان که به واسطه‌ی تماس با سطوح آلوده یا تماس با بیماران آلوده شده‌اند. لازم به ذکر می‌باشد بنا بر اهمیّت دست پرسنل در انتقال و انتشار باکتری‌ها در محیط بیمارستان مبحث کنترل عفونت در معنی مدرن، توسط Ignaz Semmelweis در سال ۱۸۴۰، در پی

Archive of SID
www.SID.ir

اثبات اهمیت بهداشت دست پرسنل بیمارستان، در کنترل عفونت‌های بیمارستانی مطرح گردیده است (۱۳-۱۲).

باسیلوس‌ها به واسطه‌ی تولید اسپور در همه جا حضور دارند و به راحتی انتشار می‌یابند. باسیلوس سرئوس از جمله‌ی گونه‌های جنس باسیلوس می‌باشد. این باکتری پیشتر به عنوان یک گونه‌ی غیر بیماری‌زا محسوب می‌گردید و تصور می‌شد دامنه‌ی بیماری‌زایی آن به مسمومیت غذایی و گاستروانتریت که اغلب به واسطه‌ی تولید توکسین رخ می‌داد (سویه‌های باسیلوس سرئوس، یک توکسین تهوع‌آور و سه انتروتوکسین تولید می‌کنند) محدود می‌گردد (۱۸-۱۷).

به تازگی سویه‌های باسیلوس سرئوس به طور فزاینده‌ای از عفونت‌های غیر گاستروانتریتی نظیر اندوکاردیت، عفونت زخم، استئومیلت، منتژیت و عفونت‌های داخل و اطراف دندان، جداسازی می‌گردد. همچنین عفونت ریشه و اطراف دندان به دنبال مصرف غذاهای آلوده به باسیلوس سرئوس نیز در حال افزایش می‌باشد (۲۳-۱۹).

باسیلوس سرئوس امروزه به عنوان یک باکتری بیماری‌زای انسانی و از جمله باکتری‌های عامل عفونت‌های بیمارستانی، به ویژه در افراد مبتلا به نقص در سیستم ایمنی محسوب می‌گردد. عفونت‌های بیمارستانی ناشی از باسیلوس سرئوس در دو گروه طبقه‌بندی می‌شوند: گاستروانتریت و عفونت‌های غیر گاستروانتریتی. عفونت‌های غیر گاستروانتریتی عبارتند از عفونت‌هایی که در نتیجه‌ی انتقال و انتشار باسیلوس سرئوس توسط وسایل آلوده‌ی پزشکی (وسایل آلوده‌ی جراحی، دستکش، باند و ...) یا توسط پرسنل بیمارستان در بیماران بستری در بیمارستان به‌وجود می‌آیند (۲۵-۲۴).

از جمله عفونت‌های غیر گاستروانتریتی باسیلوس سرئوس عبارتند از: ۱. باکتریمی و اندوکاردیت؛ باکتریمی و اندوکاردیت باسیلوسی به واسطه‌ی ورود باکتری توسط سرنگ یا سوزن آلوده به بدن رخ می‌دهد. باکتریمی باسیلوسی یکی از عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شود و اغلب به‌دنبال مصرف کاتتر داخل وریدی به وقوع می‌پیوندد؛ ۲. عفونت‌های چشمی؛ اندوفتالمی باسیلوسی که اغلب به دنبال جراحت‌های چشمی و به ندرت متعاقب جراحی قرنیه رخ می‌دهد؛ ۳. عفونت ماهیچه‌های اسکلتی؛ گونه‌های باسیلوسی می‌تواند منجر به عفونت‌های ماهیچه‌های اسکلتی و منجر به استئومیلت حاد و مزمن گردد؛ ۴. عفونت در میزبان حساس، عفونت‌های وخیم باسیلوسی اغلب در بیماران دچار نقص در سیستم ایمنی از جمله افرادی که دچار عفونت در سیستم عصبی مرکزی می‌باشند (منتژیت و آبسه‌ی مغزی و انسفالیت منتژیتی) مشاهده می‌گردد. همچنین کسانی که دچار عفونت در مجاری تنفسی، زخم‌های عفونی عمیق، باکتریمی اولیه، عفونت‌های پس از عمل، سپسیس و سوختگی شده‌اند نیز مستعد عفونت‌های وخیم باسیلوسی محسوب می‌گردند (۱۴).

بنا بر آن‌چه بیان گردید انتشار سویه‌های باسیلوس سرئوس واجد نانوساختار لایه‌ی سطحی در سطوح بیمارستان و دست پرسنل، در نهایت منجر به گسترش عفونت‌های بیمارستانی مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها می‌گردند که این امر منجر به صدمات روحی جسمی و اقتصادی قابل ملاحظه‌ای بر بیماران و جامعه می‌گردد.

