مقاله تحقیقی

بررسی تشکیل بیوفیلم و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در جدایه های بالینی سودوموناس آئروژینوزا

زهرا رسالتی[1]، معصومه مهدوی اورتاکند[2,*]، سحر هنرمند جهرمی[1]

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین-پیشوا، ایران
۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین-پیشوا، ایران

***مسئول مکاتبات:** آدرس الکترونیکی: masumehmahdavi@gmail.com

محل انجام تحقیق: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین-پیشوا، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۵/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۱۲

فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد ۱۲- شماره ۴- زمستان ۱۳۹۶

چکیده

سودوموناس آئروژینوزا یکی از مهمترین پاتوژن‌های بیمارستانی است. یکی از مشکلات درمانی این باکتری، مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن به درمان‌های رایج آنتی‌بیوتیکی است که با تولید بیوفیلم مرتبط می‌باشد. این مطالعه به منظور یافتن ارتباط بین مقاومت آنتی بیوتیکی و تشکیل بیوفیلم بر روی سودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده از ۵۰ نمونه بالینی بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان میلاد شهر تهران صورت گرفت. برای شناسایی و جداسازی باکتری سودوموناس آئروژینوزا تست‌های بیوشیمیایی و افتراقی انجام شد. مقاومت سویه ها توسط تست آنتی بیوگرام تعیین گردید و قدرت تشکیل بیوفیلم سویه به روش میکروتیترپلیت بررسی شد. نتایج نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک تیکارسیلین (۴۸٪) و ایمی‌پنم (۳۶٪) بود و ۱۷ سویه (۳۴٪) دارای مقاومت چندگانه دارویی بودند. همچنین قدرت تشکیل بیوفیلم سویه ها نشان داد که ۵۲٪ از آنها دارای بیوفیلم قوی بود و از میان ۱۷ سویه سودوموناس آئروژینوزا با مقاومت چندگانه دارویی، ۱۲ سویه توانایی تشکیل بیوفیلم قوی داشتند. مطابق نتایج به دست آمده درصد قابل توجهی از سویه های MDR توانایی تولید بیوفیلم قوی دارند. با توجه به نقش بیوفیلم ها در کاهش نفوذ دارو به داخل سلول، باکتری‌های مولد بیوفیلم مقاومت دارویی زیادی دارند که این مساله هشداری برای جامعه پزشکی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: مقاومت آنتی بیوتیکی، بیوفیلم، سودوموناس آئروژینوزا.

مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا، باکتری میله‌ای گرم منفی و یک پاتوژن فرصت طلب است. سویه‌های موکوئیدی این باکتری با تولید لایه گلیکوکالیکس با ویسکوزیته بالا که آلژینات نام دارد، در برابر عوامل ضدمیکروبی و سیستم ایمنی بدن، سد دفاعی ایجاد می‌کند. این باکتری، عامل عفونت‌های متنوع و گسترده‌ای، به ویژه در افراد مبتلا به نقص ایمنی، بیماران سرطانی، ایدزی، سیستیک فیبروزیس و سوختگی‌ها می‌باشد. بیماری‌زایی سودوموناس آئروژینوزا به تولید چندین فاکتور ویرولانس شامل پیلی، فلاژل، ادهسین‌های غیر پیلی، اگزوتوکسین‌ها، پروتئاز و بیوفیلم بستگی دارد. یکی از مشکلات درمانی این باکتری، مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن به درمان‌های رایج آنتی‌بیوتیکی است که با تولید بیوفیلم مرتبط می‌باشد (۱ و ۵). یکی از مشکلات درمانی در بیماران مبتلا به عفونت‌های ناشی از این باکتری، مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری به درمان‌های رایج آنتی‌بیوتیکی بوده که این مقاومت‌ها در بسیاری از موارد با تولید بیوفیلم ارتباط دارند.

