

شناسایی مولکولی گونه‌های کاندیدا جدا شده از بیوفیلم لوله تراشه‌های بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه

الهام رضازاده^۱، حمید بدلی^۲، ساسان رضایی^۳، الهام بغدادی^۴، ماندانا احمدی^۵
سمیه شریفی نیا^۳، نگار شیروانی قادیکلایی^۲، صادق خداویسی^{۳*}

- (۱) گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
- (۲) گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات قارچ‌های تهاجمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
- (۳) گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران
- (۴) گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا، ورامین، ایران
- (۵) گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، شیراز، ایران
- (۶) گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

چکیده:

عفونت‌های بیمارستانی از مهمترین علل مرگ و میر و افزایش هزینه‌های بیمارستانی محسوب می‌شوند. این عفونت‌ها معمولاً به دلیل انتقال عامل بیماریزا از طریق کادر درمانی و همچنین لوازم و تجهیزات آلوده به بیماران مستعد رخ می‌دهد. قارچ کاندیدا در تشکیل بیوفیلم نقش مهمی داشته و تحت شرایط خاص مثل اختلال در عملکرد سیستم ایمنی، کلونیزه گشته و به یک پاتوژن فرصت طلب تبدیل می‌شوند. مطالعه حاضر با هدف شناسایی گونه‌های کاندیدای جدا شده از بیوفیلم لوله تراشه‌های بیماران بستری در بخش ICU انجام گرفت. مطالعه حاضر بر روی ۹۵ بیمار مستعد عفونت‌های تنفسی با لوله تراشه تنفسی در ICU انجام شده است. لوله‌های تراشه پس از خارج شدن از بدن بیمار بر روی محیط سابورودکستروز آگار کشت داده شد. جهت شناسایی مولکولی گونه‌های کاندیدا جدا شده با تکنیک PCR-RFLP ناحیه‌ی ITS1-5.8S-ITS2 و از آنزیم محدود الاثر MspI استفاده گردید. تعداد ۵۱ گونه کاندیدا به ترتیب شامل گونه‌های کاندیدا آلیکنس ۲۰ (۳۹/۲٪)، کاندیدا گلابراتا ۱۴ (۲۷/۴٪)، کاندیدا تروپیکالیس ۸ (۱۵/۶۸٪)، کاندیدا کروزه ای ۶ (۱۱/۷٪) و کاندیدا پارسیلوزیس ۳ (۵/۸٪) از لوله تراشه شناسایی شدند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که بطور غالب گونه‌ی کاندیدا آلیکنس از لوله تراشه‌های بیماران ICU جدا می‌گردد. از آنجا که تشخیص فراوانی میکروارگانیزم‌ها در سطح گونه عوامل بیوفیلم و کلونیزاسیون لوله تراشه‌های بیماران بستری در بخش ICU در پیشگیری و درمان بیماران مفید می‌باشد، نیاز به بررسی‌های وسیع‌تر و بیشتری در این زمینه وجود دارد.

واژگان کلیدی: عفونت بیمارستانی، لوله تراشه، گونه‌های کاندیدا، PCR-RFLP

* نویسنده مسئول:

صادق خداویسی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران، پست الکترونیک: sadegh_7392008@yahoo.com

مقدمه:

