Arch

مجله دانشکده علوم پزشکی نیشابور

www.journalnums.ac.ir

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 12:18 IRST on Tuesday January 12th 2021

مقایسه روش‌های کنگو رد آگار و کدورت لوله در تشکیل بیوفیلم در جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه* از موارد عفونت های ادراری بیمارستان ثامن الائمه بجنورد

مجید جمشیدیان مجاور[۱]، حمید رضا فرزین[۱*]، محدثه امیری[۲]

۱- استادیار موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شعبه مشهد، ایران

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته باکتری شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه باهنر کرمان،ایران

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۳۱

***نویسنده مسئول:** حمیدرضا فرزین، مشهد، خیابان احمد آباد، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی.

تلفن: ۰۹۱۵۳۰۹۴۲۱۳۰

پست الکترونیک:

hrfarzin@yahoo.com

چکیده

مقدمه

بیوفیلم را می‌توان یک اجتماع باکتریایی نامید که اغلب بر روی سطوح زنده یا غیر زنده تشکیل می‌شوند و در محیط طبیعی، صنعتی و بیمارستان‌ها شایع می‌باشند. *کلبسیلا پنومونیه* به عنوان یک عامل پاتوژن، پتانسیل بالقوه‌ای در ایجاد بیوفیلم دارد. پی بردن تشکیل بیوفیلم در باکتری های تشکیل دهنده‌ی بیوفیلم دارای اهمیت می باشد. هدف از انجام این پژوهش بررسی تشکیل بیوفیلم در جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه* از موارد عفونت‌های ادراری بیمارستان ثامن الائمه بجنورد به دو روش فنوتیپی کنگورد آگار و کدورت لوله می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در مطالعه‌ی حاضر ۳۰ نمونه از کشت‌های مثبت دارای جدایه *کلبسیلا* از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری مراجعه کننده به بیمارستان ثامن الائمه شهرستان بجنورد مورد بررسی قرار گرفت. جهت تایید جدایه‌ها تست‌های بیوشیمیایی از قبیل رنگ‌آمیزی گرم، اوره، سیمون سیترات و TSI انجام گرفت. جدایه‌ها جهت تشکیل بیوفیلم به روش کنگو رد آگار و کدورت لوله مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها

در این پژوهش در بررسی تولید بیوفیلم به روش کنگوردآگار ۵۰ درصد جدایه‌ها دارای بیوفیلم قوی و ۱۶/۶۶ درصد دارای بیوفیلم متوسط بودند. هم‌چنین در بررسی به روش کدورت لوله ۳۳/۳۳ درصد جدایه‌ها دارای بیوفیلم قوی و ۴۰ درصد دارای بیوفیلم متوسط بودند.

نتیجه‌گیری

در دو روش مورد مطالعه جدایه‌های مورد مطالعه قادر به تولید بیوفیلم بودند. با توجه به تولید بیوفیلم در باکتری‌ها و اهمیت آن در بیماری‌زایی و ایجاد افزایش مقاومت باکتری در برابر آنتی‌بیوتیک‌های متداول بررسی تولید بیوفیلم بسیار مهم می‌باشد.

کلیدواژه‌ها

کلبسیلا پنومونیه، عفونت ادراری، تشکیل بیوفیلم، کنگوردآگار، کدورت لوله

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 12:18 IRST on Tuesday January 12th 2021

