



Research Article

Phenotypic and Genotypic Evaluation of Biofilm Formation in Vancomycin-Resistant Enterococcus Isolates from Cancer Patients

Sadaf Ataei Alamdari¹ , Mohammad Arjomandzadegan^{2*} , Mona Nassaj Manizani³ , Azam Ahmadi²

¹ Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

² Infectious Diseases Research Center (IDIC), Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

* **Corresponding author:** Mohammad Arjomandzadegan, Infectious Diseases Research Center (IDIC), Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran. Email: mmatinam81@yahoo.com

DOI: [10.66224/jams.29.1.13](https://doi.org/10.66224/jams.29.1.13)

How to Cite this Article:

Ataei Alamdari S, Arjomandzadegan M, Nassaj Manizani M, Ahmadi A. Phenotypic and Genotypic Evaluation of Biofilm Formation in Vancomycin-Resistant Enterococcus Isolates from Cancer Patients. *J Arak Uni Med Sci*. 2026;**29**(1): 13- 18. DOI: [10.66224/jams.29.1.13](https://doi.org/10.66224/jams.29.1.13)

Received: 27.05.2025

Accepted: 30.03.2026

Keywords:

Cancer patients;
Biofilm formation;
Vancomycin-resistant
Enterococcus (VRE);
Antibiotic resistance;
gelE gene;
cylA gene

© 2024 Arak University of Medical
Sciences

Abstract

Introduction: Vancomycin-resistant enterococci (VRE) are among common causes of nosocomial infections, and their ability to form biofilms may contribute to increased antibiotic resistance. This study aimed to evaluate the biofilm-forming ability of VRE isolates and their antibiotic resistance patterns.

Methods: A total of 70 stool samples were collected from cancer patients. Suspected Enterococcus isolates were identified through biochemical tests including catalase test (negative), growth in 6.5% NaCl, positive PYR test, and bile esculin hydrolysis. In total, 22 Enterococcus isolates were confirmed and preserved for further analysis. Resistance to vancomycin was determined using the disk diffusion method according to CLSI guidelines. Biofilm formation was evaluated using the microtiter plate assay. The presence of biofilm-associated genes gelE and cylA was detected by polymerase chain reaction (PCR).

Results: The results showed that 68.2% of the isolates were capable of forming biofilm. Based on optical density in the microtiter plate assay, 27.2% were strong, 13.6% moderate, and 27.2% weak biofilm producers. Additionally, 31.8% of isolates were non-biofilm producers. PCR results revealed that among the 22 isolates, gelE and cylA genes were present in 77.3% and 63.6% of cases, respectively.

Conclusions: Biofilm formation played a significant role in enhancing antibiotic resistance in VRE isolates. Identification of biofilm-associated factors seems to be beneficial in designing effective therapeutic strategies against these bacteria.

بررسی تشکیل بیوفیلم به روش فنوتیپی و ژنوتیپی در جدایه‌های انتروکوک مقاوم به ونکومايسين (VRE) جدا شده از بیماران مبتلا به سرطان

صدف عطائی علمداری^{ID ۱}، محمد ارجمندزادگان^{ID ۱ و ۲*}، مونا نساج مانیزانی^{ID ۱}، اعظم احمدی^{ID ۲}

^۱ گروه میکروپزشناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

^۲ مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی (IDRC)، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

* نویسنده مسئول: محمد ارجمندزادگان، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی (IDRC)، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