بیوفیلم باکتری، از باکتری‌های محصور در ساختار آلژینات به وجود آمده که در طی اتصال به سطح ایجاد

مقاومت آنتی‌بیوتیکی بیوفیلم، هزار برابر فرم پلانتونیک‌هاست (۷). در گذشته تصور می‌شد که عوامل ضدمیکروبی و آنتی‌بیوتیک‌ها باعث اختلال در سیستم متابولیکی بیوفیلم و تضعیف آن می‌شوند اما طیف وسیعی از بیوفیلم‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها پاسخ نمی‌دهند معمولاً با مصرف یک دوره آنتی‌بیوتیک، عفونت فروکش می‌کند اما نشانه‌های بالینی عفونت‌های ایجاد شده توسط بیوفیلم اغلب پس از مصرف یک دوره از آنتی‌بیوتیک‌ها و قطع آن، دوباره بروز می‌کند (۸). تنها به این دلیل که آنتی‌بیوتیک‌ها فقط باعث کاهش سرعت رشد باکتری می‌شوند، در نتیجه بیوفیلم به صورت یک عفونت فرصت‌طلب برای ایجاد عفونت مزمن باقی می‌ماند (۹). از طرفی روابط سینرژیسم و همیاری بین باکتری های بیوفیلم در مقاومت آن‌ها در شرایط نامساعد موثر است (۱۰،۱۱).

با توجه به شیوع بسیار بالای عفونت های بیمارستانی ناشی از سوئوموناس آئروژینوزا و همچنین گسترش مقاومت آنتی بیوتیکی، این مطالعه با هدف توان تشکیل بیوفیلم و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی این سویه ها انجام شد.

مواد و روش ها

این مطالعه بر روی سودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده از ۵۰ نمونه بالینی شامل ادرار، زخم، مدفوع و خون بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان میلاد شهر تهران به صورت سرپایی و بستری از دی تا بهمن ۱۳۹۵ انجام گرفت. برای شناسایی و جداسازی باکتری سودوموناس آئروژینوزا تست‌های بیوشیمیایی و افتراقی شامل رنگ آمیزی گرم و مشاهده مستقیم، سیمون سیترات، اوره آز، مک کانکی آگار، آگار خون دار، TSI، SIM، MRVP، تست اکسیداز و تست OF انجام شد. نمونه‌ی استاندارد مورد مطالعه در این تحقیق شامل *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 بودکه به صورت لیوفیلیزه از شرکت درواش خریداری شد.

انجام تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش انتشار در دیسک

حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جداسازی شده به روش انتشار از دیسک و بر اساس استاندارد CLSI 2017 نسبت به ۱۰ آنتی‌بیوتیک با استفاده از کشت بر روی محیط مولر هینتون آگار بررسی شد (جدول۱). دیسک های آنتی بیوتیک جهت انجام آزمایش تعیین حساسیت میکروبی به روش دیسک دیفیوژن آگار ابتدا توسط سویه ATCC27853 خریداری شده از شرکت داروش کنترل کیفی شد به این ترتیب که ابتدا این سویه استاندارد را در محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد و قطر هاله بدست آمده جهت اطمینان با استاندارد CLSI 2016 مقایسه شد.

بعد از ایزوله کردن باکتری، مقداری از کلونی باکتری را به‌وسیله انس برداشته و در سرم فیزیولوژی استریل حل شد وپس از تهیه سوسپانسون میکروبی معادل غلظت نیم مک فارلند، به وسیله سواپ بر روی محیط کشت مولرهینتون آگار به صورت چمنی کشت داده شد. بعد از کشت، دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی (شرکت پادتن طب- ایران) عبارتند از: سفتازیدیم (CAZ) ۳۰ میکروگرم، سیپروفلوکساسین (CP) ۵ میکروگرم، ایمی‌پنم (IPM)۱۰ میکروگرم، پیپراسیلین (PIP) ۱۰۰ میکروگرم، تیکارسیلین (TIC)۱۰ میکروگرم، جنتامایسین (GM) ۱۰ میکروگرم، آمیکاسین (AN) ۳۰ میکروگرم، لووفلوکساسین (LOM) ۵ میکروگرم، آزترونام (AZT) ۳۰ میکروگرم و مروپنم (MEN)۱۰ میکروگرم که از قبل تهیه شده است که از نیم ساعت قبل از انجام تست، بیرون یخچال قرار داده شده بود را انتخاب و بر روی محیط کشت انتقال داده شد. نحوه قرار دادن دیسک‌ها در محیط کشت مولر هینتون، به‌صورت دایره‌ای است و فاصله این دیسک‌ها از هم دیگر حدود ۲۵ میلی‌متر باشد و باید از دیواره هم فاصله داشته باشند. بعد از قرار دادن دیسک‌ها، در پلیت را بسته و به مدت ۲۴ ساعت آن‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، انکوبه شدند. بعد از ۲۴ ساعت پلیت زیر چراغ بررسی شدند. قطر هاله عدم رشد را با خط‌کش اندازه‌گیری و گزارش تست آنتی-بیوگرام برای هر یک از آنتی‌بیوتیک‌ها، به‌صورت حساس[1] مقاوم[2]و یا نیمه‌حساس[3]طبق جدول CLSI 2016 گزارش شدند.