عفونت‌های بیمارستانی یکی از مهمترین علل مرگ و میر و افزایش هزینه‌های بیمارستانی محسوب می‌شود. این عفونت‌ها معمولا به دلیل انتقال از طریق کادر درمانی و همچنین لوازم و تجهیزات آلوده به ارگانیزم‌های پاتوژن به بیماران مستعد اتفاق می‌افتند [۱]. طبق گزارش سازمان ملی بهداشت آمریکا حدود ۸۰ درصد عفونت‌های بیمارستانی در اثر ایجاد بیوفیلم‌های^۱ میکروبی ایجاد می‌شوند که این امر بیانگر نقش مهم آن در ایجاد بیماری‌های عفونی می‌باشد [۲]. بیوفیلم به تجمعات میکروبی احاطه شده در ماتریکس بیوپلیمر بر روی سوبستراهای^۲ زنده و یا غیر زنده گفته می‌شود [۳]. به دلیل وجود ویژگی‌هایی از قبیل مقاومت بالا در برابر سیستم ایمنی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی و مقاومت در برابر بیوسایدها^۳، تشخیص به موقع و درمان و حذف آن بسیار ضروری می‌باشد [۴]. میکروارگانیسم‌های مهم درگیر در تشکیل بیوفیلم‌های میکروبی بطور غالب شامل طیفی از باکتری‌ها می‌باشند. در این بین قارچ‌ها هم در تشکیل بیوفیلم نقش مهمی داشته و قارچ کاندیدا، به ویژه گونه کاندیدا آلبیکنس، بصورت همسفره^۴ در سطوح مخاطی انسان وجود داشته و تحت شرایط خاص مثل اختلال در عملکرد سیستم ایمنی، کلونیزه گشته و به یک پاتوژن فرصت طلب تبدیل می‌شود [۵]. بیوفیلم‌های میکروبی به طور آشکار به عوامل ضد میکروبی نظیر آنتی‌بیوتیک و داروهای ضد قارچی مقاومت نشان می‌دهند [۶-۱۰]. در اکثر موارد در بخش مراقبت‌های ویژه (ICU)، لوله‌گذاری تراشه جهت کنترل راه هوایی به منظور ایجاد تهویه، بیماران را مستعد عفونت‌هایی مثل پنومونی می‌کند که این می‌تواند ناشی از فراهم بودن شرایط کلونیزاسیون و ایجاد بیوفیلم توسط عوامل عفونی بخصوص قارچ کاندیدا باشد. این موضوع در اثر طولانی شدن مدت زمان بستری این بیماران و استفاده از انواع دستگاه‌های نگهدارنده ایجاد می‌گردد [۱۱]. لذا باتوجه به اهمیت وجود بیوفیلم این قارچ در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی، بخصوص بیماران بستری در بخش‌های مراقبت ویژه، و نیز

تحقیقات اندک بر روی بیوفیلم بیمارستانی، مطالعه حاضر با هدف شناسایی مولکولی و ارزیابی حساسیت دارویی داروهای ضد قارچی روتین گونه‌های کاندیدا جدا شده از بیوفیلم لوله تراشه‌های بیماران بستری در بخش ICU انجام گرفت.

مواد و روش‌ها:

در این مطالعه از ۹۵ بیمار مستعد عفونت‌های تنفسی دارای لوله تراشه تنفسی بستری در بخش ICU جنرال بیمارستان شریعتی تهران نمونه گیری بعمل آمد. از زمان بستری در بخش و اینتوبه شدن بیمارانی که در مطالعه وارد گشتند دو هفته گذشته بود و دارای علایمی از جمله تب، سرفه، ترشحات چرکی تنفسی، وجود اینفیلتراسیون‌های جدید ریوی در تصاویر رادیوگرافی بودند. اطلاعات دموگرافیک و بالینی بیماران از جمله سن، جنس، متوسط دمای بدن (تب)، دلیل بستری، تشخیص بیماری، طول مدت بستری، مدت و تعداد استفاده از لوله تراشه ثبت گردید. لوله‌های تراشه پس از خارج شدن از بدن بیمار در ظرف حاوی سرم فیزیولوژی استریل و تحت شرایط استریل به آزمایشگاه منتقل گردیدند. برای این منظور پس از ثبت مشخصات بر روی چسب نمونه، در شرایط زنجیره سرد بلافاصله به آزمایشگاه قارچ شناسی پزشکی منتقل شدند. سوسپانسیون به دست آمده را سانتریفیوژ کرده و سپس رسوب آن از لحاظ رشد عوامل قارچی و گونه‌های مختلف قارچ‌ها بخصوص قارچ‌های مخمری مورد بررسی قرار گرفتند. جهت تشخیص میکروسکوپی و مورفولوژی گونه‌های کاندیدا از روش‌های تهیه گسترش مرطوب به منظور بررسی عناصر قارچی و کشت در محیط‌های کشت اختصاصی کروم‌آگار^۵، و تست جرم تیوب^۶ استفاده گردید.