Archive of SID
www.SID.ir

نظر به نقش و اهمیت باسیلوس سرئوس به عنوان یکی از باکتری‌های عامل ایجاد عفونت‌های بیمارستانی، همچنین نقش دست پرسنل بیمارستان در انتقال و انتشار باکتری‌ها در بیمارستان و اهمیت سطوح بیمارستانی به عنوان منابع بالقوه حفظ و ذخیره سازی باکتری‌ها، در این پژوهش به بررسی و مقایسه‌ی انتشار باسیلوس سرئوس در سطوح بیمارستانی و دست پرسنل بیمارستان، همچنین بررسی و مقایسه‌ی تولید نانوساختار لایه‌ی سطحی در سویه‌های باسیلوس سرئوس جدا سازی شده از دست پرسنل بیمارستان و سطوح بیمارستان پرداخته شد (۲۷-۲۶، ۱۴، ۱۲، ۹).

روش‌ها

این تحقیق در سال‌های ۸۶- ۱۳۸۴ و در بیمارستان فوق تخصصی الزهرا (س) و دانشکده‌ی علوم دانشگاه اصفهان انجام گرفت. در این پژوهش نمونه‌های محیطی از سطوح کم تماس و پر تماس بیمارستانی از جمله صندلی، میز کنار تخت، کف اتاق، تشک پلاستیکی و لبه‌ی کنار پنجره‌ی اتاق بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان مانند بخش اطفال، جراحی، عفونی، CCU، ICU و ... جمع‌آوری گردید. برای تهیه‌ی نمونه از سطوح بیمارستان از روش جمع‌آوری نمونه‌های محیطی با استفاده از سوآب و محیط NB لوله‌ای استفاده شد؛ به این ترتیب که تحت شرایط استریل سر سوآب را وارد لوله حاوی محیط کشت کرده و پس از مرطوب شدن سر سوآب، به سرعت آن را روی سطح مورد نظر کشیده سپس سوآب به داخل محیط NB انتقال داده شد. پس از انتقال نمونه‌های جمع‌آوری شده به آزمایشگاه تحت شرایط آسپتیک، با استفاده از لوپ همزمان هر نمونه روی محیط‌های Blood agar و EMB، به روش خطی کشت داده شد. برای تهیه‌ی نمونه از دست پرسنل از روش Fingerprint technique استفاده شد (۱۴، ۱۲، ۱۰).

برای این منظور، نمونه‌ها به طور مستقیم با تماس مستقیم سرانگشتان دست پرسنل، همزمان روی محیط‌های Blood agar و EMB جمع‌آوری گردید. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد در انکوباتور گرماگذاری شدند و در نهایت کلنی‌های رشد کرده روی پلیت‌ها جداسازی و خالص سازی گردیدند. شناسایی جنس یا گونه‌ی باکتری‌های خالص سازی شده با انجام روش‌های میکروبیولوژیک نظیر رنگ‌آمیزی گرم، رنگ‌آمیزی اسپور، تست‌های بیوشیمیایی مانند تست‌های TSI، DNase، IMViC، کاتالاز، اکسیداز و استفاده از محیط‌های پایه، افتراقی و اختصاصی از جمله محیط‌های بلادآگار، نوترینت براث، مک کانکی، ائوزین متیلن بلو، سالمونلا-شیگلا، محیط اختصاصی باسیلوس سرئوس انجام گرفت؛ از آن‌جا که هدف این پژوهش، بررسی نانوساختار لایه‌ی سطحی در باسیلوس سرئوس بود، پس از جدا سازی اولیه (بر مبنای تست‌های بیوشیمیایی و ...) در نهایت برای جدا سازی باسیلوس سرئوس از میان سایر گونه‌های جنس باسیلوس از محیط اختصاصی Bacillus cereus selective agar base استفاده شد (۱۴).

برای شناسایی نانوساختار لایه‌ی سطحی، باکتری‌های ایزوله شده در محیط TSA غنی شده با ۰/۶ درصد عصاره‌ی مخمر به مدت ۱۶ ساعت تحت شرایط هوازی کشت داده شد (۲۸، ۱۱).

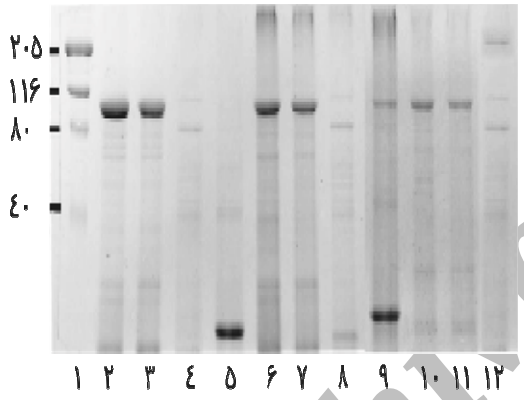
پس از گذشت مدت زمان لازم، پروتئین‌های سطحی آن‌ها جدا سازی و توسط SDS-PAGE

