

Investigation of biofilm formation and production of broad-spectrum beta-lactamases by *Acinetobacter* strains isolated from Kerman medical diagnostic laboratories¹

Fatemeh Tavakoli Chatrood

Department of Microbiology, Ke.C., Islamic Azad University, Kerman, Iran.
tavakoli1403@gmail.com

Farokh Rokhbakhsh-Zamin

Department of Microbiology, Ke.C., Islamic Azad University, Kerman, Iran (**Corresponding author**).
rokhbakhsh@iau.ac.ir

Abstract

Introduction: *Acinetobacter* is an opportunistic pathogen that causes nosocomial infections and wide range of infections including pneumonia, bacteremia, surgical wound infection, urinary tract infection and meningitis. The aim of this study was to evaluate the antibiotic resistance and biofilm production of *Acinetobacter* strains isolated from hospitals in Kerman.

Materials and methods: This cross-sectional descriptive study was performed on 27 hospital clinical specimens. First, biochemical tests were performed on the samples to isolate and confirm the genus *Acinetobacter*. Differential tests were performed after confirming the presence of gram-negative coccobacilli. The pattern of antibiotic resistance of the isolates was determined by disc diffusion method by 10 antibiotics and then the ability of biofilm formation in these strains was also evaluated.

Results: The results showed that colistin was the most effective antibiotic. The results of *Acinetobacter* cell surface adhesion index at 600 nm showed that two isolates had the index of more than 70% and two ones had the index less than 30% and the highest value was related to AC5003 and AC5015 strains. The lowest values were for AC5017 and AC5027. The results of the study of biofilm (glass and plastic) bacterial surface adhesion and biofilm formation on plastic tubes that were in the shaker incubator were higher.

Conclusion: This study showed an increasing trend of *Acinetobacter* antibiotic resistance to the above antibiotics and the spread of biofilm-producing clinical isolates. Therefore, due to the clinical importance of this resistant strain in hospitals, its rapid identification and implementation of infection control programs in different parts of the hospital is necessary.

Keywords: *Acinetobacter*, Antibiotic resistance, Biofilm formation, Nosocomial infections.

¹ Received: 2024/05/27 ; Revised: 2024/06/24 ; Accepted: 2024/08/07; Published online: 2024/10/03



بررسی ایجاد بیوفیلم و تولید بتالاکتاماز های وسیع الطیف توسط جدایه‌های اسیتوباکتر ایزوله شده از آزمایشگاه‌های تشخیص طبی کرمان^۲

فاطمه توکلی چترودی

گروه میکروبیولوژی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران

tavakoli1403@gmail.com

فرخ رخ بخش زمین

گروه میکروبیولوژی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران (نویسنده مسئول). rokhbakhshzamin@iau.ac.ir

چکیده

هدف: اسیتوباکتر از پاتوژن‌های فرصت‌طلب عامل عفونت‌های بیمارستانی بوده و طیف وسیعی از این عفونت‌ها که شامل پنومونی، باکتری، عفونت زخم جراحی، عفونت مجرای ادراری و مننژیت می‌باشند را ایجاد می‌کند. این مطالعه با هدف بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و پتانسیل ایجاد بیوفیلم توسط جدایه‌های اسیتوباکتر ایزوله شده از بیمارستان‌های شهر کرمان انجام شده است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه توصیفی - مقطعی بر روی ۲۷ نمونه بالینی بیمارستانی انجام شد. ابتدا آزمایش‌های بیوشیمیایی بر روی نمونه‌ها به منظور جداسازی و تأیید جنس اسیتوباکتر انجام گردید. پس از تأیید حضور کوکوباسیل‌های گرم منفی، تست‌های افتراقی انجام گرفت. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها به روش انتشار دیسک برای ۱۰ آنتی‌بیوتیک تعیین شد و توانایی تشکیل بیوفیلم در این سویه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که باکتری‌ها نسبت به همه آنتی‌بیوتیک‌ها ۹۸-۱۰۰ درصد مقاوم بودند. کلیستین به عنوان موثرترین آنتی‌بیوتیک شناسایی شد. نتایج شاخص چسبندگی سطح سلول باکتری اسیتوباکتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر نشان داد که دو جدایه دارای شاخص بیشتر از ۷۰ درصد و دو جدایه دارای شاخص کمتر از ۳۰ درصد بودند و بیشترین مقدار مربوط به سویه AC5003 و AC5015 و کمترین مقدار مربوط به AC5017 و AC5027 بوده است. نتایج بررسی ایجاد بیوفیلم (شیشه و