[1] Susceptible
[2] Resistant
[3] Intermediate

پس از انجام تست دیسک دیفیوژن و تعیین مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیکی همه سویه‌های مورد مطالعه، سویه-هایی که به بیش از دو کلاس مختلف آنتی‌بیوتیکی مقاوم بودند به‌عنوان سویه‌های MDR[4] انتخاب شد.

بررسی تشکیل بیوفیلم ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس به روش میکروتیترپلیت

قدرت تشکیل بیوفیلم ۵۰ سویه سودوموناس آئروژینوزا به روش میکروتیترپلیت بررسی شد. برای این منظور ابتدا محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار حاوی ۲٪ گلوکز و همچنین تریپتیکاز سوی براث حاوی ۲٪ گلوکز تهیه گردید. سپس نمونه‌های باکتری روی محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار حاوی ۲٪ گلوکز کشت ایزوله خطی داده شد و به صورت شبانه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ساعت مورد انکوباسیون قرار گرفت. از کلنی-های ایجاد شده روی این محیط کشت با لوپ برداشته شده و روی محیط کشت تریپتیکاز سوی براث حاوی ۲٪ گلوکز برده شد به طوریکه سوسپانسیون باکتریایی مشابه کدورت نیم مک‌فارلند باشد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی برداشته و در پلیت میکروتیتر ۹۶ خانه‌ای پلی-استرنی وارد گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد. بعد از انکوباسیون تمام چاهک‌های میکروپلیت آسپیره شدند و سپس چاهک‌ها با ۲۰۰ میکرولیتر بافر PBS به منظور برداشته شدن تمام سلول‌های متصل نشده به یکدیگر، شسته شدند. باکتری-های چسبیده با ۲۰۰ میکرولیتر متانول ۹۹ درصد به مدت ۲۵ دقیقه فیکس شدند. بعد از گذشت ۲۵ دقیقه متانول با سمپلر از چاهک‌ها خارج و چاهک‌ها در مجاور هوا خشک شد. در مرحله بعد ۲۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله ۲٪ به چاهک‌ها اضافه شد و ۲۰ دقیقه زمان داده شد تا سویه‌های تشکیل دهنده بیوفیلم متصل به کف چاهک‌ها، رنگ‌آمیزی شوند. بعد از گذشت ۲۰ دقیقه پلیت از رنگ خالی شد و چاهک‌ها به منظور بهتر شسته شدن رنگ اضافی با آب مقطر استریل پر شده و شسته شدند و دوباره میکروپلیت در مجاورت هوا خشک شد. به چاهک‌ها ۲۰۰ میکرولیتر استیک اسید گلاسیال ۳۳٪ اضافه کرده تا کاملاً رنگ‌های باقی مانده در آن حل شوند. پلیت‌ها ۱۵ دقیقه در دمای محیط نگهداری شدند و در نهایت OD چاهک‌ها با دستگاه الایزا مدل citation 3 و متعلق به شرکت Bio Tek و طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. این آزمون با سه بار تکرار برای هر نمونه باکتری صورت گرفت و یک چاهک حاوی محیط کشت خالی که همان محیط کشت تریپتیکاز سوی براث حاوی ۲٪ گلوکز بود به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. کنترل مثبت در این آزمایش سویه *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 بود. جهت بررسی توانایی تشکیل بیوفیلم سویه‌ها، از روش تعیین معیار طبقه بندی مقادیر جذب نوری یا ODc[5] استفاده شد. ODc از رابطه میانگین OD کنترل منفی به اضافه ۳ برابر انحراف معیار کنترل منفی به دست آمد. (۱۲ و ۱۳). OD اندازه‌گیری شده به منظور توانایی تشکیل بیوفیلم سویه‌ها در نظر گرفته می‌شود که با Standard deviation calculator با فرمول و الگوی جدول ۱ انجام و مقایسه شد.