شناسایی مولکولی

استخراج DNA کاندیداهای جدا شده با استفاده از روش کلروفورم انجام شد. جهت شناسایی گونه‌های مهم کاندیدا از جمله آلبیکنس^۷، پاراپسیلوزیس^۸، تروپیکالیس^۹، کروزه‌ای^۱، گلابراتا^۲ و گیلرموندی^۳ قسمتی

^۵ CHROMagar^۶ Germ Tube^۷ C. albicans^۸ C. parapsilosis^۹ C. tropicalis^۱ Biofilms^۲ Substrate^۳ Biocides^۴ Commensal

جدول ۱ - اندازه ناحیه ITS1-ITS2 قبل و بعد از اثر آنزیم MspI

سایز باندهای RFLP	سایز باند محصول PCR	گونه کاندیدا
۲۹۷ و ۲۳۸	۵۳۵	گونه آلبیکنس
۳۴۰ و ۱۸۴	۵۲۴	گونه تروپیکالیس
۳۱۴ و ۵۵۷	۸۷۱	گونه گلابراتا
۲۴۹ و ۲۶۱	۵۱۰	گونه کروزهای
۳۷۱ و ۱۵۵ و ۸۲	۶۰۸	گونه گیلر موندی
۷۲۲	۷۲۲	گونه کفیر

Fermentas) با برش توالی CCGG اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. برای انجام الکتروفورز نمونه‌های RFLP، ژل ۲ درصد مورد استفاده قرار گرفت. عمل الکتروفورز با ولتاژ ۱۰۰۷ به مدت یک ساعت و نیم انجام شد و سایز باندهای حاصل از PCR و RFLP مورد بررسی قرار گرفتند. در جدول شماره ۱ اندازه ناحیه ITS1-ITS2 قبل و بعد از اثر آنزیم MspI نشان داده شده است.

نتایج:

در مطالعه حاضر تعداد ۹۵ لوله تراش‌های بیماران بستری در ICU جنرال بیمارستان شریعتی تهران مورد بررسی قرار گرفت. تشخیص اولیه بر پایه‌ی آزمایش مستقیم KOH 10 نشان داد که تعداد ۵۱ نمونه (۵۳/۶۳٪) آلوده به گونه‌های کاندیدا بودند. از بین نمونه‌های مثبت جدا شده از بیماران، ۶۴/۲٪ از این نمونه‌ها آلودگی همزمان قارچ با باکتری‌ها داشتند. بر اساس نتایج بدست آمده با روش تست جرم تیوب، ۵۲ درصد کلنی‌های مورد بررسی جرم تیوب مثبت بودند. همچنین در روش کشت در محیط کروم آگار، ۵۹ درصد کلنی با رنگ سبز، ۱۸ درصد کلنی آبی، ۱۴ درصد بنفش و ۹ درصد کلنی صورتی رنگ رشد کرده بود (شکل شماره ۱). بر اساس نتایج حاصل از تکنیک PCR-RFLP، فراوانی کاندیدایی در ۵۱ نمونه به ترتیب شامل گونه‌های کاندیدا آلبیکنس ۲۰ (۳۹/۲۱٪)، کاندیدا گلابراتا ۱۴ (۲۷/۴٪)، کاندیدا تروپیکالیس ۸ (۱۵/۶۸٪)، کاندیدا کروزهای ۶ (۱۱/۷٪) و کاندیدا پارپسیلوزیس ۳ (۵/۸٪) می‌گردید (شکل شماره ۲).

بحث:

مطالعات مختلف درصد عفونت در بخش ICU را بین ۱۵ تا ۵۰ درصد با میزان مرگ و میر بیش از ۲۶ درصد