^۲ تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۰۷ ؛ تاریخ اصلاح: ۱۴۰۳/۰۴/۰۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۱۷ ؛ تاریخ انتشار آنلاین: ۱۴۰۳/۰۷/۱۲



پلاستیک) چسبندگی سطحی باکتریال و تشکیل بیوفیلم روی لوله‌های پلاستیکی که در انکوباتور شیکدار قرار داشتند بیشتر بود. **نتیجه‌گیری:** این پژوهش روند افزایشی مقاومت آنتی‌بیوتیک اسپنتوباکتر به آنتی‌بیوتیک‌های فوق و گسترش ایزوله‌های بالینی مولد بیوفیلم را نشان داد. لذا با توجه به اهمیت بالینی این سویه مقاوم در بیمارستان‌ها، شناسایی سریع آن و اجرای برنامه‌های کنترل عفونت در بخش‌های مختلف بیمارستان لازم است.

کلیدواژه‌ها: اسپنتوباکتر، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تشکیل بیوفیلم، عفونت‌های بیمارستانی

مقدمه

اسیتوباکتر کوکوباسیل گرم منفی، هوازی، کاتالاز مثبت، غیرتخمیری و هوازی اجباری می‌باشد که در طبیعت انتشار وسیعی داشته و می‌تواند از آب، خاک، پوست انسان، غذا و فاضلاب جدا شود. نیاز کم این باکتری به مواد غذایی و توانایی آن در استفاده از منابع مختلف کربن، موجب افزایش فراوانی آن شده است (۱). این باکتری‌ها عامل عفونت‌های مختلف بیمارستانی نظیر باکتری، عفونت مجاری ادراری، مننژیت ثانویه و سپتی سمی، اندوکاردیت، پریتونیت، و سوختگی می‌باشند، ولی نقش برجسته آنها ایجاد پنومونی بیمارستانی به ویژه در دستگاه تنفسی فوقانی بیماران بستری شده در بخش‌های مراقبت ویژه است (۲). به واسطه مقاومت ذاتی یا ایجاد شده این باکتری نسبت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها، مشکلات فراوانی نیز بر درمان موفقیت‌آمیز عفونت‌های ناشی از اسیتوباکتر و حتی عفونت‌های غیرقابل درمان در بیماران بستری، ایجاد و در پی آن مرگ‌ومیر قابل توجهی را رقم زده است (۳).

براین اساس، سازمان بهداشت جهانی از اسیتوباکتر به عنوان یکی از پاتوژن‌های باکتریال تهدیدکننده سلامت انسان یاد کرده است (۴،۵). اسیتوباکتر یومانی فراوان‌ترین گونه دخیل در عفونت‌های بیمارستانی و به مراتب، مقاوم‌ترین گونه در مقابل طبقات اصلی آنتی‌بیوتیک‌ها است. همین امر محققان را بر آن داشته است تا مطالعات خود در زمینه شناسایی منشأ عفونت این باکتری و ارائه راهکارهایی مؤثر در حوزه‌های بهداشتی و درمانی را گسترش دهند (۶). یکی از مشکلات موجود در مورد اسیتوباکترها، ظهور سویه‌هایی با مقاومت چند دارویی است که به کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی مانند بتالاکتام‌ها، امینوگلیکوزیدها و فلوروکوئینولون‌ها مقاوم هستند (۷). بتالاکتام‌ها از مهم‌ترین آنزیم‌های تخریب‌کننده‌ای هستند که توسط سلول‌های باکتری تولید و ترشح شده و بر روی آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام اثر گذاشته و آنها را غیرفعال می‌کنند. این آنزیم‌ها یک اتصال آسیل کووالانت را از طریق گروه کربوکسیل حلقه بتالاکتام به وجود می‌آورند که حاصل آن باز شدن حلقه بتالاکتام و غیرفعال شدن دارو می‌باشد. آنزیم‌های بتالاکتاماز در باکتری‌های متنوع اند و در پاسخ به فشار انتخابی آنتی‌بیوتیک‌ها، دائماً در حال جهش با جایگزینی اسیدهای آمینه به ویژه در جایگاه فعال آنزیم هستند که باعث پیدایش انواع جدیدی از بتالاکتامازهای وسیع الطیف شده است (۸). افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری، بویژه به صورت چنددارویی، مشکلات بسیاری را برای درمان عفونت‌های ناشی از آن ایجاد کرده که این مقاومت در بسیاری از موارد با تولید بیوفیلیم ارتباط دارد (۹). بیوفیلیم اجتماعی از میکروارگانیسم‌ها است که با یکدیگر همکاری دارند. بیوفیلیم روشی از زندگی باکتری‌ها، چه در طبیعت و چه در سیستم‌های پزشکی است که از رشد و بقا میکروارگانیسم‌ها در شرایط سخت محیطی حمایت می‌کند (۱۰). مقاومت ویژه بیوفیلیم به طور ویژه بیشتر از مقاومت آنتی‌بیوتیکی گزارش شده است، بنابراین بیوفیلیم‌های باکتریایی که در ارتباط با عفونت‌ها هستند، به میزان بیشتر به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند و در نتیجه، سخت‌تر قابل کنترل می‌باشند (۱۱). مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها نگرانی بزرگی برای سلامتی عمومی محسوب شده و روش‌های درمانی را



