**عنوان:**

**مطالعه نقش سلول های پرسیستر در تحمل به ونکومایسین در بیوفیلم های انتروکوکوس فکالیس**

**مقدمه: امروزه مقاومت به آنتی بیوتیک ها به صورت فنوتیپی یک چالش جهانی می باشد که تاکنون درمان قطعی برای این نوع مقاومت ها شناسایی نشده است. تشکیل بیوفیلم شناخته شده ترین مقاومت فنوتیپی در باکتری ها می باشد که لایه های بیوفیلمی یک نقش محافظتی در برابر شرایط نامساعد محیطی را بر عهده دارند و به عنوان عوامل افزایش مقاومت های آنتی بیوتیکی شناخته شده اند اما محققان نشان داده اندکه بعضی از بیوفیلم ها در برابر آنتی بیوتیک ها ناپایدار هستند و از بین می روند. از طرف دیگر، بیوفیلم هایی شناسایی شده است که تحمل بالایی به آنتی بیوتیک ها دارند که پایداری این بیوفیلم ها را سلول های پرسیستر گزارش کرده اند. هدف از این مطالعه بررسی نقش سلول های پرسیستر در تحمل به ونکومایسین در بیوفیلم های انتروکوکوس فکالیس می باشد.**

**روش کار: تعداد 95 نمونه انتروکوکوس فکالیس با روش میکروبراث دایلوشن جهت تعیین حساسیت به ونکومایسین مورد ارزیابی قرار گرفت و بعد از شناسایی جدایه های حساس به ونکومایسین از روش میکروتیتر پلیت و رنگ آمیزی کریستال ویوله برای سنجش تولید بیوفیلم استفاده گردید. سپس 40 نمونه از چهار گروه بیوفیلم قوی، متوسط، ضعیف و بدون بیوفیلم جهت شناسایی ژن های تولید کننده بیوفیلم (*gelE*، *esp* و *agg*) به روش PCR مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس جهت شناسایی بیوفیلم های مقاوم به ونکومایسین از روش میکروتیتر پلیت دایلوشن و استفاده از غلظت های 0 تا µg/ml 2500 با افزایش µg/ml 250در هر چاهک صورت گرفت و بیوفیلم های قوی، متوسط و ضعیف مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس برای شناسایی پرسیستر در بیوفیلم هایی که تحمل بالایی به ونکومایسین داشتند از روش لیز آنزیمی استفاده گردید. در مرحله پایانی، مقایسه بیان ژن های تولید کننده بیوفیلم بین جدایه های پرسیستر و غیر پرسیستر با استفاده از Real Time PCR صورت گرفت.**

**یافته ها: تست حساسیت آنتی بیوتیکی نشان داد که 8/95 % جدایه های انتروکوکوس فکالیس حساس به ونکومایسین هستند. از بین 40 جدایه، ژن های *gelE* در 100 درصد، ژن *esp* در 5/77 درصد و ژن *agg* در 80 درصد جدایه ها وجود داشتند. همه جدایه های تولید کننده بیوفیلم تحمل بالایی به ونکومایسین داشتند که حداقل غلظت باکتری کشی برای بیوفیلم MBCB)) > μg/ml1024 بود. در تمام گروه های تولید کننده بیوفیلم که غلظت های بسیار بالاتر از MIC را تحمل کردند تنها یک جدایه توانایی تشکیل پرسیستر را داشت. نتایج مقایسه بیان ژن ها نشان داد که ژن های تولید کننده بیوفیلم در جدایه پرسیستر بیان بیشتری نسبت به اکثر جدایه های غیر پرسیستر داشتند.**

 **نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان می دهدکه بیوفیلم جدایه پرسیستر در مقایسه با جدایه های غیر پرسیستر غلظت بیشتری از ونکومایسین را تحمل می کند که می تواند بیان گر این باشد که تحمل بالای بیوفیلم به آنتی بیوتیک ها ممکن است به علت وجود سلول های پرسیستر باشد. علاوه بر این جدایه پرسیستر ژن های مرتبط با تولید بیوفیلم را در سطح بالایی بیان می کند که در مجموع این ژن ها در جدایه پرسیستر میزان بیان بیشتری نسبت به جدایه های غیر پرسیستر دارند که نشان می دهد جدایه پرسیستر ممکن است بیوفیلم بیشتری را تولید کند (p-value<0.0001).**

**کلمات کلیدی: انتروکوکوس فکالیس، بیوفیلم، پرسیستر، ونکومایسین، تولرانس، میتومایسین**