Archive of SID
www.SID.ir

شکل ۱. کلنی باسیلوس سرئوس روی محیط Blood agar (بالا) و محیط اختصاصی باسیلوس سرئوس (پایین)

آنالیز گردید. جدا سازی پروتئین‌های سطحی با اضافه کردن فسفات بافر سالین (PBS) با pH = ۷/۴ روی پلیت حاوی باکتری و با استفاده از یک میله‌ی شیشه‌ای سرکج انجام گرفت. سپس سوسپانسیون باکتریایی به‌مدت ۶ دقیقه در دور ۳۰۰۰ گرم سانتریفوژ و دوباره رسوب حاصل در PBS سوسپانسیون گردید. دوباره سوسپانسیون در PBS به OD = ۰/۶ (λ = ۴۵۰ nm) رسانده شد و در نهایت سوسپانسیون سانتریفوژ و رسوب حاصل در ۵۰۰ µl از DS-Tris-HCL ۱ درصد با pH = ۸ سوسپانسیون گردید و سوسپانسیون به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در Shaker با سرعت ۸۰ دور در دقیقه تکان داده شد. همچنین برای رنگ‌آمیزی پروتئین‌های سطحی از Sample buffer استفاده گردید. برای این منظور ۱۵ میکرولیتر سوسپانسیون به همراه ۵ میکرولیتر از Sample buffer به مدت ۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بن ماری شد (۲۸).

نمونه‌های آماده سازی شده توسط SDS-PAGE الکتروفورز شد. ژل به مدت ۱۰۰ دقیقه تحت ولتاژ ۸۰ ولت الکتروفورز و پس از طی مدت زمان مزبور ژل به آرامی از دستگاه خارج و رنگ‌آمیزی شد. رنگ‌آمیزی ژل با استفاده از محلول کماسی بلو به مدت ۱ ساعت در Shaker با سرعت ۸۰ دور در دقیقه انجام گرفت. برای خارج کردن رنگ‌های اضافه از ژل در این مرحله ژل رنگ‌بری شد. رنگ‌بری ژل با استفاده از محلول متانول به‌مدت ۱۵-۵ دقیقه روی Shaker با سرعت ۸۰ دور در دقیقه انجام گردید. سپس با مقایسه‌ی جایگاه مکانی باندهای مارکر پروتئینی روی ژل، با نمونه‌های مورد بررسی به تفسیر نتایج پرداخته شد. (شکل ۲) (۲۹).



شکل ۲. الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سطحی سویه‌های باسیلوس سرئوس در SDS-PAGE

(ستون ۱: مارکر، ستون‌های ۱۲-۲ باسیلوس سرئوس‌های جدا سازی شده از دست پرسنل و سطوح بیمارستان)

برای انجام این پژوهش به تعداد حداقل ۱۹۲ نمونه نیاز بود، اما با توجه به گستردگی نمونه‌های محیطی و وجود سطوح پرتماس و کم تماس (دسته‌بندی مزبور جزء اهداف این پژوهش بوده است)، همچنین به دلیل بالا بردن دقت در محاسبات آماری، ۱۹۴ نمونه‌ی محیطی و ۸۰ نمونه از دست پرسنل بیمارستان مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها با استفاده از آمار توصیفی و آزمون آماری χ^2

Archive of SID

www.SID.ir

در نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) تجزیه و تحلیل شد.

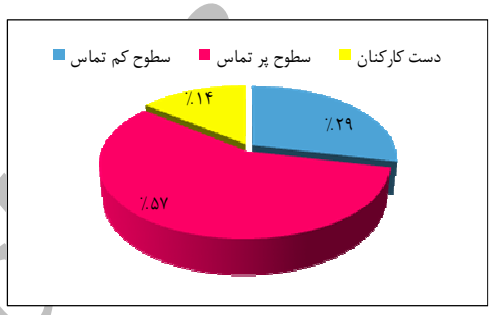
$P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری آزمون‌های آماری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

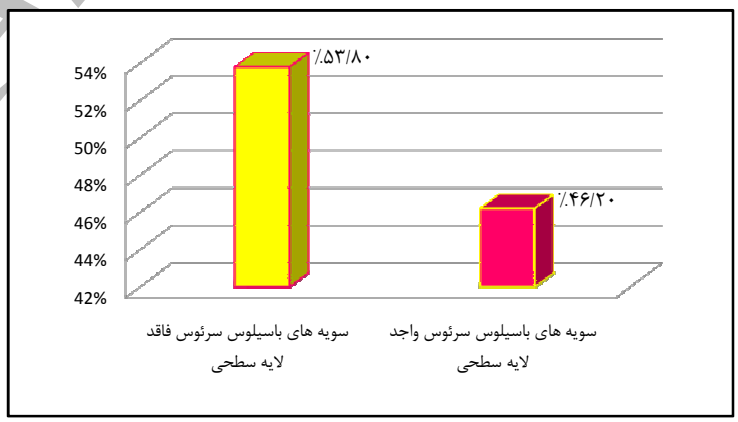
با بررسی ۲۷۴ باکتری (۱۹۴ باکتری جدا سازی شده از سطوح بیمارستان و ۸۰ باکتری از دست پرسنل بیمارستان) مشخص گردید ۵۷ درصد از گونه‌های باسیلوس از سطوح بزرگ بیمارستان شامل کف و دیوار جد اسازی و ۱۴ درصد از گونه‌های باسیلوس از دست پرسنل بیمارستان جدا سازی شده‌اند. انجام آزمون χ^2 نشان داد توزیع فراوانی گونه‌های باسیلوس بر حسب منبع جدا سازی اختلاف آماری معنی‌دار دارد ($P = ۰/۰۰۵$).