مقدمه

بیوفیلم (زیست لایه) به مجموعه‌ای از سلول‌های میکروبی گفته می‌شود که به صورت برگشت ناپذیر با یک ماتریکس از مواد پلی‌ساکاریدی محصور شده و در روی یک سطح بهم متصل شده‌اند (۱). بیوفیلم‌های باکتریایی می‌توانند شامل یک یا چندگونه مختلف از باکتری‌ها باشندکه قادرانند ساختارها ی پیچیده و گوناگونی را بسازند. این ساختارها به صورت گسترده در طبیعت و در محیط‌های گوناگون از جمله فرمانتورهای مواد غذایی، لوله‌های حفاری چاه نفت و بدنه کشتی‌ها یافت می‌شوند (۲، ۳). بیوفیلم‌های مرتبط با بیماری در انسان باعث ایجاد عفونت‌ها و یا تشدید عفونت‌هایی از قبیل عفونت‌های دستگاه تنفسی فوقانی، پریتونیت، عفونت‌های ادراری تناسلی و بیماری‌های مرتبط با تجهیزات پزشکی مانند قلب مصنوعی در ارتباط هستند (۴). بیوفیلم‌ها به دلیل افزایش مقاومت ارگانیسم‌های تشکیل دهنده‌ی آن نسبت به داروهای ضد میکروبی و توانایی ایجاد عفونت در بیمارانی که وسایل پزشکی در بدن آن ها کار گذاشته شده است به عنوان یک مشکل جدی در بهداشت عمومی قلمداد می‌شوند. تشکیل و رشد بیوفیلم فرآیندی پویا و فعال است که شامل مراحل اتصال اولیه، تشکیل میکرو کلنی (تشکیل لایه اولیه)، تولید ماده‌ی پلی مریک خارج سلولی، رشد و بلوغ و در نهایت تولید ساختار سه بعدی و فرم بالغ بیوفیلم می‌باشد (۵، ۶). بیان و بروز بیوفیلم وابسته به حضور قندهایی مانند گلوگز، کلریدسدیم و شرایط محیطی دیگری است (۷). بیوفیلم باکتری دارای نقش‌هایی از قبیل محافظت از سلول باکتری‌ها در مقابل آسیب‌های خارجی است که این امر سبب ادامه‌ی حیات آن ها در بدن میزبان می شود؛ بدین‌گونه که در بدن میزبان مورد نظر ماکروفاژها به راحتی می‌تواند سلول‌های پلانکتونیک را از بین ببرد. از این رو باکتری‌هایی که توانایی تولید بیوفیلم را دارند می‌توانند به راحتی از سیستم ایمنی بدن فرار نموده و سبب ایجاد عفونت‌های مزمن گردند (۸). روش‌های آزمایشگاهی مختلفی جهت ارزیابی تولید بیوفیلم در باکتری‌ها وجود دارد مانند مشاهده آن با میکروسکوپ‌هایی از قبیل میکروسکوپ لیزری اسکن کانفوکال و یا روش فنوتیپی کمی مانند میکروتیتر پلیت و مشاهده آن با رنگ‌هایی مانند کریستال ویوله که در این در روش رنگ آمیزی با کریستال ویوله جدایه‌هایی که توانایی تشکیل بیوفیلم بالا دارند در دیواره چاهک بیوفیلم تشکیل می‌دهند و رنگ کریستال ویوله را به خود می‌گیرند که بعدا می‌توان آن را با حل کردن در محلول اسید اسیتیک ارزیابی کرد. مشاهده کلنی‌های باکتری بر روی سطح یک محیط جامد مانند روش کنگورد آگار و روش کدورت لوله از جمله روش‌های کیفی سنجش بیوفیلم می‌باشند (۹، ۱۰). امروزه از روش مولکولی همانند PCR جهت شناسایی عوامل ژنتیکی مرتبط با تشکیل بیوفیلم نیز استفاده می‌گردد. (۱۱). بررسی آزمایشگاهی تولید بیوفیلم توسط باکتری‌ها می‌تواند با انتخاب محیط کشت خاص تحت تاثیر قرار گیرد. شرایطی که باکتری در طی رشد با آن مواجه است می‌تواند تولید بیوفیلم را تا حد زیادی ترغیب یا سرکوب نموده و یا باعث ایجاد بیوفیلم با ساختاری غیرمعمول گردد (۱۲). هدف از این مطالعه بررسی توانایی تولید بیوفیلم به روش‌های کنگوردآگار و کدورت لوله برای تشخیص بیوفیلم جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه* به دست آمده از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری مراجعه‌کننده به بیمارستان ثامن الائمه بجنورد است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه

در مطالعه‌ی حاضر ۳۰ نمونه از کشت‌های مثبت دارای جدایه *کلبسیلا* از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری مراجعه کننده به بیمارستان ثامن الائمه شهرستان بجنورد

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 12:18 IRST on Tuesday January 12th 2021

مورد بررسی قرار گرفت. باکتری‌هایی که دارای کلنی‌های صورتی، صاف و موکوسی بودند به عنوان جدایه‌های مشکوک *کلبسیلا* انتخاب شدند. جهت تایید جدایه‌ها تست‌های بیوشیمیایی از قبیل اوره (مرک-آلمان)، سیمون سیترات (مرک-آلمان)، TSI (مرک-آلمان)، SIM (مرک-آلمان) و محیط‌های مایع MR,VP (مرک-آلمان) و رنگ آمیزی گرم انجام گرفت (۱۳، ۱۴).

تشخیص تولید بیوفیلم در جدایه‌های *کلبسیلا*

تمامی جدایه‌ها به منظور شناسایی تشکیل بیوفیلم با دو روش کنگورد آگار و لوله مورد بررسی قرار گرفتند.

روش کنگو رد آگار

به منظور تهیه این محیط ابتدا محیط برین هرت اینفوژن براث (مرک-آلمان) به همراه آگار (مرک-آلمان) را تهیه نموده و معرف کنگورد (مرک-آلمان) را نیز به صورت جداگانه به فرم محلول آبی تهیه کرده، سپس دو محلول فوق اتوکلاو گردید. پس از اتوکلاو محیط فوق ساکارز (مرک-آلمان) را فیلتر نموده و به محیط اضافه شد. به منظور بررسی بیوفیلم باکتری ذکر شده، تک کلنی از جدایه‌های مورد نظر را از محیط مک کانکی به محیط کنگو رد انتقال داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند (۱۵).

روش کدورت در لوله

ابتدا جدایه‌های مورد نظر را در محیط تریپتیکاز سوی آگار (مرک-آلمان) کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای۳۷ درجه انکوبه گردیدند. پس از طی مدت زمان انکوباسیون تک کلنی از باکتری مورد نظر را به محیط تریپتیکاز سوی براث (مرک–آلمان) به همراه دو درصد گلوگز (مرک-آلمان) انتقال داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه گردیدند. پس از طی مدت زمان انکوباسیون لوله‌ها را با بافر فسفات شستوشو داده و پس از خشک شدن لوله‌ها با کریستال ویوله یک درصد رنگ آمیزی شدند؛ سپس رنگ‌های اضافی را با کمک آب مقطر استریل شستوشو داده و اجازه می‌دهیم تا لوله‌ها در دمای محیط خشک شوند. نتایج مربوط به جدایه‌های تشکیل دهنده‌ی بیوفیلم بر اساس میزان ضخامت رنگ کریستال ویوله بر روی جداره و ته لوله گزارش گردید (۱۵).

آنالیز آماری

آزمون حساسیت و ویژگی برای روش‌های کنگورد آگار و کدورت در لوله از رابطه زیر محاسبه گردید و با استفاده از نرم افزارSPSS (نسخه ۲۲) و منحنی راک بررسی شد.

$$\text{حساسیت} = \frac{\text{مثبت حقیقی}}{\text{منفی کاذب + مثبت حقیقی}} \times 100$$

$$\text{ویژگی} = \frac{\text{منفی حقیقی}}{\text{مثبت کاذب + منفی حقیقی}} \times 100$$

یافته‌ها

نتایج تعیین حساسیت به روش کنگورد آگار و کدورت لوله

نتایج حاصل از جدایه‌های *کلبسیلا* تشکیل دهنده‌ی بیوفیلم با روش کنگورد آگار براساس خصوصیات ظاهری کلنی‌های آن‌ها تفسیر گردیدند. جدایه‌های مورد مطالعه از لحاظ تولید بیوفیلم به سه گروه تقسیم بندی شدند؛ جدایه‌های دارای کلنی‌های سیاه و لبه‌های خشن، جدایه‌های دارای کلنی‌های قرمز رنگ با لبه‌های خشن و جدایه‌های که دارای کلنی‌های صورتی رنگ با سطحی صاف که به ترتیب به عنوان تولید کننده‌های بیوفیلم قوی، متوسط و عدم تولید بیوفیلم در نظر گرفته شدند.