قسمتی از DNA ریپوزومال (rDNA) بنام ITS1-ITS2 هدف تکثیر توسط PCR قرار گرفت. به عنوان پرایمر رفت یا سنس^۴، از پرایمر ITS1 با توالی (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG3') و به عنوان پرایمر برگشت یا آنتی‌سنس^۵، از پرایمر ITS4 با توالی (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3') استفاده گردید. در ابتدا پرمیکس PCR شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X بدون منیزیم، ۱/۵ میلی‌مول MgCl₂، ۰/۲ میکرومولار پرایمر رفت و برگشت، ۴۰۰ میکرومولار مخلوط دزوکسی‌نوکلئوزیدتری فسفات (dNTP) و ۱/۲۵ واحد آنزیم Taq DNA polymerase در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر تهیه شد. آنگاه به هر تیوب PCR، ۲۳ میکرولیتر از پرمیکس مذکور و ۲ میکرولیتر DNA استخراج شده از هر قارچ اضافه گردید. تیوب‌ها در دستگاه Thermal cycler قرار داده شد و مراحل PCR به شرح زیر برنامه‌ریزی و انجام شد: ۵ دقیقه در ۹۵ درجه به منظور جدا شدن دو رشته DNA از یکدیگر (DNA Denaturation)، ۳۰ سیکل شامل ۴۵ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۱ دقیقه ۵۵ درجه سانتی‌گراد (Annealing)، ۱ دقیقه ۷۲ درجه سانتی‌گراد (Extension) و در نهایت ۷ دقیقه ۷۲ درجه سانتی‌گراد (Final extension). جهت انجام تکنیک RFLP ۱۰ میکرولیتر از محصولات PCR هر کدام از ایزوله‌های بالینی، در واکنش ۱۵ میکرولیتری RFLP حاوی ۳ میکرولیتر آب مقطر، ۱/۵ میکرولیتر بافر، ۱ میکرولیتر از آنزیم Msp I (شرکت