بر اساس نتایج به دست آمده شیوع باسیلوس سرئوس در نمونه‌های مورد بررسی ۹/۴۹ درصد بود؛ به این ترتیب که شیوع این باکتری در سطوح بیمارستانی و دست پرسنل بیمارستان به‌ترتیب ۶/۷ درصد و ۱۶/۲۵ درصد بوده است.

از ۲۶ نمونه‌ی باسیلوس سرئوس مورد بررسی ۴۶/۲۰ درصد واجد نانوساختار لایه‌ی سطحی و ۵۳/۸۰ درصد فاقد نانوساختار لایه‌ی سطحی بودند؛ به این ترتیب که ۱۱ مورد از باسیلوس سرئوس‌های جدا سازی شده از دست پرسنل بیمارستان و تنها یک مورد باسیلوس سرئوس جدا سازی شده از سطوح بیمارستان واجد لایه‌ی سطحی بوده است. انجام آزمون χ^2 نشان داد توزیع فراوانی سویه‌های باسیلوس مولد نانوساختار لایه‌ی سطحی بر حسب منبع جدا سازی اختلاف آماری معنی‌دار دارد (نمودارهای ۱ تا ۳).

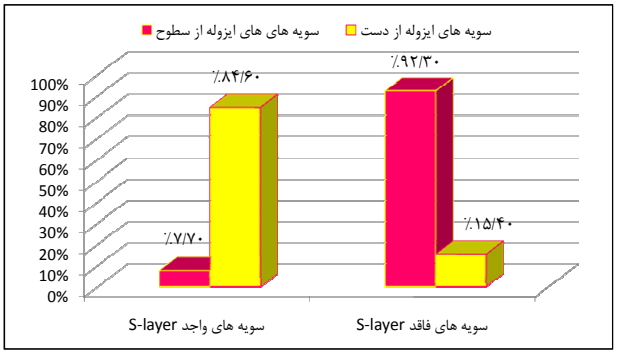


نمودار ۱. درصد فراوانی گونه‌های باسیلوس، بر حسب منبع جدا سازی



نمودار ۲. توزیع فراوانی سویه‌های باسیلوس سرئوس واجد S-layer

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۳. مقایسه‌ی فراوانی لایه‌ی سطحی در باسیلوس سرئوس‌های جدا سازی شده از سطوح بیمارستانی و دست پرسنل

بحث

بر اساس نتایج حاصل، فراوانی باسیلوس سرئوس در دست پرسنل و سطوح بیمارستانی ۹/۴۹ درصد و فراوانی نانوساختار لایه‌ی سطحی در نمونه‌های مورد بررسی ۴۶/۲۰ درصد بود. ۸۴/۶۰ درصد از باسیلوس سرئوس‌های جدا سازی شده از دست پرسنل واجد نانوساختار لایه‌ی سطحی بودند، این در حالی است که تنها ۷/۷۰ درصد از باسیلوس سرئوس‌های جدا سازی شده از سطوح بیمارستان، واجد نانوساختار لایه‌ی سطحی بود.

بررسی‌های اپیدمیولوژیک پیرامون انتشار گونه‌های باسیلوس در بیمارستان‌های ایران مشخص کرده است که بیشترین باکتری‌های جدا سازی شده از محیط بیمارستان، گونه‌های باسیلوس است (۳۳-۳۰).

بر اساس مطالعه‌ی دیگری در بیمارستان هاجر شهرکرد مشخص گردید که گونه‌های باسیلوس ۳۶/۲ درصد از باکتری‌های جدا سازی شده از وسایل غیر پزشکی در بیمارستان را به خود اختصاص داده‌اند (۳۱).

در یک مطالعه‌ی مشابه در سایر کشورها، دست ۳۷ درصد از پرسنل بیمارستان، آلوده به گونه‌های باسیلوس بوده و بر اساس مطالعه‌ای دیگر، فراوانی سویه‌های باسیلوس سرئوس در دست پرسنل مراکز درمانی ۱۵ درصد بوده است (۳۴، ۲۵).

بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش، بیش از نیمی از گونه‌های باسیلوس (۵۷ درصد) جدا سازی شده از منابع مورد بررسی، از سطوح بزرگ بیمارستان به دست آمده‌اند. همچنین فراوانی باسیلوس سرئوس در دست پرسنل بیمارستان ۱۶/۲۵ درصد بوده است که نتایج حاصل با نتایج به دست آمده از پژوهش‌های انجام شده در این راستا هماهنگی دارد و تمامی نتایج مبین انتشار گسترده‌ی گونه‌های باسیلوس در سطوح بیمارستان و باسیلوس سرئوس در دست پرسنل بیمارستان می‌باشد.

در ارتباط با لایه‌ی سطحی، تاکنون تحقیقی در ایران صورت نپذیرفته است و این پژوهش اوّلین مطالعه در خصوص این ساختار در ایران می‌باشد. بر اساس نتایج حاصل از پژوهشی دیگردر سال ۱۹۸۸ که بر روی چهار سویه (دو سویه‌ی استاندارد ATCC 14579T و ATCC 4342 و دو سویه‌ی بالینی OH599 و OH600) باسیلوس سرئوس انجام گردید، دو سویه‌ی جداسازی شده از نمونه‌های بالینی واجد لایه‌ی سطحی بودند، در صورتی‌که سویه‌های استاندارد فاقد لایه‌ی سطحی بوده‌اند (۲۸).

Archive of SID

www.SID.ir

بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش، ۸۴/۶۰ درصد از باسیلوس سرئوس‌های جدا سازی شده از دست پرسنل واجد نانوساختار لایه‌ی سطحی بوده‌اند، این در حالی است که تنها ۷/۷۰ درصد از باسیلوس سرئوس‌های جدا سازی شده از سطوح بیمارستان واجد نانوساختار لایه‌ی سطحی بوده‌اند. بنابراین نتایج حاصل با نتایج به دست آمده از پژوهش‌های مشابه در این راستا هماهنگی دارد. با توجه به این نکته که باکتری‌های جدا سازی از دست و باکتری‌های جدا سازی شده از نمونه‌های بالینی، هر دو تحت شرایط زیستی محسوب می‌گردند، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که بیان ژن‌های مولد نانوساختار لایه‌ی سطحی، که منجر به افزایش بیماری‌زایی باکتری می‌گردد، اغلب در شرایط زیستی انجام می‌گیرد تا شرایط غیر زیستی و باکتری در شرایط غیر زیستی انرژی و توان خود را صرف بیان ژن‌هایی که فرآورده‌ی آن‌ها برای ادامه‌ی حیات باکتری لزومی ندارد، صرف نمی‌کند (۳۹-۳۵).

انتشار باکتری‌های واجد لایه‌ی سطحی در محیط حساس بیمارستان که از یک سو بیماران مستعد عفونت در آن جا بستری می‌شوند و از سوی دیگر بنا بر شرایط حاکم بر بیمارستان انتشار باکتری‌ها در آن‌جا با سرعت بیشتری انجام می‌گیرد، منجر به ایجاد عفونت‌های بیمارستانی مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها و در نهایت انتشار باکتری‌های مقاوم در جامعه می‌گردد. بنابراین پیشنهاد می‌شود با کنترل تراکم باکتری‌ها از انتشار و انتقال عوامل ویرولانس در آن‌ها تا حد امکان ممانعت به‌عمل آید. بهترین راه برای نیل به این هدف، ارتقای کیفیت مواد ضدعفونی کننده و دست شویه‌های مصرفی در بیمارستان‌ها و جلوگیری از انتقال کنترل نشده‌ی باکتری به محیط بیمارستان و بالعکس می‌باشد.

پیشنهاد می‌گردد در راستای کنترل تراکم باکتری‌ها موارد زیر مورد توجه قرار گیرد:

۱- اعمال محدودیت برای ترددهای غیر ضروری در بیمارستان (ملاقات‌کنندگان) که در نتیجه‌ی این امر از یک سو، انتقال باکتری‌ها از محیط خارج به داخل بیمارستان کاهش می‌یابد و از سوی دیگر، انتقال باکتری‌های مقاوم از بیمارستان به محیط خارج و در نهایت به جامعه کنترل می‌گردد.

۲- استفاده از وسایل کاهش انتقال باکتری‌ها مانند جوراب، کفش، ماسک و لباس‌های یک‌بار مصرف برای افرادی که در بیمارستان، به خصوص در بخش‌های عفونی، تردد دارند.

۳- نمونه‌برداری دایم به خصوص از سطوح پر تماس و بررسی کمی و کیفی باکتری‌های موجود بر سطوح.

۴- به کارگیری مواد ضد عفونی کننده‌ی مناسب و کارآمد برای ضدعفونی کردن سطوح بیمارستان.