نتایج

نتایج حاصل از تست مقاومت آنتی‌بیوتیکی سودوموناس آئروژینوزا

بعد از کشت باکتری ها بر روی محیط مولر هینتون آگار دیسک های آنتی بیوتیکی برای تعیین مقاومت سویه-ها، به صورت دایره ای برای محیط کشت قرار گرفتند و پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند. پس از دیسک گذاری و بررسی قطر هاله عدم رشد و تطبیق دادن آن با جدول CLSI, 2017 باکتری های حساس و مقاوم به آنتی بیوتیک ها شناسایی شدند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که درصد فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا مطابق جدول ۲ به‌ترتیب ۴۸٪، ۳۶٪، ۲۰٪، ۲۰٪، ۱۸٪، ۱۸٪، ۱۸٪، ۱۶٪، ۱۶٪ و ۱۴٪ مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های (تیکارسیلین، ایمی‌پنم، آمیکاسین، پیپراسیلین، سفتازیدیم، زترونام، مروپنم، جنتامایسین، لووفلوکساسین و سیپروفلوکساسین) گزارش شد.

[4] Multidrug-resistant

[5] Optical Density cut-off value

جدول ۱ - تشکیل بیوفیلم بر اساس OD اندازه‌گیری شده در چاهک‌ها

تولید بیوفیلم	میانگین OD
بیوفیلم منفی	$OD \leq ODc$
بیوفیلم ضعیف	$ODc < OD \leq 2 \times ODc$
بیوفیلم متوسط	$2 \times ODc < OD \leq 4 \times ODc$
بیوفیلم قوی	$4 \times ODc < OD$

ODc (Optical density cut-off value): میانگین OD کنترل منفی+ سه برابر انحراف معیار (SD) کنترل.

جدول ۲ - تعداد و درصد فراوانی حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی سودوموناس آئروژینوزا (تعداد کل نمونه‌ها ۵۰)، سفتازیدیم (CAZ)، سیپروفلوکساسین (CP)، ایمی‌پنم (IPM) ، پیپراسیلین (PIP) ، تیکارسیلین (TIC) ، جنتامایسین (GM)، آمیکاسین (AN)، لووفلوکساسین (LOM)، آزترونام (AZT) و مروپنم (MEN).

آنتی‌بیوتیک‌ها	حساس	نیمه حساس	مقاوم
TIC	N=7 / (14%)	N=19/ (38%)	N=24 / (48%)
CAZ	N=37 / (74%)	N=4 /(8%)	N=9 / (18%)
CP	N=36 / (72%)	N=7 / (14%)	N=7 / (14%)
AN	N=35 / (70%)	N=5 / (10%)	N=10 / (20%)
LOM	N=32 / (64%)	N=10 / (20%)	N=8 / (16%)
GM	N=42 / (84%)	N=0 / (0%)	N=8 / (16%)
AZT	N=25 / (50%)	N=6 / (12%)	N=9 /(18%)
MEN	N=33 / (66%)	N=8 / (16%)	N=9 / (18%)
PIP	N=31 / (62%)	N=9 / (18%)	N=10 /(20%)
IPM	N=23 / (46%)	N=9 / (18%)	N=18 / (36%)

نتایج تعیین سویه های MDR و غیر MDR باکتری *سودوموناس آئروژینوزا*

پس از تعیین حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی، سویه-هایی که به بیش از سه کلاس مختلف آنتی‌بیوتیکی مقاوم بودند به‌عنوان سویه‌های MDR انتخاب شدند. از بین ۵۰ سویه سودوموناس آئروژینوزا مورد بررسی، ۱۷ سویه (۳۴٪) MDR و ۳۳ سویه (۶۶٪) غیر MDR بودند. بر این اساس سویه های شماره ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۴، ۱۹، ۲۲، ۲۵، ۳۲، ۳۴، ۳۹، ۴۰، ۴۱، ۴۴، ۴۸ و ۴۹ به عنوان سویه های MDR تعیین شد.

نتایج بررسی تشکیل بیوفیلم ایزوله‌های جمع‌آوری شده سودوموناس آئروژینوزا

۵۰ سویه سودوموناس آئروژینوزا، از نظر تشکیل بیوفیلم مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج در طول موج ۷۰ نانومتر توسط دستگاه الایزاریدر خوانش شد. نتایج تشکیل بیوفیلم به تفکیک مشخص شد. پس از خوانش OD نتایج بیوفیلم به روش CUT OFF به تفکیک مشخص شد. نتیجه بر اساس میانگین اعداد خوانده شده توسط دستگاه الایزاریدر با طول موج ۵۷۰ نانومتر، از ۵۰ سویه سودوموناس آئروژینوزا ۲۶ سویه (۵۲٪) بیوفیلم قوی (سویه های شماره ۶، ۷، ۸، ۱۱، ۱۲، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۸، ۲۰، ۲۱

۲۲، ۲۶، ۳۴، ۳۵، ۳۶، ۳۷، ۳۸، ۳۹، ۴۰، ۴۱، ۴۲، ۴۳، ۴۴، ۴۸، ۴۹) و ۲۴ سویه (۴۸٪) بیوفیلم ضعیف تشکیل داده‌اند. در این بررسی هیچ سویه فاقد قدرت تشکیل بیوفیلم گزارش نشد.

بحث

سودوموناس آئروژینوزا یکی از باکتری های گرم منفی، متحرک، غیر تخمیری است. این ارگانیسم یکی از پاتوژن های فرصت طلب و عامل عفونت هایی از قبیل پنومونی، عفونت دستگاه ادراری، باکتریمی، عفونت پوستی، عفونت گوش و چشم محسوب می شود. نیازها ی تغذیه ای ساده، فاکتورهای ویرولانس متعدد، و از همه مهمتر مقاومت بسیار بالا به طیف وسیعی از مواد ضد میکروبی از این ارگانیسم یک پاتوژن فوق العاده خطرناک ساخته است (۱۴). مقاومت چند دارویی اکنون به نگرانی بهداشت جهانی تبدیل شده زیرا تاثیر درمان با آنتی باکتریال ها را تهدید می کند و همچنین تلاش برای تولید آنتی باکتریال های جدید را به چالش کشانده است (۱۵). با مصرف بالینی آنتی‌بیوتیک ها، شیوع سویه‌های سودوموناس ائروژینوزای بیمارستانی مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک (MDR) در سراسر جهان افزایش یافته و یک مشکل جدی در مدیریت بیمارستانی میباشد. کنترل شیوع این ارگانیسم‌های مقاوم، اغلب مشکل است، زیرا سودوموناس ائروژینوزا دارای مقاومت ذاتی نسبت به عوامل ضد میکروبی متعدد می-باشد (۱۶). مقاومت در سودوموناس ائروژینوزا از طریق مکانیسم‌های متعددی صورت می‌پذیرد. مکانیسم‌های مقاومت سودوموناس ائروژینوزا شامل تولید بتالاکتامازها، پمپهای ترشحی و تشکیل بیوفیلم می‌باشد. مقاومت به داروهای متعدد، معمولا نتیجه ترکیبی از مکانیسم‌های متفاوت در یک سویه یا عملکرد یک مکانیسم خاص می‌باشد (۱۷).

در مطالعه حاضر ابتدا تست مقاومت آنتی بیوتیکی برای تعیین سویه های دارای مقاومت چندگانه دارویی، روی ۵۰ نمونه بالینی سودوموناس آئروژینوز شامل خون، زخم، مدفوع و ادرار بیماران مراجعه کننده به بیمارستان میلاد تهران انجام شد. مقاومت آنتی بیوتیکی این سویه ها به ۱۰ آنتی بیوتیک بررسی شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که از بین ۵۰ سویه مورد بررسی، بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک تیکارسیلین (۴۸٪) و ایمی‌پنم (۳۶٪) بود و ۱۷ سویه (۳۴٪) دارای مقاومت چندگانه دارویی بودند. حبیبی و همکارانش در سال ۱۳۹۵ با بررسی فراوانی و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بخش‌های مختلف بیمارستان‌های تهران، به این نتیجه رسیدند که ۸۸٪ ایزوله‌ها به حداقل یک یا بیشتر از یک آنتی بیوتیک مقاوم بودند و ۷۰٪ از سویه‌ها مقاومت چندگانه دارویی از خود نشان دادند (۲). نوری طلب و همکارانش بررسی فراوانی سودوموناس آئروژینوزای مقاوم به چند دارو در بیماران مبتلا به پنومونی وابسته به دستگاه تنفس مصنوعی را بررسی نمودند و نشان دادند که ۷۵ ٪ ازسویه‌های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده MDR بوده و ۵۰ ٪ آنها نسبت به تمام گروه های آنتی‌بیوتیکی مقاومت نشان دادند (۳).