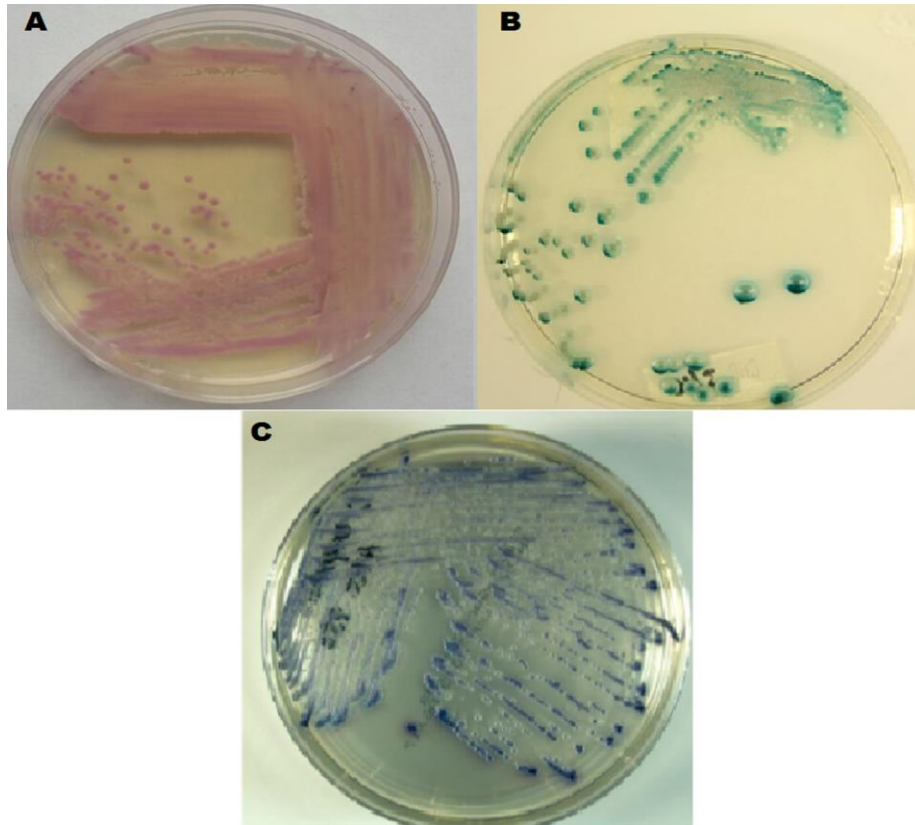
¹ C. krusei

² C. glabrata

³ C. guilliermondii

⁴ Sense

⁵ Antisense

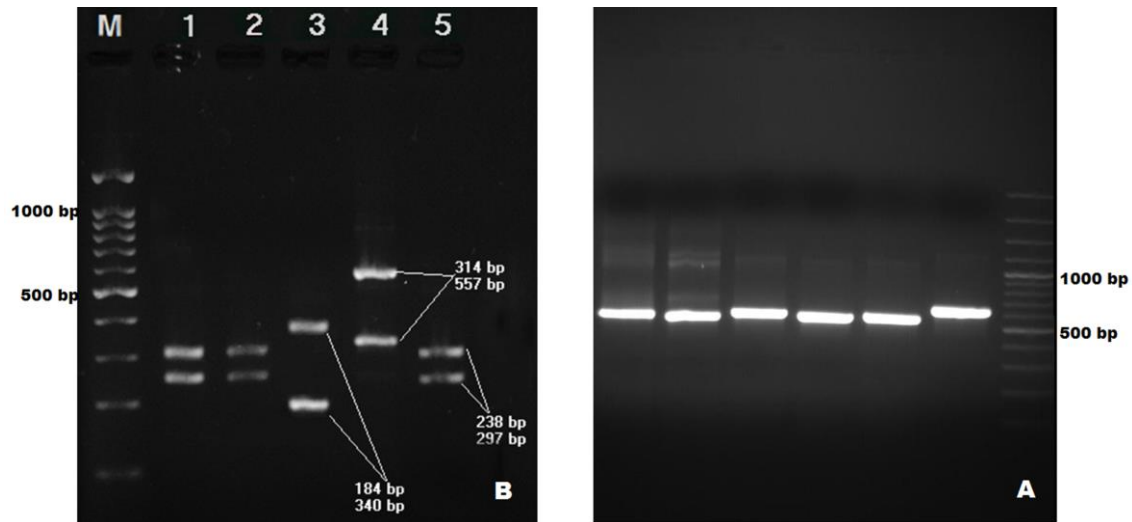


شکل ۱ - مشخصات مرفولوژیکی گونه های کاندیدا در محیط کشت کروم آگار کاندیدا
A: کاندیدا گلابراتا (بنفش)، B: کاندیدا آلبیکنس (سبز رنگ)، C: کاندیدا تروپیکالیس (کلنی آبی)

جایگاه و کلونیزاسیون کاندیدا و عفونت ناشی از آن در بیماران بستری موجود است [۱۵]. مطالعه‌ی حاضر جهت شناسایی گونه‌های کاندیدیایی جدا شده از بیوفیلم لوله تراشه‌ها با استفاده از روش PCR-RFLP با تکثیر ناحیه‌ی ITS1-5.8S-ITS2 و برش آنزیمی توسط آنزیم محدود کننده‌ی Msp I انجام گرفت که نشان داد گونه کاندیدا آلبیکنس در بین سایر گونه‌ها دارای شیوع (۳۲/۲٪) می‌باشد. این یافته با اطلاعات بیان شده در دیگر مطالعات مطابقت داشت [۱۵-۱۷]. در مطالعه Tran LT و همکاران که با هدف بررسی کلونیزاسیون گونه‌های کاندیدا در بیماران با جراحی قلب انجام شد، ۷۶/۷٪ گونه کاندیدا آلبیکنس جدا گردید (۱۸). Palabiyikoglu و همکاران نیز در بررسی کلونیزاسیون گونه‌های کاندیدا با روش RFLP-PCR در ۵۰ بیمار بستری در ICU با تهیه‌ی مکانیکی، ۱۲٪ کلونیزاسیون ناشی از گونه کاندیدا آلبیکنس را گزارش کردند [۱۷]. بر اساس نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر، شیوع سایر گونه‌های غیر آلبیکنس بترتیب گونه‌های کاندیدا گلابراتا

گزارش کرده‌اند [۱۲] بیماران بخش‌های ویژه به دلیل شرایط خاص و استفاده از وسایل و تجهیزات پزشکی متصل، مستعد ابتلا به عفونت‌هایی از جمله باکتریی ناشی از عفونت اولیه جریان خون می‌باشند. این موضوع عمدتاً به خاطر استفاده از کاتتر عروقی و پنومونی ناشی از کاربرد ونتیلاتور و عفونت‌های مجاری ادراری ناشی از بکاربردن سوندهای ادراری صورت می‌پذیرد [۱۳]. از آنجایی که ماهیت سیستم ارتباط سلول به سلول یا کروم سنسینگ^۱ در قارچ‌ها در تشکیل بیوفیلم ناشی از قارچ‌ها نقش مهمی ایفا می‌نماید، نیاز به بررسی‌های بیشتر جهت درک بهتر از این سیستم احساس می‌شود. روش‌های متفاوتی برای تعیین گونه‌های قارچی از جمله کاندیدا وجود دارد که در این بین روش‌های مولکولی بدلیل سرعت و دقت بالا از توجه ویژه‌ای برخوردارند [۱۴]. یکی از مهمترین گونه‌های قارچی جدا شده از نمونه‌های کاتترهای عروقی و بیوفیلم لوله تراشه‌های بیماران بستری جنس کاندیدا است. اما اطلاعات کمی در مورد

¹ Quorum sensing



شکل ۲ - الکتروفورز محصولات PCR ایزوله های کاندیدا جدا شده از لوله تراشه های بیماران بستری در ICU
 A: الکتروفورز محصولات PCR با استفاده از پرایمرهای ITS1 و ITS4 (M: 100 bp)
 B: الکتروفورز محصولات RFLP پس از هضم اندونوکلاز با آنزیم MSP1 (1، 2 و 5: گونه کاندیدا آلیکنس،
 3: گونه کاندیدا تروپیکالیس، 4: گونه کاندیدا گلابراتا و M: مارکر 100bp)

منظور شناسایی دقیق عامل بیماری را ضروری به نظر می‌رسد.

منابع:

- 1) Wenzel RP. Nosocomial candidemia: risk factors and attributable mortality. *Clinical Infectious Diseases*. 1995;20(6):1531-1534
- 2) Gudlaugsson O, Gillespie S, Lee K, et al. Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. *Clinical Infectious Diseases*. 2003;37(9):1172-1177.
- 3) Douglas LJ. Candida biofilms and their role in infection. *Trends in Microbiology*. 2003;11(1):30-36.
- 4) Hawser SP, Douglas LJ. Resistance of *Candida albicans* biofilms to antifungal agents in vitro. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1995;39(9):2128-2131.
- 5) Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annual Reviews in Microbiology*. 1995;49(1):711-745.
- 6) Baillie GS, Douglas LJ. Matrix polymers of *Candida* biofilms and their possible role in biofilm resistance to antifungal agents. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2000;46(3):397-403.
- 7) d'Enfert C. Biofilms and their role in the resistance of pathogenic *Candida* to antifungal agents. *Current Drug Targets*. 2006;7(4):465-670.
- 8) Chandra J, Mukherjee P, Leidich S, et al. Antifungal resistance of candidal biofilms

۴/۲۷٪، کاندیدا تروپیکالیس ۶۸/۱۵٪، کاندیدا کروزه‌ای ۷/۱۱٪ و کاندیدا پارپسیلوزیس ۸/۵٪ می‌باشند. در مطالعه Bukhari و همکاران در عربستان، از ۳۲ بیماری که در بخش مراقبت‌های ویژه بستری بودند شایعترین عامل فونگمی به ترتیب ۴۴٪ کاندیدا پارپسیلوزیس، ۲۵٪ کاندیدا تروپیکالیس، ۱۹٪ کاندیدا آلیکنس، ۶٪ کاندیدا کروزه‌ای، ۳٪ کاندیدا گلابراتا و ۳٪ کاندیدا گیلرموندی بودند [۱۸]. نتایج این مطالعه تنها تا حدودی، منطبق با گزارشات دیگر مطالعات بود که این ممکن است ناشی از تفاوت در بکارگیری روش‌های مختلف تشخیصی یا اختلاف در وضعیت اپیدمیولوژی منطقه و یا عوامل دیگر باشد. لذا با توجه به اینکه تشخیص فراوانی میکروارگانیزم‌ها در سطح گونه عوامل بیوفیلم و کلونیزاسیون لوله تراشه‌های بیماران بستری در بخش ICU در پیشگیری و درمان بیماران مفید می‌باشد، نیاز به بررسی‌های وسیع‌تر و بیشتری در این زمینه وجود دارد. همچنین با توجه به این که مطالعات انجام شده در زمینه اپیدمیولوژی این عوامل در ایران بیشتر با استفاده از روش‌های سنتی انجام گرفته است، بکارگیری روش‌های مولکولی از جمله PCR-RFLP جهت انجام مطالعات اپیدمیولوژیک و نیز گسترش، افزایش استفاده این تست‌ها در آزمایشگاه‌های تشخیصی فارغ شناسی به