۵- به کارگیری دست‌شویه‌های استاندارد جهت ضد عفونی دست‌های پرسنل بیمارستان (۴۰، ۲۷-۲۶، ۱۳).

نتیجه‌گیری

ارگانیسم‌های عامل عفونت‌های بیمارستانی می‌توانند از طریق بیماران ترخیص شده، پرسنل بیمارستان و ملاقات‌کنندگان به جامعه انتقال یابند که این امر منجر به انتشار بیماری‌های خطرناکی در جامعه می‌گردد (۱۶).

نظر به اهمیت نقش باکتری‌های موجود بر سطوح بیمارستانی به ویژه سطوح پر تماس پیشنهاد می‌گردد با ایجاد اختلال در زنجیره‌ی عفونت که از ۲ طریق امکان دارد، با حفظ بهداشت دست و تمیز کردن و ضد عفونی کردن سطوح، از انتشار باکتری‌ها در بیمارستان و جامعه

Archive of SID
www.SID.ir

جلوگیری به عمل آید (۴۰، ۱۵، ۱۳-۱۲).

اگرچه بهداشت دست و حذف یا کاهش ارگانسیم‌های پوستی نقش مهمی در کاهش انتقال و انتشار ارگانیسم‌ها دارد، اما تمیز کردن و ضد عفونی کردن سطوح، اوّلین گام جهت اختلال در زنجیره‌ی عفونت محسوب می‌گردد. تمیز کردن یعنی آلودگی‌زدایی و حذف آلودگی‌های قابل مشاهده از سطوح (یعنی ذرات گرد و غبار، خاک و ...). ذکر این نکته حایز اهمیت می‌باشد که جهت به حداقل رساندن ارگانیسم‌های موجود روی سطوح، ابتدا باید سطوح تمیز و سپس ضد عفونی و استریل گردد (۱۲).

پیشنهاد می‌شود ضمن ارتقای کیفیت دست شویه‌ها و مواد ضدعفونی‌کننده‌ی سطحی، نظارت و آموزش کمیته‌های کنترل عفونت در بیمارستان‌ها فعال‌تر گردد. همچنین از آن‌جا که بیماران دچار عفونت یا حامل ارگانیسم‌های پاتوژن، منابع بالقوه‌ای برای انتشار و انتقال عفونت در محیط بیمارستان و سایر بیماران بستری و پرسنل محسوب می‌گردند، پیشنهاد می‌شود با ایزوله کردن این بیماران از انتشار باکتری‌های پاتوژن در بیمارستان جلوگیری به عمل آید (۴۱، ۱۶).

تقدیر و تشکر

کمال تشکر و قدردانی خود را از مدیریت بیمارستان فوق تخصصی الزهرا (س)، مدیریت آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان، مدیریت بخش مجلات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، کمیته کنترل عفونت بیمارستان الزهرا (س)، آقای دکتر اردشیر طالبی، آقای دکتر مهرداد معمارزاده، آقای دکتر کامیار مصطفوی‌زاده، آقای سینا مباشری‌زاده، آقای فریبرز کیانپور، آقای محسن حسینی بالام، خانم کبری مقصودی، آقای مهندس علی مهرابی و تمامی عزیزانی که در به ثمر رسیدن این پژوهش یارای ما بودند، اعلام می‌نمایم.

References

1. Sara M, Sleytr UB. S-Layer proteins. J Bacteriol 2000; 182(4): 859-68.
2. Kaiser GE. The prokaryotic cell: bacteria. [Online]. [cited 2007 Sep]. Available from URL: http://student.ccbcmd.edu/courses/bio141/lecguide/unit1/prostruct/cw.html.
3. Sara M, Sleytr UB. Crystalline bacterial cell surface layers (S-layers): from cell structure to biomimetics. Prog Biophys Mol Biol 1996; 65(1-2): 83-111.
4. Pum D, Sleytr UB. The application of bacterial S-layers in molecular nanotechnology. Tibtech January 1999; 17: 8-12.
5. Engelhardt H, Peters J. Structural research on surface layers: a focus on stability, surface layer homology domains, and surface layer-cell wall interactions. J Struct Biol 1998; 124(2-3): 276-302.
6. Schaffer C, Messner P. The structure of secondary cell wall polymers: how Gram-positive bacteria stick their cell walls together. Microbiology 2005; 151(Pt 3): 643-51.
7. Schaffer C, Messner P. Glycobiology of surface layer proteins. Biochimie 2001; 83(7): 591-9.
8. 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(2): 47-9.
9. Messner P, Steiner K, Zarschler K, Schaffer C. S-layer nanoglycobiology of bacteria. Carbohydr Res 2008; 343(12): 1934-51.
10. Reynolds E. Food, hands and bacteria. [Online]. [cited 2006 July 8]. Available from: URL: http://pubs.caes.uga.edu/caespubs/pubcd/B693.htm.
11. Kotiranta AK, Ito H, Haapasalo MP, Lounatmaa K. Radiation sensitivity of Bacillus cereus with and without a crystalline surface protein layer. FEMS Microbiol Lett 1999; 179(2): 275-80.
12. Sehulster L, Chinn RY. Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). MMWR Recomm Rep 2003; 52(RR-10): 1-42.
13. Larson EL. APIC guideline for hand washing