امروزه تشکیل بیوفیلم روی سطوح پزشکی نظیر سوندها، پروتزها، لنزهای تماسی و غیره به یک معضل در دنیای پزشکی تبدیل شده است. بیوفیلم‌ها به علت مقاومت به ترکیبات ضدمیکروبی حائز اهمیت هستند (۱۸ و ۱۹). در مطالعه حاضر بررسی قدرت بیوفیلم سویه ها به روش میکروتیترپلیت نشان داد که ۵۲٪ از سویه‌ها دارای بیوفیلم قوی بود و توانایی تشکیل بیوفیلم را بر پلیت‌های میکروتیتر (از جنس پلی‌استرن) داشتند. به نظر میرسد که این جدایه‌ها توانایی تشکیل بیوفیلم را روی سطوح دیگری نظیر سطوح پزشکی نیز داشته باشند. Bendouah و همکارانش در سال ۲۰۰۶ گزارش داد که از ۱۰ سویه سودوموناس آئروژینوزا مورد مطالعه، ۶ سویه (۶۰٪) قدرت تشکیل بیوفیلم را داشتند (۲۰). بر اساس مطالعه قوطاسلو و همکارانش در سال ۱۳۹۴ مشخص شد که در غربالگری اولیه از ۸۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا مورد مطالعه ۴۰ ایزوله (۵۰٪) تولید کننده بیوفیلم بودند (۴).

در میان ۱۷ سویه سودوموناس آئروژینوزا با مقاومت چندگانه دارویی، ۱۲ سویه توانایی تشکیل بیوفیلم قوی داشتند. نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان دهنده توانایی تولید بیوفیلم توسط درصد قابل توجهی از جدایه‌های مورد بررسی با مقاومت دارویی چند گانه است. کسب توانایی بیوفیلم می‌تواند یک استراتژی خوب، به منظور افزایش بقا تحت شرایط استرس، به عنوان مثال، در طول حمله میزبان یا پس از درمان آنتی بیوتیک باشد. به دلیل خواص متمایز و نقش بیوفیلم ها در کاهش نفوذ دارو به داخل سلول‌های

باکتریایی، باکتری‌های مولد بیوفیلم مقاومت دارویی زیادی دارند که این مساله هشداری برای جامعه پزشکی می‌باشد که می تواند باعث افزایش مرگ و میر در بیمارستان ها گردد (۲۱). درک بیشتر ماهیت بیوفیلم و ارتباطات بین سلولی در بیوفیلم و همچنین نقش آن‌ها در ارتباط با مقاومت، به درمان عفونت های ناشی از آن کمک خواهد کرد. از محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به تعداد محدود جدایه‌های باکتریایی اشاره نمود. بنابراین انجام مطالعات تکمیلی با تعداد سویه های بیشتر و استفاده از گزینه‌های درمانی مختلف از جمله نانوذرات و ترکیبات گیاهی، می‌تواند راهگشای مهار بیوفیلم سویه های سودوموناس آئروژینوزا شود.

تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا می باشد.

منابع مورد استفاده

۱. قوطاسلو ر، صلاحی‌اشلقی ب، ۱۳۹۲. بیوفیلم سودوموناس آئروژینوزا و روش‌های پیشگیری و درمان‌های تازه آن. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ۱۲(۹): ۷۴۷-۷۶۸.

۲. حبیبی ع، امیرمظفری ن، فلاح مهرآبادی ج، کاظمی درسنکی ر، ۱۳۹۵. فراوانی و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بخش‌های مختلف بیمارستان‌های تهران. مجله علوم پزشکی رازی، ۲۳ (۱۴۶) :۱۶-۱۰

۳. نوری طلب ن، لطیف نیا م، سمرباف زاده ع، شمس پور ن، طالبی طاهر م، مصطفوی ا و همکاران، ۱۳۹۲. بررسی فراوانی پسودوموناس آئروژینوزای مقاوم به چند دارو در بیماران مبتلا به پنومونی وابسته به دستگاه تنفس مصنوعی. مجله علوم پزشکی رازی، ۲۰(۱۱۲) :۲۳-۱۶.

۴. قوطاسلو ر، سقتی ح، دهناد ع، صلاحی اشلقی ب، ۱۳۹۴. مطالعه اثر ضدباکتریایی عسل آذربایجان روی بیوفیلم سودوموناس ائروژینوزا. مجله میکروب شناسی پزشکی ایران، ۹ (۴): ۴۰-۴۶.

5. Aslani, M.M., Sharafi, Z. and Shahcheraghi, F., 2010. Nik Bin V, Hashemi Poor M, Ebrahimi Poor Gh. Molecular detection and identification of virulence factors of Pseudomonas aeruginosa isolated from wound and burn infections. Pajouhandeh 15:287-92.
6. Bjarnsholt, T., Jensen, P.Ø., Fiandaca, M.J., Pedersen, J., Hansen, C.R., Andersen, C.B., Pressler, T., Givskov, M. and Høiby, N., 2009. Pseudomonas aeruginosa biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. Pediatric pulmonology 44: 547-558.
7. Mulcahy, H., Charron-Mazenod, L. and Lewenza, S., 2008. Extracellular DNA chelates cations and induces antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa biofilms. PLoS pathogens 4(11): p.e1000213.
8. Stewart, P.S. and Costerton, J.W., 2001. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. The lancet 358:135-138.
9. Wagner, V.E. and Iglewski, B.H., 2008. P. aeruginosa biofilms in CF infection. Clinical Reviews in Allergy & Immunology 35(3): 124-134.
10. Drenkard, E., Ausubel, F.M., 2002. Pseudomonas biofilm formation and antibiotic resistance are linked to phenotypic variation. Nature 416(6882: 740.
11. Lear, G. and Lewis, G.D. eds., 2012. Microbial biofilms: current research and applications. Horizon Scientific Press.
12. Bauer A.W., Kirby M. M., Sherris J.C., Jurek M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single method. Am J Clin Pathol 45:493-6.
13. Stepanovic S., Vukovi D., Hola V., et al., 2007. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of bioflm production by Staphylococci. APMIS115:891-9.
14. Dashtizadeh, Y., Moattari, A. and Gorzin, A.A., 2014. Phenotypic and genetically evaluation of the prevalence of efflux pumps and antibiotic resistance in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa among burned patients admitted to Ghotbodin Shirazi Hospital. Journal of Microbial World 7(2): 118-127.
15. Hall-Stoodley, L., Costerton, J.W. and Stoodley, P., 2004. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. Nature Reviews Microbiology 2(2): 95.
16. Tabatabaei, M. and Sohrabi, N., 2017. Comparison of biofilm formation and antibiotic resistance pattern of Pseudomonas aeruginosa in human and environmental isolates. Microbial Pathogenesis 109: 94-98.

17. Poole, K., 2007. Efflux pumps as antimicrobial resistance mechanisms. Annals of Medicine 39(3): 162-176.
18. Saffari, M., Karami, S., Firoozeh, F., Sehat, M., 2017. Evaluation of biofilm-specific antimicrobial resistance genes in Pseudomonas aeruginosa isolates in Farabi Hospital. Journal of Medical Microbiology 66(7): 905-909.
19. Asadpour, L., 2018. Antimicrobial resistance, biofilm-forming ability and virulence potential of Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients in northern Iran. Journal of Global Antimicrobial Resistance 13: 214-220.
20. Bendouah, Z., Barbeau, J., Hamad, W.A., Desrosiers, M., 2006. Biofilm formation by Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa is associated with an unfavorable evolution after surgery for chronic sinusitis and nasal polyposis. Otolaryngology—Head and Neck Surgery 134(6): 991-996.
21. Donlan, R.M., Costerton, J.W., 2002. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clinical Microbiology Reviews 15(2): 167-193.