در بین جدایه‌های مورد مطالعه در روش کنگورد آگار ۵۰ درصد دارای بیوفیلم قوی، ۱۶/۶۶ درصد دارای بیوفیلم متوسط و ۳۳/۳۳ درصد فاقد بیوفیلم بودند.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 12:18 IRST on Tuesday January 12th 2021

بیوفیلم قوی (وجود کلنی‌های سیاه رنگ نشان دهنده‌ی بیوفیلم قوی)

بیوفیلم متوسط (وجود کلنی‌های قرمز نشان دهنده‌ی بیوفیلم متوسط)

. فاقد بیوفیلم (وجود کلنی‌هایی صورتی رنگ)

تصویر ۱- تشکیل بیوفیلم در محیط کنگورد آگار

نتایج حاصل از جدایه‌های *کلبسیلا* تشکیل‌دهنده‌ی بیوفیلم در روش کدورت لوله بر اساس ضخامت رنگ کریستال ویوله بر جدار لوله و کف لوله مورد بررسی قرار گرفت. جدایه‌هایی که دارای لایه‌ی ضخیم و قابل روئیت رنگ در کف و جدار لوله بودند؛ جدایه‌هایی که دارای لایه‌ای نازک‌تر از رنگ در کف و جدار لوله بودند و جدایه‌هایی که فاقد هر گونه لایه‌ای از رنگ در کف و جدار لوله بودند و به ترتیب، بیوفیلم قوی، بیوفیلم متوسط و فاقد بیوفیلم دسته‌بندی شدند. براساس نتایج بدست آمده ۳۳/۳۳ درصد دارای بیوفیلم قوی، ۴۰ درصد دارای بیوفیلم متوسط و ۲۶/۶۶ درصد فاقد بیوفیلم بودند.

تصویر ۲- تشکیل بیوفیلم به روش کدورت لوله

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 12:18 IRST on Tuesday January 12th 2021

در تصویر بالا لوله شماره ۱ بیانگر بیوفیلم قوی (دارای لایه ی ضخیم و قابل روئیت رنگ در کف و جدار لوله)، لوله شماره ۲ نشان‌دهنده بیوفیلم متوسط (دارای لایه ای نازک تر در کف و جدار لوله) و لوله شماره ۳ جدایه‌های فاقد بیوفیلم (فاقد هر گونه لایه ای از رنگ در کف و جدار لوله) را نشان می‌دهد.

جدول شماره ۱- آنالیز آماری روش‌های کنگورد آگار و کدورت لوله تشکیل بیوفیلم

روش‌های تشخیص بیوفیلم	حساسیت (درصد)	ویژگی (درصد)
کنگورد اگار	٪ ۶۴/۲۸	٪ ۵۴/۵۴
کدورت لوله	٪ ۴۵/۵	٪ ۴۰

بحث

باکتری‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم در بیشتر بیماری‌های عفونی نقش به سزایی را ایفا می‌کنند و یکی از معضلات مهم در بیماری‌های عفونی از جمله عفونت ادراری می‌باشند. از بین بردن و هم‌چنین درمان باکتری‌های دارای بیوفیلم به علت وجود فنوتیپ مقاوم، دشوار می‌باشد. این مطالعه به بررسی روش‌های فنوتیپی (روش کنگورد آگار و روش کدورت لوله) تولید بیوفیلم در جدایه‌های *کلبسیلا* بدست آمده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری پرداخته است. نتایج بدست آمده از این پژوهش بیانگر ۵۰ درصد بیوفیلم قوی و ۱۶/۶۶درصد بیوفیلم متوسط در روش کنگورد آگار و هم-چنین ۳۳/۳۳ درصد و ۴۰ درصد به ترتیب دارای بیوفیلم قوی و متوسط در روش کدورت لوله بودند. از جمله کاستی های این مطالعه می‌توان به تعداد کم نمونه‌های مورد مطالعه و هم‌چنین بررسی یک عفونت (عفونت ادراری) اشاره نمود. دادگر و همکاران در سال ۲۰۱۹ در گرگان در مطالعه‌ای تولید بیوفیلم به روش‌های فنوتیپی و ژنوتیپی در جدایه‌های کلینیکی و ناقل *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از مطالعه‌ی دادگر و همکاران در ارتباط با نمونه‌های کلینیکی نشان داد که ۳۶درصد جدایه‌ها دارای بیوفیلم قوی و ۲۲ درصد جدایه‌ها دارای بیوفیلم متوسط در روش کدورت لوله و هم‌چنین ۲۹ درصد دارای بیوفیلم قوی و ۱۹ درصد دارای بیوفیلم متوسط در روش کنگو رد آگار بودند. نتایج بدست آمده در مطالعه‌ی دادگر و همکاران در روش‌های کدورت لوله و کنگورد آگار تقریبا مشابه نتایج مطالعه حاضر می‌باشد (۱۶).

نصرتی و همکاران در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۷ بر روی ۱۰۰ نمونه بدست آمده از موارد عفونت ادراری، تولید بیوفیلم را به روش‌های کدورت لوله و کنگورد آگار بررسی نمودند. در این پژوهش ۴ درصد جدایه دارای بیوفیلم قوی، ۶۵ درصد جدایه دارای بیوفیلم متوسط و ۳۱ درصد فاقد بیوفیلم در روش کنگورد آگار بودند. در بررسی جدایه‌ها به روش کدورت لوله ۲۳ درصد دارای بیوفیلم قوی و ۵۹ درصد دارای بیوفیلم متوسط بودند (۱۷). در مقایسه مطالعه‌ی نصرتی و مطالعه‌ی حاضر میزان تشکیل بیوفیلم در روش کنگورد آگار در این مطالعه بیشتر بوده ولی در مقایسه با روش کدورت لوله دارای تشابه می‌باشند. از دلایل میزان تفاوت نتایج در این دو مطالعه را می‌توان به توانایی گوناگون این دو باکتری در استفاده از فاکتورهای محیطی اشاره نمود.

Karigoudar و همکاران در سال ۲۰۱۹ در هندوستان به بررسی میزان مقاومت جدایه‌ها و بیوفیلم در جدایه‌های *اشریشیاکلی* جدا شده از موارد عفونت ادراری به روش کنگورد آگار و کدورت لوله پرداختند. نتایج بدست آمده نشان داد که ۷۷/۶ درصد جدایه‌ها دارای بیوفیلم و ۲۲/۴ درصد فاقد بیوفیلم در روش کنگو رد آگار بودند. هم‌چنین میزان تولید بیوفیلم به روش کدورت لوله نیز در این مطالعه صورت پذیرفت که ۶۶/۷ درصد دارای بیوفیلم قوی و ۳۳/۳

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 12:18 IRST on Tuesday January 12th 2021

درصد فاقد بیوفیلم بودند (۱۸). درصدهای بدست بدست از مطالعه Karigoudar و همکاران دارای اختلاف با پژوهش فوق می‌باشد که این امر می‌تواند در اثر مقاوم شدن باکتری مذکور در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در خط درمانی عفونت ادراری باشد.Panda و همکاران در هندوستان در سال ۲۰۱۵، به بررسی حساسیت و ویژگی بیوفیلم باکتری‌های *اشریشیاکلی*، *کلبسیلا* و *سودوموناس* به روش‌های کنگو رد آگار و روش کدورت لوله پرداختند. که میزان حساسیت در روش کدورت لوله ۸۱ درصد و ویژیگی آن ۹۳/۹ درصد بود و در روش کنگو رد آگار ۱۶/۸ درصد و ۹۳/۰۹ درصد به ترتیب میزان حساسیت و ویژیگی گزارش گردید (۱۹). نتایج مطالعه حاضر با نتایج بدست آمده با Panda و همکاران در ویژیگی و حساسیت جدایه‌ها در تولید بیوفیلم متفاوت می‌باشد که این امر می‌تواند نشان دهنده‌ی تفاوت در میزان رعایت بهداشت فردی در این دو منطقه‌ی گوناگون باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به تولید بیوفیلم در باکتری‌ها و اهمیت آن در بیماری‌زایی و ایجاد افزایش مقاومت باکتری در برابر آنتی-بیوتیک‌های متداول، بررسی تولید بیوفیلم بسیار مهم می-باشد و علاوه بر روش‌های بررسی فنوتیپی بیوفیلم در باکتری‌ها، روش‌های ژنوتیپی نیز باید ارائه گردد که در این پژوهش به آن پرداخته نشده است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان از کارکنان آزمایشگاه تحقیقات مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه شمال شرق کشور که از هیچ کوششی در راستای انجام این مطالعه دریغ ننمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله ابراز می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی وجود ندارد.

References

1. Giaouris E, Heir E, Hébraud M, Chorianopoulos N, Langsrud S, Møretrø T, *et al*. Attachment and biofilm formation by foodborne bacteria in meat processing environments: causes, implications, role of bacterial interactions and control by alternative novel methods. Meat Science. 2014; 97(3):298-309. www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174013002179
2. Adabi M, Talebi Taher M, Arbabi L, Afshar M, Fathizadeh S, Minaeian S, *et al*. Determination of antibiotic resistance pattern of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients with burn wounds. JArUMS. 2015; 15(1):66-74. [Persian]. http://jarums.arums.ac.ir/
3. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science. 1999; 284(5418):1318-22. https://science.sciencemag.org/content/284/5418/1318
4. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. Nature. 2004; 2(2):95-108. https://www.nature.com/articles/nrmicro821
5. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. Annu Rev Microbiol. 1995; 49(1):711-45 .https://www.annualreviews.org
6. Høiby N, Bjarnsholt T, Givskov M, Molin S, Ciofu O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. Int. J Antimicrob Agents. 2010; 35(4):322-32. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924857910000099

www.SID.ir

Archive of SID

7. Potter A, Ceotto H, Giambiagi-deMarval M, dos Santos KR, Nes IF, de Freire Bastos MD. The gene bap, involved in biofilm production, is present in *Staphylococcus spp*. strains from nosocomial infections. J. Microbiol. 2009; 47(3):319-26. link.springer.com/article/10.1007/s12275-009-0008.
8. Gabrilska RA, Rumbaugh KP. Biofilm models of polymicrobial infection. Future microbiology. 2015; 10(12):1997-2015. https://www.futuremedicine.com/doi/abs/10.2217/fmb.15.109
9. Kawamura H, Nishi J, Imuta N, Tokuda K, Miyanohara H, Hashiguchi T, *et al*. Quantitative analysis of biofilm formation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains from patients with orthopaedic device-related infections. Immunol Med Microbiol. 2011; 63(1):100-105. https://academic.oup.com/femspd/article/63/1/10/549024
10. Joo HS, Otto M. Molecular basis of in vivo biofilm formation by bacterial pathogens. Chemistry & biology. 2012; 19(12):1503-13. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074552112004231
11. Hancock V, Dahl M, Klemm P. Abolition of biofilm formation in urinary tract *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolates by metal interference through competition for fur. AEM. 2010; 76(12):3836-41. https://aem.asm.org/content/76/12/3836.short
12. Moori-Bakhtiari N, Moslemi M. Phenotypic evaluation of biofilm producing ability in Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. FEYZ. 2017; 20(6):525-31. [Persian] http://feyz.kaums.ac.ir/browse.php?a_id=3226&sid=1&slc_lang=en
13. Hansen DS, Aucken HM, Abiola T, Podschun R. Recommended test panel for differentiation of *Klebsiella* species on the basis of a trilateral interlaboratory evaluation of 18 biochemical tests. JCM. 2004; 42(8):3665-9. https://jcm.asm.org/content/42/8/3665.short
14. Borkar SG, Ajayasree TS. Biochemical characteristics of plant pathogenic *Klebsiella pneumoniae* causing root bark necrosis and wilt in pomegranate. JABB. 2018; 5(4):222-5. https://www.semanticscholar.org/paper/Biochemical-characteristics-of-plant-pathogenic-and-Sg-Ts/b918fc598a1c86ad9e3aef93720bb71a4a9cbaf0
15. Nosrati N, Honarmand Jahromy S, Zare Karizi S. Comparison of Tissue Culture Plate, Congo red Agar and Tube Methods for Evaluation of Biofilm Formation among *Uropathogenic E. coli* Isolates. IJM. 2017; 11(3):49-58. [Persian] https://ijmm.ir/article-1-641-en.html
16. Dadgar T, Vahedi Z, Yazdansetad S, Kiaei E, Asaadi H. Phenotypic Investigation of Biofilm Formation and the Prevalence of *icaA* and *icaD* Genes in *Staphylococcus epidermidis* Isolates. IJM. 2019; 12(6):371-81. [Persian] https://ijmm.ir/browse.php?a_id=894&sid=1&slc_lang=en
17. Nosrati N, Honarmand Jahromy S, Zare Karizi S. Comparison of Tissue Culture Plate, Congo red Agar and Tube Methods for Evaluation of Biofilm Formation among *Uropathogenic E. coli* Isolates. IJM. 2017; 11(3):49-58. [Persian] .https://ijmm.ir/article-1-641-en.html
18. Karigoudar RM, Karigoudar MH, Wavare SM, Mangalgi SS. Detection of biofilm among uropathogenic *Escherichia coli* and its correlation with antibiotic resistance pattern. JLP. 2019; 11(1):17-23. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6437818/
19. Panda PS, Chaudhary U, Dube SK. Comparison of four different methods for detection of biofilm formation by uropathogens. IJPM. 2016; 59(2):177-182. http://www.ijpmonline.org/article.asp?issn=03774929;year=2016;volume=59;issue=2;spage=177;epage=179;aulast=Panda

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 12:18 IRST on Tuesday January 12th 2021

www.SID.ir

Archiv

Journal of Neyshabur University of Medical Sciences

www.journalnums.ac.ir

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 12:18 IRST on Tuesday January 12th 2021

Comparison of Congo Red Agar methods and tube turbidity in biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae* isolates from cases of urinary tract infections in Samen Al-Aeme Hospital Bojnourd

Majid Jamshidian-Mojaver[1], Hamidreza Farzin*[1], Mohadese Amiri[2]

1-Assistant professor, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad Branch, Iran.
2- Master of Bacteriology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Original Article

Received: 14 Aug 2019
Accepted: 20 Jun 2020

***Corresponding Author:**
Hamidreza Farzin
Razavi Khorasan Province, Mashhad, District 1, Ahmadabad Blvd.
TEL: 091530942130
Email:
hrfarzin@yahoo.com

ABSTRACT

Introduction

Biofilm can be called a bacterial community that often forms on living or non-living surfaces and is common in natural, industrial, and hospital environments. *Klebsiella pneumoniae* as a pathogen has the potential to produce biofilms. Understanding biofilm formation in biofilm-forming bacteria is important. The aim of this study was to investigate the biofilm formation in isolates of *Klebsiella pneumoniae* from urinary tract infections of Samen Al-Aeme Hospital in Bojnourd using two phenotypic methods: Concord agar and tube turbidity.

Materials and Methods

The present study examined 30 samples of positive cultures with *Klebsiella pneumoniae* isolation from patients with urinary tract infections referred to Samen Al-Aeme Hospital in Bojnourd. Biochemical tests such as gram stain, urea, simon citrate, and TSI were performed to confirm the isolates. Isolations for biofilm formation were investigated by the Congo Red Agar method and tube testing.

Results

In this study, 50% of the isolates had strong biofilm and 16.66% had moderate biofilm. Also, in the turbidity method, 33.33% of the pipes had strong biofilm and 40% had medium biofilm.

Conclusion

In the two methods studied, the studied isolates were able to produce biofilm. Due to the production of biofilm in bacteria and its importance in pathogenesis and increasing bacterial resistance against common antibiotics, it is very important to study the production of biofilm.

Keywords

Klebsiella pneumoniae, Urinary tract infection, Biofilm Formation, Congo Red Agar, tubular turbidity.

► ***Please cite this article as:*** Jamshidian-Mojaver M, Farzin H, Amiri M. Comparison of Congo Red Agar methods and tube turbidity in biofilm formation in Klebsiella pneumoniae isolates from cases of urinary tract infections in Samen Al-Aeme Hospital Bojnourd. J Neyshabur Univ Med Sci. 2020;8(4):65-72.

www.SID.ir