Archive of SID
www.SID.ir

and hand antisepsis in health care settings. Am J Infect Control 1995; 23(4): 251-69.
14. Winn Jr W, Allen S, Janda W, Kooneman E, Procop G, Schreckenberger P, et al. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p. 775-9.
15. Hand washing, cleaning, disinfection and sterilization in health care. Can Commun Dis Rep 1998; 24(Suppl 8): i-55.
16. World Health Organization. Prevention of hospital-acquired infections; a practical guide. 2nd ed. Geneva: WHO; Department of Communicable Disease, Surveillance and Response, 2002. p. 12.
17. Beecher DJ, Schoeni JL, Wong AC. Enterotoxic activity of hemolysin BL from Bacillus cereus. Infect Immun 1995; 63(11): 4423-8.
18. Granum PE, Lund T. Bacillus cereus and its food poisoning toxins. FEMS Microbiol Lett 1997; 157(2): 223-8.
19. Kemmerly SA, Pankey GA. Oral ciprofloxacin therapy for Bacillus cereus wound infection and bacteremia. Clin Infect Dis 1993; 16(1): 189.
20. Maiden MF, Lai CH, Tanner A. Characteristics of oral gram-positive bacteria. In: Slots J, Taubman MA, Editors. Contemporary oral microbiology and immunology. St. Louis: Mosby; 1992: 342-72.
21. Schricker ME, Thompson GH, Schreiber JR. Osteomyelitis due to Bacillus cereus in an adolescent: case report and review. Clin Infect Dis 1994; 18(6): 863-7.
22. Steen MK, Bruno-Murtha LA, Chaux G, Lazar H, Bernard S, Sulis C. Bacillus cereus endocarditis: report of a case and review. Clin Infect Dis 1992; 14(4): 945-6.
23. Barrie D, Hoffman PN, Wilson JA, Kramer JM. Contamination of hospital linen by Bacillus cereus. Epidemiol Infect 1994; 113(2): 297-306.
24. Thuler LC, Velasco E, Souza Martins CA, de Faria LM, da Fonseca NP, Dias LM, et al. An outbreak of Bacillus species in a cancer hospital. Infect Control Hosp Epidemiol 1998; 19(11): 856-8.
25. Van Der Zwet WC, Parlevliet GA, Savelkoul PH, Stoof J, Kaiser AM, Van Furth AM, et al. Outbreak of Bacillus cereus infections in a neonatal intensive care unit traced to balloons used in manual ventilation. J Clin Microbiol 2000; 38(11): 4131-6.
26. Pittet D, Hugonnet S, Harbarth S, Mourouga P, Sauvan V, Touveneau S, et al. Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene. Infection Control Programme. Lancet 2000; 356(9238): 1307-12.
27. Boyce JM, Pittet D. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. Society for Healthcare Epidemiology of America/Association for Professionals in Infection Control/Infectious Diseases Society of America. MMWR Recomm Rep 2002; 51(RR-16): 1-45, quiz.
28. Kotiranta A, Haapasalo M, Kari K, Kerosuo E, Olsen I, Sorsa T, et al. Surface structure, hydrophobicity, phagocytosis, and adherence to matrix proteins of Bacillus cereus cells with and without the crystalline surface protein layer. Infect Immun 1998; 66(10): 4895-902.
29. Sambrook J. Molecular cloning: A laboratory manual. 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.
30. Hakimi Najafabadi SH. Overview of bacterial contamination of Inhalation equipments. Proceedings of the 8th National Congress of Microbiology; 2006 May 23-25; Isfahan, Iran. 2006. p. 103.
31. Aliakbary F; Aslany Y; Saadat M; Etemadifar SH. Overview of contamination non medical equipments hospitals in Shahrekord Health Education. Proceedings of the National Student Congress on the Role of Health Service Staff in Prevention of Hospital Infections; 2007 May 17-18; Isfahan, Iran. 2007. p. 26.
32. Mansuori F; Banitabay Hematyar SH. Overview of bacterial culture in operations room in selective hospital in Isfahan Medical Science University (2005-2006). Proceeding of the National Student Congress on the Role of Health Service Staff in Prevention of Hospital Infections; 2007 May 17-18; Isfahan, Iran. 2007. p. 128.
33. Nasiry Razin B. Overview of bacterial in operations room environment in hospitals Shahid Beheshty University. Proceedings the 3rd National Congress of Microbiology; 2000 September; Hamedan, Iran. 2000.
34. 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, table.
35. Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Isfahani H. Survey role of nano structure surface layer in B. cereus st resistant to beta lactam antibiotic and beta lactamase production. Proceedings of the 10th Iranian Congress of Microbiology; 2009 April 21-23; Ilam, Iran. 2009. p. 277.
36. Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Isfahani H. Inhibition role of surface layer into introduction beta lactam antibiotics in B. cereus st isolated of environment and staff hands. Proceedings of the 3rd Iranian Congress of Clinical Microbiology; 2009 October 6-8; Shiraz, Iran. 2009. p. 185.