- formed on denture acrylic in vitro. *Journal of Dental Research*. 2001;80(3):903-908.
- 9) Jain N, Kohli R, Cook E, Gialanella P, Chang T, Fries B. Biofilm formation by and antifungal susceptibility of *Candida* isolates from urine. *Applied and Environmental Microbiology*. 2007;73(6):1697-1703.
 - 10) Samaranayake Y, Ye J, Yau J, Cheung B, Samaranayake L. In vitro method to study antifungal perfusion in *Candida* biofilms. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005;43(2):818-825.
 - 11) Bassetti M, Righi E, Costa A, et al. Epidemiological trends in nosocomial candidemia in intensive care. *BMC Infectious Diseases*. 2006;6(1):21.
 - 12) Vincent JL, Anaissie E, Bruining H, et al. Epidemiology, diagnosis and treatment of systemic *Candida* infection in surgical patients under intensive care. *Intensive Care Medicine*. 1998;24(3):206-216.
 - 13) Charles PE, Dalle F, Aube H, et al. *Candida* spp. colonization significance in critically ill medical patients: a prospective study. *Intensive Care Medicine*. 2005;31(3):393-400.
 - 14) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard. 2nd ed. NCCLS Document M27-A2. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002.
 - 15) Ramage G, Saville SP, Thomas DP, López-Ribot JL. *Candida* biofilms: an update. *Eukaryotic Cell*. 2005;4(4):633-638.
 - 16) Panizo MM, Reviákina V, Dolande M, Selgrad S. *Candida* spp. in vitro susceptibility profile to four antifungal agents. Resistance surveillance study in Venezuelan strains. *Medical Mycology*. 2008;47(2):137-143.
 - 17) Palabiyikoğlu I, Oral M, Tulunay M. *Candida* colonization in mechanically ventilated patients. *Journal of Hospital Infection*. 2001;47(3):239-242.
 - 18) Bukharie H. Nosocomial candidemia in a tertiary care hospital in Saudi Arabia. *Mycopathologia*. 2002;153(4):195-198.

Molecular Identification of *Candida* spp. Recovered from Endotracheal Tube Biofilms in Intensive Care Unit Patients

Elham Reza zadeh¹, Hamid Badali², Sassan Rezaie³, Elham Baghdadi⁴
Mandana Ahmadi⁵, Somayeh Sharifynia³, Negar Shirvani Ghadikolai²
Sadegh Khodavaisy^{3,6*}

- 1) Department of Microbiology, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran
- 2) Department of Medical Parasitology and Mycology, Invasive Fungi Research Center (IFRC), Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
- 3) Department of Medical Parasitology and Mycology, Public Health Faculty, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 4) Department of Microbiology, Islamic Azad University of Varamin-Pishva Branch, Iran
- 5) Department of Microbiology, Faculty of Basic Science, Islamic Azad University, Shiraz Branch, Shiraz, Iran
- 6) Department of Medical Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

Abstract:

As an important health care problem, nosocomial infections are associated with high mortality rate and increasing hospital costs. The pathogenic organisms of these infections usually transmit to patients via hospital personnel and medical devices. Among them, *Candida* species are the most common fungi isolated from biofilms. Particularly, the biofilms formed by these organisms are identified in immunocompromised patients. The aim of this study was the molecular identification of isolated *Candida* spp. from endotracheal tubes of ICU patients.

Ninety five intubated and mechanically ventilated ICU patients were evaluated for the presence of endotracheal tube biofilms. The endotracheal tubes were cultured on Sabouraud Dextrose agar. Using PCR-EFLP method, the ITS1-5.8S-ITS2 region was amplified and digested by the restriction enzyme *MspI*.

By the evaluation of 51 isolates which were derived from all samples, *C. albicans* was the most frequently isolated species 20 (39.2%), followed by non albicans spp. of *C. glabrata* 14 (27.4%), *C. tropicalis* 8 (15.6%), *C. krusei* 6 (11.7%), and *C. parapsilosis* 3 (5.8%).

The results show that *Candida albicans* was the most frequent species isolated from endotracheal tubes. Knowledge about the species identification of *Candida* biofilms can be helpful for clinicians to manage intensive care unit patients.

Keywords: Nosocomial infection, Endotracheal tubes, *Candida* spp, PCR-RFLP

* Corresponding Author:

Sadegh Khodavaisy, Department of Medical Mycology, Kurdistan University of Medical Sciences. Email: sadegh_7392008@yahoo.com