ایمیل: mmatinam81@yahoo.com

DOI: 10.66224/jams.29.1.13

چکیده مقدمه: انتروکوک‌های مقاوم به ونکومايسين (Vancomycin-resistant enterococci) VRE از عوامل شایع عفونت‌های بیمارستانی هستند و تشکیل بیوفیلم در آنها می‌تواند با افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی همراه باشد. این مطالعه با هدف بررسی توانایی بیوفیلم‌سازی ایزوله‌های VRE و الگوی مقاومت دارویی آنها انجام شد. روش کار: تعداد ۷۰ نمونه مدفوع از بیماران مبتلا به سرطان جمع‌آوری شد. سویه‌های مشکوک به انتروکوکوس با انجام تست‌های بیوشیمیایی شامل تست کاتالاز (منفی)، رشد در محیط حاوی ۶/۵ درصد NaCl، تست PYR (مثبت) و توانایی هیدرولیز اسکولین در حضور صفرا مورد بررسی قرار گرفتند. در نهایت، ۲۲ ایزوله انتروکوکوس تأیید و برای بررسی‌های بیشتر نگهداری شدند. مقاومت جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک وانکومايسين با استفاده از روش برات میکرودايلوشن طبق دستورالعمل CLSI انجام شد. تشکیل بیوفیلم به روش میکروپلیت بررسی گردید. شناسایی ژن‌های مرتبط با بیوفیلم‌سازی شامل <i>gelE</i> و <i>cylA</i> با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) انجام شد. یافته‌ها: نتایج نشان داد که ۶۸/۲ درصد جدایه‌ها قادر به تشکیل بیوفیلم بودند. بر اساس میزان جذب نوری در آزمون میکروتیتزر پلیت، ۲۷/۲ درصد بیوفیلم قوی، ۱۳/۶ درصد بیوفیلم با شدت متوسط و ۲۷/۲ درصد بیوفیلم ضعیف تشکیل دادند. همچنین ۳۱/۸ درصد فاقد توانایی تشکیل بیوفیلم بودند. در بررسی ژنوتیپی با استفاده از روش PCR، ژن‌های <i>gelE</i> و <i>cylA</i> در ایزوله‌های VRE مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که از مجموع ۲۲ ایزوله، ژن‌های <i>gelE</i> و <i>cylA</i> به ترتیب (۷۷/۳ و ۶۳/۶ درصد) وجود داشتند. نتیجه‌گیری: تشکیل بیوفیلم می‌تواند نقش مهمی در افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های VRE ایفا می‌کند. شناسایی فاکتورهای بیوفیلم‌سازی می‌تواند در طراحی استراتژی‌های درمانی مؤثر علیه این باکتری‌ها سودمند باشد.	تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۱/۱۰ واژگان کلیدی: بیماران سرطانی؛ تشکیل بیوفیلم؛ انتروکوک مقاوم به ونکومايسين (VRE)؛ مقاومت آنتی‌بیوتیکی؛ ژن <i>gelE</i>؛ ژن <i>cylA</i> تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی اراک محفوظ است.
ارجاع: عطائی علمداری صدف، ارجمندزادگان محمد، نساج مانیزانی مونا، احمدی اعظم. بررسی تشکیل بیوفیلم به روش فنوتیپی و ژنوتیپی در جدایه‌های انتروکوک مقاوم به ونکومايسين (VRE) جدا شده از بیماران مبتلا به سرطان. <i>مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک</i> ۱۴۰۵؛ ۲۹ (۱): ۱۳-۱۸.	

مقدمه

بیمارستانی و در برابر درمان‌های دارویی می‌شود، توانایی تشکیل بیوفیلم است. بیوفیلم‌ها مجموعه‌هایی از سلول‌های باکتریایی هستند که در یک ماتریس خارج سلولی از پلی ساکارید، پروتئین و اسیدهای نوکلئیک قرار گرفته و باعث محافظت باکتری در برابر سیستم ایمنی میزبان و داروهای ضد میکروبی می‌شوند. تشکیل بیوفیلم نه تنها موجب افزایش مقاومت دارویی می‌شود بلکه در کلونیزاسیون طولانی‌مدت باکتری و ایجاد عفونت‌های مزمن نیز نقش مهمی دارد (۲).

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که ژن‌های خاصی در ایجاد بیوفیلم در *Enterococcus* دخیل هستند؛ از جمله *gelE* که ژن کدکننده ژلاتیناز بوده و با تجزیه ماتریکس بافتی و افزایش توان تهاجمی باکتری مرتبط است و *cylA* که در تولید همولایزین نقش دارد و می‌تواند موجب تخریب

افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان پاتوژن‌های بیمارستانی یکی از چالش‌های اساسی نظام‌های درمانی در سطح جهان محسوب می‌شود. در این میان، گونه‌های *Enterococcus* به ویژه *E. Faecalis* و *E. Faecium* به‌عنوان باکتری‌های گرم مثبت فرصت‌طلب، نقش برجسته‌ای در ایجاد عفونت‌های مرتبط با مراقبت‌های پزشکی دارند. سویه‌های مقاوم به وانکومايسين (Vancomycin-Resistant Enterococci) VRE، به ویژه در بیماران با نقص سیستم ایمنی مانند بیماران مبتلا به سرطان، خطر قابل توجهی ایجاد می‌کنند، چرا که گزینه‌های درمانی مؤثر برای این بیماران محدود است و با افزایش نرخ مرگ و میر همراه است (۱). یکی از عوامل کلیدی که موجب پایداری و بقای VRE در محیط‌های

انکوباسیون ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت با دور ۷۵ rpm قرار گرفت. در مرحله بعد مواد از پلیت‌ها تخلیه شدند و ۳ بار با نرمال سالین شسته و خشک شدند. سپس ۲۰۰ µl متانول به چاهک‌ها اضافه شد جهت فیکس کردن بایوفیلیم به مدت ۱۵ دقیقه. بعد از ۱۵ دقیقه متانول تخلیه شده و خشک شدند. در مرحله بعد ۲۰۰ µl از کریستال ویوله ۰/۰۵ درصد به چاهک‌ها اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه مکث کردیم. سپس کریستال ویوله تخلیه شده و ۳ بار با نرمال سالین شسته و خشک شد. در مرحله آخر ۲۰۰ µl از اتانول به داخل چاهک‌ها ریخته شد و به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباسیون ۳۷ درجه همراه با Shaking قرار گرفت. سپس تمام مواد داخل چاهک به پلیت جدید منتقل شد و جذب نوری توسط دستگاه الایزا ریدر با طول موج ۵۹۵ nm خوانده شد. سویه *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (۶).

شناسایی مولکولی ژن‌های *cylA* و *gelE*

استخراج DNA ژنومی از تمامی جدایه‌های *VRE* با استفاده از کیت استخراج DNA، Favorgen طبق دستورالعمل شرکت سازنده (YTA, Iran, cat. No: FATGK 001, Lot. No: CB604121922) انجام شد. غلظت و خلوص DNA حاصل شده در طول موج ۲۸۰/۲۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ تعیین شد. غلظت DNA الگو مورد استفاده بین ۲۰ تا ۵۰ نانوگرم بود و ۱۰ پیکومول از هر یک از پرایمرهای forward و reverse به صورت جداگانه استفاده شد. برای شناسایی ژن‌های مرتبط با تشکیل بیوفیلیم *cylA* و *gelE*، واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام شد. شرایط چرخه حرارتی شامل دناتوراسیون اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، به دنبال آن ۳۵ چرخه شامل دناتوراسیون در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال پرایمرها طبق دمای مربوطه به مدت ۳۰ ثانیه، طول‌سازی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه بود (جدول ۱).

قطعات‌های تولیدی از PCR توسط دستگاه آنالایزر ژنتیکی ABI تعیین توالی شدند، همچنین داده‌های توالی یابی با استفاده از نرم‌افزارهای Chromas, BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) and MEGA 4.0 تجزیه و تحلیل شدند.

این مطالعه با کد اخلاق ID IR.ARAKMU.REC.1403.047 به تصویب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اراک رسیده است.

یافته‌ها

از تعداد ۷۰ نمونه بالینی، سویه‌های مشکوک به *Enterococcus* با انجام تست‌های بیوشیمیایی شامل تست کاتالاز (منفی)، رشد در محیط حاوی ۶/۵ درصد NaCl، تست PYR (مثبت) و توانایی هیدرولیز اسکولین در حضور صفرا ۲۲ نمونه انتروکوک مثبت بودند. مقاومت ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک وانکومايسين با استفاده از روش برات میکروداپلوشن طبق دستورالعمل CLSI انجام شد. و تمام ۲۲ نمونه از نظر مقاومت به وانکومايسين در محدوده (R) $\leq 32 \mu\text{g/mL}$ قرار داشتند و در نتیجه مقاوم بودند.

بررسی فنوتیپی تشکیل بیوفیلیم در ۲۲ ایزوله مقاوم به وانکومايسين (*VRE*) به صورت میانگین جذب نوری (OD) محاسبه شد. تفسیر توانایی

سلول‌های میزبان شود. حضور این ژن‌ها می‌تواند به عنوان شاخصی برای قدرت بیماری‌زایی و تشکیل بیوفیلیم در این باکتری‌ها مطرح باشد (۳). از آنجا که درک سازوکارهای مولکولی تشکیل بیوفیلیم در سویه‌های *VRE* می‌تواند در طراحی راهکارهای پیشگیرانه و درمانی مؤثر کمک کننده باشد، مطالعه حاضر با هدف بررسی توانایی تشکیل بیوفیلیم در سویه‌های *VRE* جدا شده از بیماران سرطانی طراحی گردید. در این مطالعه از روش‌های فنوتیپی برای ارزیابی توانایی تشکیل بیوفیلیم و از روش PCR برای بررسی حضور ژن‌های *cylA* و *gelE* استفاده شد. تا بتوان چشم‌انداز دقیق‌تری از رفتار بیماری‌زای این سویه‌ها در جمعیت بیماران سرطانی به دست آورد.

روش کار

این مطالعه به صورت مقطعی و توصیفی بر روی ۷۰ نمونه بالینی مدفوع جمع‌آوری شده از بیماران سرطانی بستری در بیمارستان انجام شد. نمونه‌ها بر روی محیط کشت بلاد آگار (Blood Agar) و سپس در صورت رشد مشکوک، بر روی محیط بایل اسکولین آگار (Bile Esculin Agar) جهت شناسایی اولیه کشت داده شدند (۴).

شناسایی باکتریایی

سویه‌های مشکوک به *Enterococcus* با انجام تست‌های بیوشیمیایی شامل تست کاتالاز (منفی)، رشد در محیط حاوی ۶/۵ درصد NaCl، تست PYR (مثبت) و توانایی هیدرولیز اسکولین در حضور صفرا مورد بررسی قرار گرفتند. در نهایت، ۲۲ ایزوله *Enterococcus* تأیید و برای بررسی‌های بیشتر نگهداری شدند (۴).

بررسی مقاومت به وانکومايسين

مقاومت ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک وانکومايسين با استفاده از روش برات میکروداپلوشن طبق دستورالعمل CLSI انجام شد. برای این منظور غلظت‌های متوالی ۲ برابر شونده وانکومايسين (محدوده ۰/۲۵ تا ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در محیط (Cation-adjusted Muller-Hinton broth) تهیه گردید. سپس سوسپانسیون باکتریایی معادل ۰/۵ مک‌فارلند آماده شد و پس از رقیق‌سازی، به هر چاهک اضافه گردید تا غلظت نهایی تقریباً 5×10^5 CFU/mL باشد. پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. حداقل غلظت مهاري (Minimum inhibitory concentration) MIC به عنوان پایین‌ترین غلظت وانکومايسين که مانع از رشد قابل مشاهده باکتری شد تعریف گردید. نتایج به صورت زیر تفسیر شد: $4 \mu\text{g/mL} \geq (S)$ حساس، $8-16 \mu\text{g/mL}$ حد واسطه و $32 \mu\text{g/mL} \leq (R)$ مقاوم (۵).

بررسی فنوتیپی بیوفیلیم

تشکیل بیوفیلیم با استفاده از روش میکروتیتر پلیت (Microtiter Plate Assay) ارزیابی شد. هر ایزوله در محیط ۵ml TSB حاوی ۱ درصد گلوکز در شرایط ۳۷ درجه و Shaking با دور ۱۸۰ rpm طی یک شبانه روز انکوبه شد. سپس سوسپانسیون باکتری‌ها را به نیم مک‌فارلند رسانده و جذب نوری با طول موج ۶۲۵ nm خوانده شد. در مرحله بعد ۱۰۰ از سوسپانسیون تهیه شده برابر ۱۰۷ CFUs به ۹۰۰ µl از TSB+ گلوکز ۱ درصد استریل اضافه شد. در نهایت ۲۰۰ µl از سوسپانسیون مرحله قبل که برابر با 2×10^6 CFUs بود به چاهک‌ها اضافه شد و در

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه

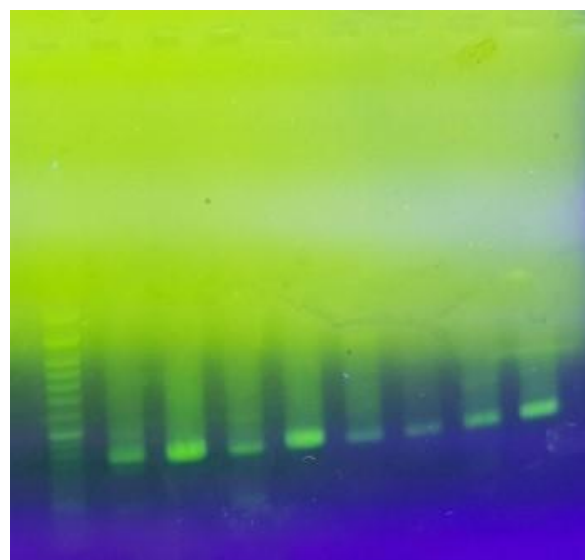
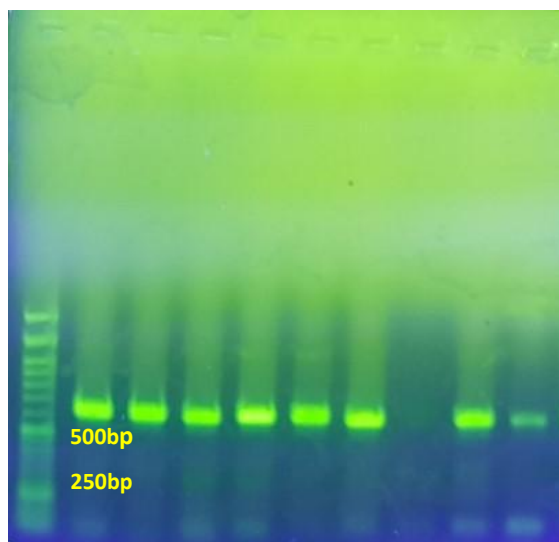
ژن هدف	پرایمر فوروارد	پرایمر ریورس	سایز	Annealing(°C)	دمای	رفرنس
gelE	5'-ACCCCGTATCATTGGTTT-3'	5'-ACGCATTGCTTTTCCATC-3'	419bp	۴۹		(۱۸)
cylA	5'-ACTCGGGGATTGATAGGC-3'	5'-GCTGCTAAAGCTGCGCTT-3'	688bp	۵۷		(۱۸)

جدول ۲. محدوده مورد نیاز برای محاسبه بیوفیلیم

بدون چسبندگی	چسبندگی ضعیف	چسبندگی متوسط	چسبندگی قوی
$OD \leq OD_c$	$OD_c < OD \leq 2 \times OD_c$	$2 \times OD_c < OD \leq 4 \times OD_c$	$4 \times OD_c < OD$
Value: OD595nm	Value: OD595nm	ODc : cut-off OD	OD: Optical density

جدول ۳. توزیع شدت تشکیل بیوفیلیم در ایزوله‌های VRE

شدت تشکیل بیوفیلیم	تعداد جدایه‌ها	درصد
قوی (Strong)	۶	۲۷/۲
متوسط (Moderate)	۳	۱۳/۶
ضعیف (Weak)	۶	۲۷/۲
منفی (Negative)	۷	۳۱/۸



شکل ۱. الکتروفورز محصولات PCR ژن‌های cylA روی ژل آگارز ۱٪ سمت چپ، لدر ۵۰ bp، ستون‌های ۱ تا ۶ و ۸ تا ۹ نمونه‌های مثبت با باند ۶۸۸ بازی و ستون ۷ کنترل منفی (آب). سمت راست ژن gelE، لدر ۵۰bp، ستون‌های ۱ تا ۸ نمونه مثبت با باند 419bp و ستون ۹ کنترل منفی (آب).

بحث

تشکیل بیوفیلیم به عنوان یک استراتژی بقا در انتروکوک‌ها، نه تنها مکانیسم دفاعی در برابر سیستم ایمنی میزبان است، بلکه عامل کلیدی در مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها محسوب می‌شود. مطالعات نشان می‌دهند که ماتریکس خارج سلولی بیوفیلیم با محدود کردن نفوذپذیری آنتی‌بیوتیک‌ها و ایجاد محیطی با متابولیسم کاهش یافته، بقای باکتری‌ها را در شرایط درمانی تسهیل می‌کند (۳). در این مطالعه، توانایی تشکیل بیوفیلیم و حضور ژن‌های *gelE* و *cylA* در سویه‌های مقاوم به ونکومايسين جدا شده از بیماران مبتلا به سرطان بررسی شد. نتایج نشان داد که درصد قابل توجهی از ایزوله‌ها توانایی تشکیل بیوفیلیم داشتند و فراوانی ژن‌های مذکور در این سویه‌ها بالا بود. این یافته‌ها اهمیت بیوفیلیم به عنوان یک عامل افزایش دهنده مقاومت آنتی‌بیوتیکی به ویژه در بیماران آسیب پذیر چون مبتلایان به سرطان را برجسته می‌کند.

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که بیوفیلیم‌ها در سطح میکروبی، از

تشکیل بیوفیلیم بر اساس روش تعیین حد آستانه (Cut-off OD) صورت گرفت، به طوری که حد آستانه (OD_c) برابر با میانگین جذب نوری (OD) کنترل منفی + ۳ برابر انحراف معیار آن محاسبه می‌شود. بر این اساس، جدایه‌ها به ۳ گروه قوی، متوسط و ضعیف و منفی از نظر توانایی تشکیل بیوفیلیم طبقه‌بندی گردیدند (جدول ۲). نتایج نشان داد که ۱۵ ایزوله (۶۸/۲ درصد) قادر به تشکیل بیوفیلیم بودند. بر اساس میزان جذب نوری در آزمون میکروتیتر پلیت، ۶ ایزوله (۲۷/۲ درصد) بیوفیلیم قوی، ۳ ایزوله (۱۳/۶ درصد) بیوفیلیم با شدت متوسط و ۶ ایزوله (۲۷/۲ درصد) بیوفیلیم ضعیف تشکیل دادند. همچنین ۷ ایزوله (۳۱/۸ درصد) فاقد توانایی تشکیل بیوفیلیم بودند (جدول ۳).

در بررسی ژنوتیپی با استفاده از روش PCR، ژن‌های *gelE* و *cylA* در ایزوله‌های VRE مورد ارزیابی قرار گرفتند نتایج نشان دادند که از مجموع ۲۲ ایزوله: ژن‌های *gelE* و *cylA* به ترتیب در ۱۷ ایزوله (۷۷/۳ درصد) و ۱۴ ایزوله (۶۴/۳ درصد) وجود داشتند (شکل ۱).

(۱۳). در بررسی ۲۴۰ ایزوله بالینی انتروکوک، حضور ژن *gelE* در ۶۲/۵ درصد از ایزوله‌های بیوفیلم‌ساز شناسایی شد، که نشان‌دهنده ارتباط قوی بین این ژن و توانایی تشکیل بیوفیلم است (۱۴). همچنین بررسی‌هایی بر روی ۷۲ ایزوله انتروکوک فکالین انجام شد که نشان داد ۷/۸۴ درصد از این ایزوله‌ها حامل ژن *gelE* بودند (۱۵).

بیماران مبتلا به سرطان به دلیل نقص ایمنی ناشی از شیمی‌درمانی و استفاده مکرر از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف، مستعد کلونیزاسیون با سویه‌های *VRE* هستند. تشکیل بیوفیلم در این جمعیت نه تنها خطر انتقال افقی ژن‌های مقاومت را افزایش می‌دهد، بلکه احتمال ایجاد عفونت‌های مهاجم مانند لنفوکاردیت و باکتری می را تقویت می‌کند (۱۶). شناسایی پروفایل‌های ژنتیکی مرتبط با تشکیل بیوفیلم در *VRE* می‌تواند به توسعه آزمون‌های تشخیص سریع کمک کند. به عنوان مثال، استفاده از کیت‌های مولتی پلکس PCR برای ردیابی همزمان ژن‌های *cylA*، *gelE* و *esp* در نمونه‌های بالینی، امکان پیش‌بینی پاسخ به درمان را فراهم می‌سازد (۱۷، ۱۸).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده و مقایسه با مطالعات پیشین، به نظر می‌رسد که تشکیل بیوفیلم و حضور ژن‌های مرتبط می‌تواند شاخصی برای پیش‌بینی شدت عفونت و مقاومت دارویی در بیماران سرطانی باشد. بنابراین، غربالگری منظم سویه‌های جداسازی شده از بیماران برای شناسایی ویژگی‌های بیوفیلم و ژن‌های مرتبط می‌تواند به بهبود مدیریت عفونت‌ها در این گروه آسیب‌پذیر کمک کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله بر گرفته از طرح تحقیقاتی تأیید شده در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اراک (کد: ۴۴۲۹) می‌باشد. بدین‌وسیله از حمایت‌های معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک تقدیر و تشکر می‌شود.

سهم نویسندگان

صدف عطائی: انجام عملی طرح و نوشتن متن مقاله
محمد ارجمندزادگان: ویراستاری و مدیریت طرح
مونا نساج: مشاور در آزمایش‌های میکروبیولوژی
اعظم احمدی: مشاور در آزمایش‌های مولکولی.

تضاد منافع

نویسندگان تصریح می‌کنند که تضاد منافی برای پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

- Lebreton F, Willems RJ, Gilmore MS. Enterococcus diversity, origins in nature, and gut colonization. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014.
- Mohamed JA, Huang DB. Biofilm formation by enterococci. J Med Microbiol. 2007;56(Pt 12):1581-8. PMID: 18033823 doi: 10.1099/jmm.0.47331-0
- Şchiopu P, Toc DA, Colosi IA, Costache C, Ruospo G, Berar G, et al. An overview of the factors involved in biofilm production by the Enterococcus genus. Int J Mol Sci. 2023;24(14):11577. PMID: 37511337 doi: 10.3390/ijms241411577
- Procop GW. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 7th ed. Philadelphia: Lippincott William, Wilkins; 2017.

عوامل مؤثر در افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها هستند و این وضعیت به ویژه در بیماران مبتلا به سرطان که دارای سیستم ایمنی تضعیف شده هستند، می‌تواند مشکلات جدی ایجاد کند. در مطالعه‌ای که در ایران صورت گرفت، ۷۰ درصد از سویه‌های *Enterococcus faecium* جداسازی شده از بیماران مبتلا به سرطان توانایی تشکیل بیوفیلم را نشان دادند که این درصد بالاتر از میانگین گزارش شده در سایر بیماران بدون بیماری زمینه‌ای است (۷). این یافته‌ها حاکی از این هستند که تشکیل بیوفیلم در میان بیماران سرطانی در مقایسه با دیگر بیماران می‌تواند به‌عنوان یک عامل خطر برای بروز عفونت‌های مزمن و مقاوم به درمان مطرح باشد.

در مطالعات دیگری نیز ارتباط بین ژن‌های خاص مانند *cylA* و *gelE* با مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها و تشکیل بیوفیلم گزارش شده است. این ژن‌ها به ویژه در سویه‌های بیوفیلم‌ساز و مقاوم به ونکومایسین نقش مهمی دارند. در تحقیقاتی که بر روی سویه‌های *Enterococcus faecalis* انجام شده است، مشاهده شده که سویه‌های حاوی ژن‌های *cylA* و *gelE* نه تنها مقاومت بیشتری به آنتی‌بیوتیک‌ها نشان می‌دهند، بلکه توانایی تشکیل بیوفیلم را به طور قابل توجهی افزایش می‌دهند (۸). این یافته‌ها هم راستا با نتایج مطالعه حاضر بود که نشان داد، سویه‌های *VRE* از بیماران سرطانی توانایی بالایی در تشکیل بیوفیلم دارند و حضور این ژن‌ها ارتباط مستقیمی با مقاومت آنتی‌بیوتیکی دارد.

از سوی دیگر، نتایج مطالعه حاضر با نتایج Fallah و همکاران نیز همخوانی داشت، جایی که نشان داده شد، شناسایی ژن‌های بیوفیلم‌ساز مانند *gelE* و *asa1* با PCR می‌تواند ابزار مفیدی برای بررسی شدت عفونت‌های ناشی از *Enterococcus* باشد (۹).

همچنین بررسی در نپال بر روی ۱۵۷۵ نمونه لالینی نشان داد که ژن *gelE* در ۷۶ درصد از ایزوله‌های *E. faecalis* و ۶۹ درصد از ایزوله‌های *E. faecium* حضور دارد و بیش از ۵۰ درصد از ایزوله‌های مقاوم به ونکومایسین دارای ژن‌های ویرولانس مانند *ace*، *asa*، *esp* و *cylA* هستند (۱۰). مقاومت به ونکومایسین و آنتی‌بیوتیک‌های دیگر در سویه‌های بیوفیلم‌ساز به ویژه در بیماران سرطانی که درمان‌های پیچیده تری دریافت می‌کنند، از چالش‌های بزرگ درمانی است. مطالعات اخیر نشان دادند که سویه‌های مقاوم به ونکومایسین معمولاً در تشکیل بیوفیلم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها نقش مهمی دارند و این بیوفیلم‌ها می‌توانند عفونت‌های مزمن ایجاد کنند که برای درمان آن‌ها به دقت و مدت زمان بیشتری نیاز است (۱۱، ۱۲).

در مطالعه دیگر مشخص شد که سویه‌های مقاوم به جنتامایسین نیز ظرفیت بالایی برای تشکیل بیوفیلم دارند، که نشان‌دهنده نقش بیوفیلم به عنوان یک مکانیسم کلی مقاومت در برابر درمان‌های آنتی‌بیوتیکی است.

5. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 35th ed. CLSI supplement M 100ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2025.
6. Mirzaei R, Yousefimasouf R, Arabestani MR, Sedighi I, Alikhani MY. The issue beyond resistance: Methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation is induced by subinhibitory concentrations of cloxacillin, cefazolin, and clindamycin. *PLoS One*. 2022;17(11):e0277287. [pmid: 36350834](#) [doi: 10.1371/journal.pone.0277287](#)
7. Ghazvinian M, Asgharzadeh Marghmalek S, Gholami M, Amir Gholami S, Amiri E, Goli HR. Antimicrobial resistance patterns, virulence genes, and biofilm formation in enterococci strains collected from different sources. *BMC Infect Dis*. 2024;24(1):274. [pmid: 38438983](#) [doi: 10.1186/s12879-024-09117-2](#)
8. Aladarose BE, Said HS, Abdelmegeed ES. Incidence of virulence determinants among enterococcal clinical isolates in Egypt and its association with biofilm formation. *Microb Drug Resist*. 2019;25(6):880-9. [pmid: 30811265](#) [doi: 10.1089/mdr.2018.0320](#)
9. Fallah F, Yousefi M, Pourmand MR, Hashemi A, Alam AN, Afshar D. Phenotypic and genotypic study of biofilm formation in Enterococci isolated from urinary tract infections. *Microb Pathog*. 2017;108:85-90. [pmid: 28483600](#) [doi: 10.1016/j.micpath.2017.05.014](#)
10. Doss Susai backiam A, Duraisamy S, Karuppaiya P, Balakrishnan S, Chandrasekaran B, Kumarasamy A, et al. Antibiotic susceptibility patterns and virulence-associated factors of vancomycin-resistant enterococcal isolates from tertiary care hospitals. *Antibiotics (Basel)* 2023; 12(6): 981. [pmid: 37370300](#) [doi: 10.3390/antibiotics12060981](#)
11. Radford-Smith DE, Anthony DC. Vancomycin-Resistant *E. faecium*: Addressing Global and Clinical Challenges. *Antibiotics (Basel)*. 2025;14(5):522. [pmid: 40426588](#) [doi: 10.3390/antibiotics14050522](#)
12. Nair P, Sankar S, Neelusree P. Study on Biofilm formation among Enterococcus isolates and Association with their antibiotic resistance patterns. *Cureus*. 2024;16(2):e53594. [pmid: 38449981](#) [doi: 10.7759/cureus.53594](#)
13. Klibi N, Ben Slama K, Sáenz Y, Masmoudi A, Zanetti S, Sechi LA, et al. Detection of virulence factors in high-level gentamicin-resistant Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium isolates from a Tunisian hospital. *Can J Microbiol*. 2007;53(3):372-9. [pmid: 17538646](#) [doi: 10.1139/W06-136](#)
14. Mohamed JA, Murray BE. Lack of correlation of gelatinase production and biofilm formation in a large collection of Enterococcus faecalis isolates. *J Clin Microbiol*. 2005;43(10):5405-7. [pmid: 16208033](#) [doi: 10.1128/JCM.43.10.5405-5407.2005](#)
15. 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. *Int Microbiol*. 2024;27(3):929-39. [pmid: 37932582](#) [doi: 10.1007/s10123-023-00441-2](#)
16. Lin P-Y, Chan S-Y, Stern A, Chen P-H, Yang H-C. Epidemiological profiles and pathogenicity of Vancomycin-resistant Enterococcus faecium clinical isolates in Taiwan. *PeerJ*. 2023;11:e14859. [pmid: 36855433](#) [doi: 10.7717/peerj.14859](#)
17. Soltani S, Arshadi M, Getso MI, Aminharati F, Mahmoudi M, Pourmand MR. Prevalence of virulence genes and their association with biofilm formation in VRE faecium isolates from Ahvaz, Iran. *J Infect Dev Ctries*. 2018;12(11):970-7. [pmid: 32012126](#) [doi: 10.3855/jidc.10078](#)
18. Sharma P, Kaur S, Kaur R, Kaur M, Kaur S. Proteinaceous secretory metabolites of probiotic human commensal Enterococcus hirae 20c, E. faecium 12a and L12b as antiproliferative agents against cancer cell lines. *Front Microbiol*. 2018;9:948. [pmid: 29867856](#) [doi: 10.3389/fmicb.2018.00948](#)