Archive of SID

www.SID.ir

37. Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Isfahani H. Study prevalence nano structure surface layer and beta lactamase in B. cereus st. Proceedings of the 3rd Iranian Congress of Clinical Microbiology; 2009 October 6-8; Shiraz, Iran. 2009. p. 185.

38. Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Isfahani H. Determination nano structure surface layer in B. cereus. Proceedings of the 2nd International Biology Congress; 2008 February 6-7; Tehran, Iran. 2008. p. 14.

39. Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Isfahani H. Survey effect of in-vivo and in-vitro condition on expression of surface layer genes in bacteria. J Iran Chem Soc 2009; 6(suppl): S11.

40. Pratt RJ, Pellowe C, Loveday HP, Robinson N, Smith GW, Barrett S, et al. The epic project: developing national evidence-based guidelines for preventing healthcare associated infections. Phase I: Guidelines for preventing hospital-acquired infections. Department of Health (England). J Hosp Infect 2001; 47(Suppl): S3-82.

41. Kim JM, Park ES, Jeong JS, Kim KM, Kim JM, Oh HS, et al. Multicenter surveillance study for nosocomial infections in major hospitals in Korea. Nosocomial Infection Surveillance Committee of the Korean Society for Nosocomial Infection Control. Am J Infect Control 2000; 28(6): 454-8.

Archive of SID

www.SID.ir

Original Article

Journal of Isfahan Medical School
Vol 27, No 100, December 2009

Received: 2008.12.23
Accepted: 2009.10.18

The Prevalence of Nano-structure Surface Layer in Bacillus Cereus Strains Isolated from Staff Hands and Hospital Surfaces

Shilla Jalalpoor MSc[*], Rooha Kasra Kermanshahi PhD[**], Ashraf Sadat Noohi PhD[***], Hamid Zarkesh Isfahani PhD[****]

[*] Department of Food Industrial, Islamic Azad University of Shahraza Branch, Isfahan. Iran.
[**] Professor, Department of Biology, School of Basic Sciences, University of Al-zahra, Tehran, Iran.
[***] Professor, Department of Biology, School of Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
[****] Associate Professor, Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

Abstract

Background: S-layer protects bacteria to the phagocytosis and prohibits the entry of some biomolecules and adhesion molecules to the matrix proteins which increase the stability of infection and antibiotic resistance in virulence agents. Therefore the spread of bacteria which have S-layer in the hospitals should be avoided. Surfaces can serve as reservoirs of potential pathogen and is important in the chain of infection. Surfaces bacteria have low potential to spread, but staff hands have many contacts with hospital surfaces, especially with high contact surfaces. Therefore it could be a potential source of bacteria transmission from surfaces.

Methods: This research was performed in the Al-zahra hospital of Isfahan University of Medical Sciences (2005 to 2007). 274 samples were randomly selected (194 sample from surface and 80 sample from staff hand). Environmental samples collected, from high and low contact surface with swab in NB and staff hand. Samples were collected through finger print method and identification of bacteria, were performed with microbiological methods: staining, chemical test, use of differential and selective media. Isolated Bacillus cereus strains, performed with Bacillus cereus Selective Agar, for preparation samples, in first culture Bacteria in TSA, for 16h, then separated surface proteins and finally, specimen's electrophoresis proximally molecular weight marker. S-layer in Bacillus cereus has 97KD molecular weight.

Findings: According to the results, the prevalence of Bacillus cereus strains was 9.49%. The prevalence of Bacillus cereus strains in environmental and staff hands were respectively 6.7% and 16.25%, and of 13 isolated Bacillus cereus from, staff hand 11 strain (84.6%) and from 13 isolated Bacillus cereus from environmental samples 1 strain (7.7%) production S-layer.

Conclusion: We found a high prevalence Bacillus cereus in staff hands and hospital surfaces and frequency surface layer in Bacillus cereus isolated of staff hands into hospital surfaces.

Key words: **Surface layer, Bacillus cereus, Staff hands, Hospital surfaces, Nosocomial infections.**

Page count: 14
Tables: -
Figures: 5
References: 41

Address of Correspondence: Shilla Jalalpoor, MSc of Microbiology, Department of Food Industrial, Islamic Azad University of Shahraza Branch and Member of Young Researcher Club, Isfahan. Iran.
E-mail: shilla.jalalpoor@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir