مجله میکرب شناسی پزشکی ایران
سال ۴ شماره های ۱و۲، بهار و تابستان ۱۳۸۹، صفحات ۴۸-۴۲

نقش نانو ساختارلایه سطحی و تولید بتا لاکتاماز در مقاومت سویه های *باسیلوس سرئوس* در برابر پنی سیلین

شیلا جلال پور[1*] ، روحا کسری کرمانشاهی[2]، اشرف السادات نوحی[3] ، حمید زرکش اصفهانی[4]

۱) گروه صنایع غذایی، دانشکده فنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرضا
۲) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه الزهرا ،تهران
۳) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تهران
٤) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان
نویسنده رابط: شیلا جلال پور، گروه صنایع غذایی، دانشکده فنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرضا
تلفن : ۰۳۲۱- ۳۲٤۳۰۰٥ **shilla.jalalpoor@yahoo.com**

تاریخ دریافت مقاله : ۸۸/۹/۲۷ تاریخ پذیرش مقاله : ۸۹/٦/۲۸

چکیده:

زمینه و اهداف: لایه سطحی در اغلب باکتری‌ها خارجی ترین پروتئین است که با مهار ورود آنتی بیوتیک‌ها بیماریزایی باکتری را افزایش می‌دهد. نظر به نقش دست پرسنل و سطوح بیمارستان در انتقال عفونت‌های بیمارستانی، آلودگی منابع مزبور با سویه‌های *باسیلوس سرئوس* واجد لایه سطحی و β-لاکتاماز، منجر به گسترش عفونت‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها می گردد. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی لایه سطحی و تولید β-لاکتاماز، هم چنین نقش لایه سطحی در مهار ورود پنی سیلین در سویه‌های *باسیلوس سرئوس* جداسازی شده از دست پرسنل و سطوح بیمارستان بود.

روش بررسی: این مطالعه آزمایشگاهی در سال‌های ۱۳۸٦-۱۳۸٤ در بیمارستان فوق تخصصی الزهرا و دانشگاه اصفهان انجام شد. ۲۷٤ نمونه از دست پرسنل و سطوح بیمارستان جمع‌آوری شد و *باسیلوس سرئوس* جداسازی و شناسایی گردید. برای آماده سازی سویه‌ها از کشت ۱٦ ساعته در محیط TSA (Tryptone Soy Agar) استفاده شد. پس از جداسازی پروتئین‌های سطحی، نمونه‌ها توسط 10X SDS-PAGE الکتروفورز شدند. آزمایش حساسیت میکربی به روش کربی- بائر و توان تولید β-لاکتاماز به روش اسیدومتریک انجام گرفت.

یافته‌ها: از **۲۶** نمونه(**۹/۴۹٪**) *باسیلوس سرئوس* جدا شد. از **۱۳** سویه جدا شده از دست پرسنل ۱۱ سویه (**۸۴/۶٪**) و از **۱۳** سویه جدا شده از سطوح بیمارستانی ۱ سویه (**۷/۷٪**) مولد نانوساختار لایه سطحی بودند. ۱۱ سویه (۹۲/۳٪) از سویه‌های فاقد لایه سطحی و تمام (۱۰۰٪) سویه‌های واجد لایه سطحی، به پنی سیلین مقاوم بودند. تمام (۱۰۰٪)سویه‌های *باسیلوس سرئوس* واجد لایه سطحی، مولد β-لاکتاماز بودند.

نتیجه گیری : نتایج بیانگر شیوع بیشتر سویه‌های *باسیلوس سرئوس* واجد لایه سطحی در دست پرسنل بیمارستان و مقاومت بیشتر سویه‌های واجد لایه سطحی، به پنی‌سیلین است.

کلید واژه‌ها: لایه سطحی ، *باسیلوس سرئوس*، مقاومت آنتی بیوتیکی، β-لاکتاماز، عفونت بیمارستانی

مقدمه:

*باسیلوس*ها به واسطه تولید اسپور انتشار گسترده‌ای در محیط دارند. *باسیلوس سرئوس* امروزه به عنوان یک باکتری بیماریزای انسانی و از جمله عوامل موثر در عفونت‌های بیمارستانی ،به خصوص در افراد مبتلا به نقص در سیستم ایمنی، محسوب می‌شو د. عفونت‌های بیمارستانی ناشی از *باسیلوس سرئوس* در دو گروه طبقه-بندی می‌شوند: گاستروانتریت و عفونت‌های غیر گاستروانتریت. عفونت‌های غیر گاستروانتریت عبارتند از عفونت‌هایی که در نتیجه انتقال وانتشار *باسیلوس سرئوس* توسط وسایل آلوده پزشکی (وسایل آلوده جراحی، دستکش، باند و...)یا توسط پرسنل بیمارستان در بیماران بستری به وقوع می‌پیوندد (۱). باکتریمی و اندوکاردیت، عفونت‌های چشمی، عفونت عضلات اسکلتی در میزبان حساس از جمله عفونت‌های غیرگاستروانتریت هستند (۳،۲). پنی‌سیلین آنتی بیوتیک انتخابی درمان عفونت‌های ناشی از باسیلوس است.افزایش مقاومت سویه‌های باسیلوس سرئوس در برابر آنتی بیوتیک‌های خانواده β-لاکتام منجر به کندی روند درمان بیماران می گردد (۵،٤).

هر عاملی که باعث مهار ورود یا غیر فعال سازی آنتی بیوتیک‌های وارد شده به باکتری گردد، در نهایت باعث مقاومت آنتی بیوتیکی و شکست درمان می‌شود. لایه سطحی و تولید β-لاکتاماز به ترتیب با مهار ورود برخی از آنتی بیوتیک‌ها و غیر فعال کردن آنتی بیوتیک‌های خانواده β-لاکتام، منجر به افزایش مقاومت در باکتری‌ها می‌شوند. چون آنتی بیوتیک‌های خانواده β-لاکتام طیف اثر گسترده دارند از جایگاه ویژه‌ای در درمان بیماری‌های عفونی برخوردار می‌باشند، و مقاومت باکتری‌های بیماری‌زا در برابر آنها تبعات گسترده دارد (٦).

متداول‌ترین و مهم‌ترین روش مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی بیوتیک ها، تولید آنزیم‌های غیر فعال‌کننده است. β-لاکتاماز از جمله مهم‌ترین این آنزیم‌ها است (٦). پنی سیلیناز اولین β-لاکتامازی است که شناسایی شد. این آنزیم اولین بار توسط Chain وAbraham در سال ۱۹٤۰ از اشریشیاکلی جداسازی شد. در آن زمان پنی‌سیلین هنوز به صورت متداول وارد مصارف بالینی نشده بود(۷، ۸).

لایه سطحی جدیدترین ساختار سطحی شناسایی شده در پروکاریوت‌ها است. با بیش از سه دهه تحقیق امروزه مشخص شده است که یکی از متداول‌ترین ساختارهای سطحی موجود در اکثر آرشی‌ها و باکتری‌ها ساختار کریستالی منظم و تک لایه‌ای است که از زیر واحدهای مشابه پروتئینی یا گلیکوپروتئینی بوجود آمده‌است(۹، ۱۰). در طول این سه دهه اسامی مختلفی برای آن پیشنهاد شده است از جمله: ساختار کریستالی منظم(Crystalline Arrays، لایه کریستالی سطحی (Crystalline Surface Layer)، لایه سطحی (Surface Layer)و لایه–S(S-Layers)(۱۱-۹).لایه سطحی خارجی ترین پروتئین دیوارهٔ سلولی محسوب می‌شود و زیرواحدهای سازنده آن، توان بازیابی و ایجاد شبکه متقارن کریستالی تحت شرایط آزمایشگاهی را دارا می‌باشند (۹).

ویژگی‌ها و خواص منحصر بفرد این بیو پلیمر آن را به ابزار مناسبی برای بکارگیری در علوم بیوتکنولوژی و نانوتکنولوژی مبدل کرده است (۱۲-۹).لایه سطحی سبب پایداری و استحکام دیوارهٔ سلولی، شکل‌دهی به سلول (به-ویژه در آرشی‌ها)، حفاظت باکتری در برابر عوامل محیطی (حرارت‌های زیاد، تغییرات pH، پروتئازهای خارج سلولی، استرس‌های مکانیکی ناشی از فشارهای اسمزی و تغییرات فشاری و فشار ناشی از محلول‌های یونی) می‌گردد(۹).

لایه سطحی عملکردهای گوناگونی دارد. از جمله مهم-ترین آنها می توان به بیماری‌زا بودن آن اشاره کرد. لایه سطحی؛ خاصیت اتصال و چسبندگی دارد و لذا می‌تواند به سلول‌های میزبان و سطوح محیطی متصل شود، با مهار فاگوسیتوز و دفاع غیر اختصاصی منجر به پایداری عفونت در میزبان گردد، تهاجم برخی از باکتری‌های انگل از جمله *بدلو ویبریو* (*Bdellovibrio*) و برخی از فاژها را به باکتری می‌گیرد، و با خاصیت غربالگری و نفوذپذیری انتخابی از ورود برخی مولکول‌ها ازجمله آنتی‌بیوتیک‌ها و آنزیم‌های مضر به داخل باکتری ممانعت به‌عمل آورد (۹و ۱۵-۱۳). فقدان لایه سطحی در باکتری‌های بیماری‌زا منجر به کاهش یا فقدان توان بیماری زایی باکتری می‌گردد (۹).از جمله باکتری‌های بیماری‌زای واجد نانوساختار لایه سطحی می‌توان به جنس‌های *ریکتزیا*، *تره‌پونما*، *باکتروئیدس*، *کلامیدیا*، *آئروموناس*، *کلستریدیوم*، *کمپیلوباکتر* و *باسیلوس* اشاره کرد (۹).گونه‌های *باسیلوس آنتراسیس*، باسیلوس تورنژینسیس و *باسیلوس سرئوس*،واجد توانایی تولید لایه سطحی می باشند (۹ ، ۱٦ و ۱۷) .

میکروارگانیسم‌ها در اغلب محیط‌های زنده و غیر زنده به تعداد زیاد یافت می‌شوند. اما حضور آنها در دست پرسنل و سطوح بیمارستان از اهمیت ویژه برخوردار است. سطوح بیمارستانی و دست پرسنل در حفظ و نگهداری ، انتقال و انتشار باکتری‌ها در بیمارستان منابع بالقوه‌هستند. به عبارت دیگر، کنترل باکتری‌ها در سطوح بیمارستانی و دست پرسنل باعث کنترل و حتی توقف عفونت‌های بیمارستانی می‌گردد (۱۸).

در محیط بیمارستان انواع متعددی از باکتری‌های بیماریزا حضور دارند اما گونه‌های *باسیلوس* به‌واسطه تولید اسپور انتشار گسترده دارند. انتشار سویه‌های *باسیلوس سرئوس* واجد لایه سطحی و β-لاکتاماز در سطوح بیمارستان و دست پرسنل در نهایت منجر به گسترش عفونت‌های بیمارستانی مقاوم در برابر آنتی بیوتیک‌ها می‌گردد. مطالعه حاضر به تعیین فراوانی سویه‌های *باسیلوس سرئوس* در سطوح بیمارستانی و دست پرسنل و تولید لایه سطحی و β-لاکتاماز در سویه‌های جداسازی شده و هم چنین تعیین نقش لایه سطحی در ممانعت از ورود پنی سیلین در سویه‌های *باسیلوس سرئوس* پرداخته است.

مواد و روش‌ها:

این مطالعه در سال‌های ۱۳۸٦- ۱۳۸٤ در بیمارستان فوق تخصصی الزهرا اصفهان و دانشکده علوم دانشگاه اصفهان انجام گرفت. با محاسبه حجم نمونه، به حداقل ۱۹۲ نمونه نیاز بود. اما، با توجه به گستردگی نمونه‌های محیطی، وجود سطوح پرتماس و کم تماس (دسته‌بندی مزبور از اهداف این پژوهش بود)و.، ۱۹٤ نمونهٔ محیطی و ۸۰ نمونه از دست پرسنل بیمارستان جمع آوری شد.

نمونه‌های محیطی از سطوح کم تماس و پرتماس بیمارستان از جمله صندلی، میز کنار تخت، کف اتاق، تشک پلاستیکی و لبه کنار پنجره اتاق بیماران جمع آوری شد. برای تهیه نمونه از سطوح بیمارستان از سوآب و محیط TSB (Tryptone Soya Broth) (Merck) استفاده شد (۲۰-۱۸). پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، هر نمونه روی محیط Blood agar (Merck) به روش خطی کشت داده شد (۱۸، ۱۹).برای تهیه نمونه از دست پرسنل از روش Fingerprint Technique استفاده شد(۲۱-۱۹). برای این منظور نمونه‌ها مستقیماً با تماس سرانگشتان دست پرسنل، روی محیط های Blood agar جمع‌آوری گردید (۲۱-۱۹). ظروف پتری به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد و کلنی‌ها جداسازی و خالص سازی گردید. جنس یا گونه باکتری‌های خالص سازی شده با انجام روش‌های میکروبیولوژیک از جمله: رنگ‌آمیزی گرم، تست‌های بیوشیمیایی نظیر کاتالاز، اکسیداز و β-لاکتاماز (Merck)،استفاده از محیط‌های پایه و اختصاصی از جمله بلادآگار، نوترینت براث (Merck) و محیط اختصاصی *باسیلوس سرئوس* (*Bacillus cereus* Selective Agar) (Q-UELAB) انجام گرفت است ۱۹ ، ۲۰ و ۲۲).

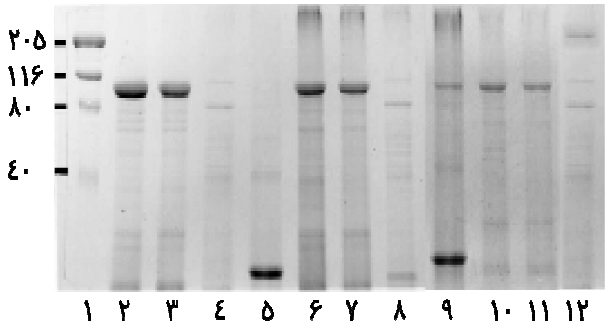
برای شناسایی نانوساختار لایه سطحی، سویه‌های *باسیلوس سرئوس* در محیط TSA (Tryptone Soya Agar) (غنی شده با gr ۰/٦٪ عصارهٔ مخمر) (Merck) به مدت ۱٦ ساعت در شرایط هوازی کشت داده شدند. پروتئین‌های سطحی سویه‌ها جداسازی و با SDS-PAGE آنالیز شد (۱٦ ، ۱۷ و ۱۹) جداسازی پروتئین‌های سطحی با افزودن PBS (Phosphate buffered saline) (Merck) PH =۷/٤ روی ظرف پتری و با میله شیشه‌ای سرکج انجام گرفت (۱٦ ، ۱۷ و ۱۹). سوسپانسیون حاصل شده ٦ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و رسوب آن در PBS سوسپانسیون گردید. سوسپانسیون در PBS به OD :۰/٦ (λ:450^{nm}) (Optical Density) رسانده شد و مجدداً سوسپانسیون سانتریفوژ و رسوب حاصله در ۵۰۰ میکرولیتر SDS-Tris-HCL ۱% (pH:۸) (ساخت شرکت Merck) سوسپانسیون شد. سوسپانسیون به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در شیکر با سرعت ۸۰ دور در دقیقه تکان داده شد. رنگ‌آمیزی پروتئین‌های سطحی با استفاده ازSample Buffer (Merck) انجام گرفت. برای این منظور ۱۵ میکرولیتر سوسپانسیون به همراه ۵ میکرولیتر Sample Buffer به مدت ۵ دقیقه در دمای۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در بن ماری قرار داده شد (۱٦ ، ۱۷ و ۱۹).

نمونه‌های آماده سازی شده توسط 10X SDS-PAGE به مدت ۱۰۰ دقیقه تحت ولتاژ ۸۰ ولت الکتروفورز شد. رنگ‌آمیزی ژل با استفاده از محلول کماسی بلو (Merck) به مدت ۱ ساعت در شیکر با سرعت ۸۰ دور در دقیقه انجام گردید. خارج کردن رنگ‌های اضافه از ژل، با استفاده

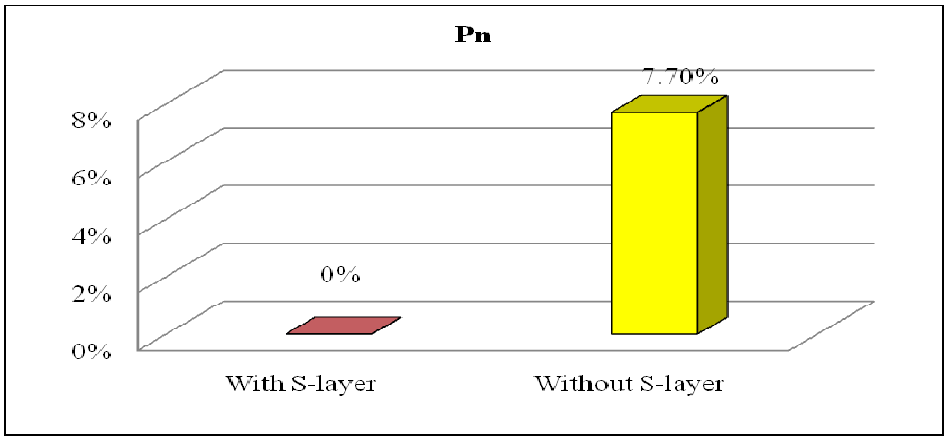
از محلول متانول (Merck) به مدت ۵ تا۱۵ دقیقه روی شیکر با سرعت ۸۰ دور در دقیقه انجام گرفت (۱۹، ۲۳).
الگوی حساسیت سویه‌های *باسیلوس سرئوس* با روش کربی بائر و با دیسک پنی سیلین (شرکت پادتن طب) بررسی شد (۱۹، ٢٤). بررسی وجود β-لاکتاماز در سویه-های *باسیلوس سرئوس* با روش اسیدومتریک انجام گرفت. در این روش ۰/۵ میلی‌لیتر محلول قرمز فنل ۰/۰۵٪ به ٤/٥ میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه شد و سوسپانسیون به ویال پنی سیلین جی ۵ میلیون واحدی افزوده شد. پس از حل کردن پنی سیلین به آرامی و قطره قطره، محلول سود ۱ مولار به ویال اضافه شد. این عمل تا تولید رنگ بنفش در محلول ادامه پیدا کرد. در این حالت pH محلول ۸/۵ بود. سپس یک لوله موئیـنه به قطر ۰/۲ تا ۱ میلی متر در ویال وارد شد و بلافاصله لوله موئینه روی سطح کلنی باکتری کشیده می‌شد تا ته لوله توسط باکتری کاملاً مسدود گردد. نتیجه پس از ۱۵-۵ دقیقه خوانده می‌شد (۲۷-۲۵).

یافته‌ها:

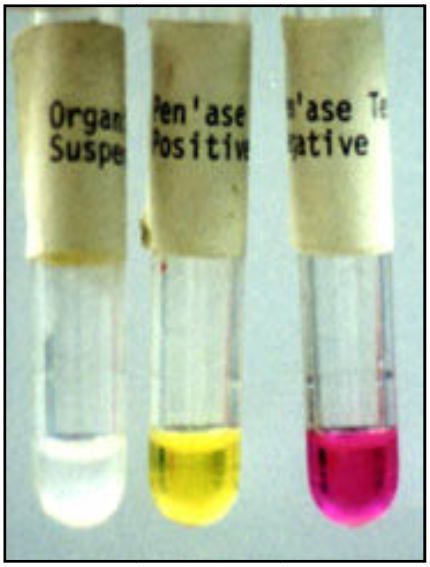
از ۲۷٤ نمونه مورد بررسی، *باسیلوس سرئوس* از ۲٦ (۹/٤۹٪) نمونه جدا شد. فراوانی آن در سطوح بیمارستانی و دست پرسنل به ترتیب ۱۳ (٦/۷٪) و ۱۳ (۱٦/۲۵٪) سویه بود. بر اساس نتایج SDS-PAGE، ۱۲ سویه (٤٦/۲۰٪) واجد لایه سطحی و ١٤ سویه (۵۳/۸٪) فاقد آن بودند (تصویر ۱). به این ترتیب که ۱۱ سویه (۸٤/٦٪) جدا شده از دست پرسنل و ۱ سویه (۷/۷٪) جداسازی شده از سطوح بیمارستان واجد لایه سطحی بود.
۱۱ سویه (۹۲/۳٪) فاقد لایه سطحی و تمام (۱۰۰٪)سویه‌های واجد لایه سطحی به پنی سیلین مقاوم بودند (نمودار ۱).
۱۲ سویه (۱۰۰٪) واجد نانوساختار لایه سطحی، توانایی تولید β-لاکتاماز را نیز داشتند(تصویر ۲). هم‌چنین ۱۳ سویه(۹۲/۸٪)از سویه‌های فاقد نانوساختار لایه سطحی، واجد توانایی تولید β-لاکتاماز بودند. ۱ سویه(۷/۲٪)از سویه‌های فاقد نانوساختار لایه سطحی، فاقد β-لاکتاماز بودند.



تصویر ۱: الکتروفورز پروتئین‌های سطحی سویه‌های *باسیلوس سرئوس* با روش 10X SDS-PAGE
(ستون ۱:مارکر وزن مولکولی، ستون‌های ۱۲-۲ : سویه‌های *باسیلوس سرئوس* مورد بررسی)



نمودار۱: درصد حساسیت سویه‌های *باسیلوس سرئوس* واجد و فاقد لایه سطحی به پنی سیلین جی



تصویر ۲: تست β-لاکتاماز با روش اسیدومتریک (چپ به راست: شاهد، مثبت، منفی)

بحث:

در مطالعه حاضر فراوانی *باسیلوس سرئوس* در سطوح و دست پرسنل بیمارستان به‌ترتیب ٦/٧ درصد و ١٦/٢٥ درصد است. مطالعات مشابه در ایران نشان می‌دهد که گونه‌های *باسیلوس* بیشترین باکتری‌های جداسازی شده از محیط بیمارستان را به خود اختصاص می‌دهند(۳۰-۲۸). نتایج مطالعات مشابه در خصوص اپیدمیولوژی گونه‌های *باسیلوس* و سویه‌های *باسیلوس سرئوس* در دست پرسنل بیمارستان، در سایر کشورها نشان می‌دهد دست ۳۷ درصد از پرسنل آلوده به گونه‌های *باسیلوس* است و فراوانی *باسیلوس سرئوس* در دست پرسنل مراکز درمانی ۱۵ درصد گزارش شده است (۱ ،۲ و۳۱). نتایج مطالعات انجام گرفته در خصوص انتشار گونه های *باسیلوس* در مراکز بهداشتی-درمانی، مبین انتشار گسترده گونه‌های *باسیلوس* در سطوح بیمارستان و سویه های *باسیلوس سرئوس* در دست پرسنل بیمارستان می‌باشد (۳۲-۲۸).

در ارتباط با لایه سطحی در *باسیلوس سرئوس*، Kotiranta و همکارانش در سال‌های ۱۹۹۸-۱۹۹۹،به بررسی چهار سویه *باسیلوس سرئوس* (۲ سویهٔ استاندارد و ۲ سویه بالینی) پرداختند. مطالعات آنها مشخص کرد سویه‌های جداسازی شده از نمونه‌های بالینی واجد لایه سطحی بودند در صورتی که سویه‌های استاندارد فاقد توانایی تولید لایه سطحی بودند(١٦).

بر اساس نتایج این مطالعه ٨٤/٦٠ درصد از سویه‌های *باسیلوس سرئوس* جداسازی شده از دست پرسنل بیمارستان واجد لایه سطحی بود. این در حالی است که تنها ۷/۷۰ درصد از سویه‌های *باسیلوس سرئوس* جدا شده از سطوح بیمارستان واجد لایه سطحی بودند. نتایج حاصل از این مطالعه و سایر مطالعات گویای فراوانی بیشتر لایه سطحی در سویه‌های جدا شده از شرایط زیستی، در مقایسه با شرایط غیر زیستی می‌باشد(۳۳ ، ٣٤).

باسیلوس سرئوس یک باکتری بیماریزای انسانی است و لایه سطحی هم یک ساختار بیماریزایی محسوب می‌شود. لذا، شاید بتوان اینگونه تفسیر کرد که باکتری‌ها ترجیحاً در صورتی که تحت شرایط زیستی قرار گیرند، لایه سطحی تولید می‌کنند تا بواسطه این ساختار، خود را از نفوذ آنتی بیوتیک و آنزیم‌های موجود در بدن انسان محافظت کنند.

نتایج نشان داد سویه‌های *باسیلوس سرئوس* فاقد لایه سطحی در مقایسه با سویه‌های *باسیلوس سرئوس* واجد لایه سطحی از حساسیت بیشتری به پنی سیلین برخوردار هستند. قابل توجه است که تمام سویه‌های مولد لایه سطحی و ۹۲/۳ درصد سویه‌های فاقد لایه سطحی در برابر پنی سیلین مقاوم بودند. نتایج حاصله از این مطالعه و دیگر مطالعات ، گویای نقش لایه سطحی در مهار ورود آنتی بیوتیک‌ها به باکتری است (۳٤،۳۳).

نتایج تست اسیدومتریک نشان داد که تمام سویه‌های *باسیلوس سرئوس* مولد لایه سطحی، توانایی تولید β-لاکتاماز را نیز دارند. فراوانی لایه سطحی و تولید β-لاکتاماز در سویه‌های *باسیلوس سرئوس*، مبین شیوع

گسترده و قابل ملاحظه عوامل مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها در *سویه های باسیلوس سرئوس* است. به این ترتیب که تنها ۷/۱۰ درصد از سویه‌های باسیلوس سرئوس فاقد لایه سطحی و β-لاکتاماز هستند. اما، تمام سویه‌های مولد لایه سطحی، واجد آنزیم β-لاکتاماز نیز می باشند. از طرف دیگر ۹۲/۲ درصد از سویه‌های *باسیلوس سرئوس* فاقد لایه سطحی، واجد توانایی تولید آنزیم β-لاکتاماز هستند. این امر نشانگر شیوع گسترده‌تر β-لاکتاماز، در مقایسه با لایه سطحی، در سویه‌های *باسیلوس سرئوس* می‌باشد.

نتیجه‌گیری:

نتایج این مطالعه بیانگر فراوانی قابل ملاحظه لایه سطحی در سویه‌های باسیلوس سرئوس جدا شده از دست پرسنل بیمارستان است. این جدا سازی می‌تواند موئد اهمیت شرایط زیستی در بیان ژن‌های مولد لایه سطحی باشد. در مقابل فراوانی لایه سطحی در سویه‌های جدا شده از سطوح بیمارستان، که در آنجا شریط غیرزیستی حاکم است، بسیار اندک است. سویه‌های واجد لایه سطحی در مقایسه با سویه‌های فاقد این لایه از حساسیت بیشتری به پنی سیلین برخوردارند. این امر بیانگر نقش لایه سطحی در مهار ورود برخی از ترکیبات آلی به داخل باکتری است.

از جمله دلایل فراوانی و انتشار قابل ملاحظه ژن‌های مقاومت به آنتی بیوتیک ها و فراوانی نانوساختار لایه سطحی و β-لاکتاماز در سویه‌های *باسیلوس سرئوس*، عدم کنترل تراکم باکتری‌ها در محیط بیمارستان و در نتیجه تسهیل انتشار ژن‌های مقاومت در میان آنها است. ارتقاء بهداشت محیط بیمارستان و دست پرسنل ، در کنترل ایجاد سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها نقش به سزایی ایفا می کند.

تقدیر و تشکر:

تشکر و قدردانی خود را از مدیریت بیمارستان فوق تخصصی الزهرا، مدیریت آزمایشگاه‌های تحقیقاتی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان، مدیریت بخش مجلات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، کمیته کنترل عفونت بیمارستان الزهرا؛ آقایان دکتر اردشیر طالبی، دکتر مهرداد معمارزاده، دکتر کامیار مصطفوی زاده، سینا مباشری زاده، فریبرز کیانپور، محسن حسینی بالام، خانم کبری مقصودی، مهندس علی مهرابی و تمامی عزیزانی که در به ثمر رسیدن این مطالعه یارای ما بودند اعلام می‌نماییم.

فهرست مراجع:

1.Van der Zwet WC, Parlevliet GA, Savelkoul PH, Stoof J,Kaiser AM. Outbreak of Bacillus cereus infection in a neonatal intensive care unit traced to balloons used in manual ventilation. *J Clin Microbiol* ,2000;**38**:4131-4136.

2. Amaout M.K, Tamburro RF, Bodner S.M. Bacillus cereus causing fulminanl sepsis and hemolysis in two patients with acule leukemia.*Pediatr Hematol Oncol* ,1999;**21**:431-435.

3.Hilliard N J, Schelonka RL, Waites KB. Bacillus cereus bacteremia in a preterm neonate. *J Clin Microbiol*, 2003; **41**: 3441- 4.

4. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*. 24th ed, USA; McGraw-Hill , 2004;PP: 203-212.

5.Tadjbakhsh H. *General Bacteriology*- 6th ed, Tehran; Tehran University Press, 1383;PP 544.

6.Paterson D.L, Bonomo Ra. Extended spectrum β-lactamases: A Clinical Update. *Cli Microbiol Rev*, 2005; **18**: 657- 86.

7.Parul A , Ghosh A.N, komar S, Bas B, Kapila K. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Isolates in a tertiary care hospital. *Indian J Path Microbiol*, 2008; **51**(1): 137- 42.

8.*Abraham EP, Chain E . An enzyme from bacteria able to destroy penicillin.* Nature*, 1940; **46**: 837.*

9.Sara .M ,Uwe B. Sleytr. S-Layer Proteins. *J Bacteriol*, 2000; **182** (4): 859- 68.

10.Eichler J. Facing extremes: archaeal surface-layer (glyco) proteins. *Microbiology*, 2003; **149**: 3347- 51.

11.Schaffer Ch, Paul M. The structure of secondary cell wall polymers: how Gram-positive bacteria stick their cell walls together. *Microbiol*, 2005; **15**: 643- 51.

12.Mesnagem S, Couture E.T ,Mock M, Gounon P, Fouet A. Molecular characterization of the *Bacillus anthracis* main S-layer component: evidence that it is the major cell-associated antigen. *J Mol Micro* , 1997; **23** (6): 1147- 55.

13.Masahiro Y, Hirofuji T,Motooka N, Nozoe K, Shigenaga K, Anan H ,*et al*. Humoral Immune Responses to S-Layer-Like Proteins of Bacteroides forsythus. *Clin Diagnost Laborate Immune*, 2003; 10 (3): 383- 7

14.Sara M. Conserved anchoring mechanisms between crystalline cell surface S-layer proteins and secondary cell wall polymers in Gram-positive bacteria. *Trends Microbiol*, 2001; 9:47- 49.

15.Messner P, Steiner K, Zarschler K, Schaffer C .S-layer nanoglycobiology of bacteria. *Carbohydr Rese*, 2008; 343 (12) 1934- 51.

16.Kotiranta A, Haapasalo M ,Kari K. Surface Structure, Hydrophobicity, Phagocytosis ,and Adherence to Matrix Proteins of *Bacillus cereus* Cells with and without the Crystalline Surface Protein Layer. *Infect and Immun*, 1998; 66(10): 4895- 902.

17.Kotiranta A. K, Hitoshi I, Markus P. Haapasalo P, Kari L. Radiation sensitivity of *Bacillus cereus* with and without a crystalline surface protein layer. *FEMS Microbiol Lett*, 1999; 179: 275- 80.

18.Sehulster L, Raymond Y.W. Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Diseases Control and Prevention (CDC). 2003 , Atlanta GA 30333.

19.Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Noohi A, Zarkesh H. Study of β-lactamase and S-layer Production in some of Isolated Pathogen Bacteria From Clinical and Environmental Hospital Samples. MSc thesis, Iran, Tehran, Islamic Azad University Science and Research Branch, Tehran, 1386; PP: 98-115.

20.Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Esfahani H. The comparative frequency the β-lactamase Production and antibiotic susceptibility pattern of Bacterial stains isolated from Staff Hands and Hospital Surfaces in Azzahra Hospital–Isfahan. *Iran J Med Microbiol* .2009;3(4): 37-45.

21.Estes R. Food, Hands and Bacteria. 2000. Available at http://pubs.caes.uga.edu/ caespubs/ pubcd/B693. htm#Wash. Accessed july 8, 2006.

22.Washington C, Stephen A, Janda W , Koneman E, Procop G,Schreckenberger P Woods G. *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*, Sixth edition. USA; Lippincott wiiliams and wilkins, 2006;pp: 775- 779.

23.Sambrook J, Russell D.W. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*.3 rd ed. NY; Cold Spring Harbor, 2001;PP: 15-80.

24.Wikler M. A, Cockerill F. R, Craig W.A, Dudley M. N Eliopoulos G.M, Hecht D.W, *et al.* Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006; 26 (3): 32- 44.

25.Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Esfahani. Comparison of the frequency β-lactamase enzyme in isolated nosocomial infectious bacteria. *J Rafsanjan UMS*. 1388; 8(3): 203-214.

26.β-lacatamase. testing for beta lactamase production. 2006 .Available at www.aecom .yu.edu/home/id/idmicro/betalactamase.htm.2 006.Accessed 9.5.2006.

27.Wikler M A, Cockerill F R, Craig W A, Dudley M N, Eliopoulos G M, Hecht D W, Hindler J F, *et al*. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*; *Approved Standard*. Ninth Edition. 2009; PP:8-50.

28.Hakiemi Najafabadi Sh. Overview of Bacterial contamination of Inhalation equipments. The 8th National Congress of Microbiology. Iran-Isfahan; 2006: 10.

29.AliAkbary F. Aslany Y, Saadat M, Etemadifar sh. Overview contamination Non Medical equipments Hospitals in Shahrekord Health-Education. The National Student Congress on The Role of Health Service Staff in Prevention of Hospital Infections; 2007, Iran-Isfahan, 2007: 26.

30.Mansuri F, Banitabay Hematyar Sh. Overview of Bacterial Culture in Operations room in selective Hospital in Isfahan Medical Science university (2005-2006). The National Student Congress on The Role of Health Service Staff in Prevention of Hospital Infections; 2007, Iran-Isfahan, 2007: 128.

31.Kampf G, Kramer A . Epidemiologic Background of Hand Hygiene and Evaluation of the Most Important Agents for Scrubs and Rubs. *Clinl Microbiol Rev*, 2004;17(4):863-893.

32.Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R , Nouhi A.S , Zarkesh Esfahani, Sina Mobasherizadeh. Survey Prevalence and Resistance to Some Beta lactame Antibiotics in *Bacillus cereus* strains Isolated of AZZAHRA Hospital (Iafahan/1384-86). *Iran J Biology*, 1389:23(4).In Press.

33.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 Chemical Soc*, 2009; 6 (suppl): S11.

34.Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R , Nouhi A.S , Zarkesh Esfahani. Survey characterization nano structure surface layer in some of pathogen bacteria. *Zahedan J Resea Medi Science* .1389; 12 (5).In press.