محدود می‌کند. با توجه به شیوع بسیار بالای عفونت‌های بیمارستانی ناشی از اسپیتوباکتر و اهمیت بیوفیلم در ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی، این مطالعه با هدف بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و پتانسیل ایجاد بیوفیلم توسط جدایه‌های اسپیتوباکتر ایزوله شده از بیمارستان‌های کرمان انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه، جداسازی و شناسایی میکروبی

این مطالعه مقطعی - توصیفی در یک دوره ۶ ماهه، روی ۲۷ نمونه بالینی جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های شهر کرمان انجام شد. نمونه‌های مورد بررسی شامل نمونه‌های جمع‌آوری شده از خون، ترشحات تنفسی، ادرار، و زخم بودند. ابتدا آزمایش‌های بیوشیمیایی بر روی نمونه‌ها به منظور جداسازی و تأیید جنس اسپیتوباکتر در آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان انجام گردید. این تست‌ها شامل بررسی میکروسکوپی، رشد در محیط تریپل شوگر آیرون آگار، و تست سیمون سترات بود. پس از تأیید حضور کوکوباسیل‌های گرم منفی، تست‌های افتراقی انجام شد. این تست‌ها شامل تست کاتالاز، اکسیداز، اوره آز، سیمون سترات، MRVP، SIM، TSI و OF بود.

تعیین حساسیت میکروبی

دو روش زیر بعد از تشخیص نهایی برای تعیین الگوی حساسیت باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک استفاده شد:

الف) انتشار دیسک (کری بائر): دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده برحسب میکروگرم شامل آمپی سیلین، سفتریاکسون، سفنازیدیم، سفکسیم، سیپروفلوکساسین، اگزاسیلین، سفوتاکسیم، کلیستین، ایمی‌پنم، جنتامایسین بود. محیط‌های کشت مورد استفاده در این پژوهش ساخت شرکت مرک آلمان و دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده، ساخت «پادتن طب» بود. برای بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش انتشار دیسک، ابتدا سوسپانسیون باکتری با غلظت 0.5×10^8 مک فارلند تهیه و در محیط مولر هیتون آگار (تهیه شده از شرکت مرک) کشت داده شد. سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی با فواصل ۱۲ میلی‌متری روی آن قرار داده شد. محیط‌های کشت به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند. پس از این مدت، نتایج براساس قطر هاله عدم رشد، اندازه‌گیری با خط‌کش مخصوص براساس میلی‌متر، به صورت مقاوم، نیمه‌حساس و حساس بررسی گردید و نتایج آن براساس معیارهای مربوط به موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (CLSI, 2016) مورد بررسی قرار گرفت (۱۴).

ب) حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد (MIC): برای تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده رشد از رقیق‌سازی محیط مولر هیتون براث استفاده شد. در این روش رقت‌های ۱ تا ۱۰۲۴ میکروگرم بر میکرولیتر از آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم به لوله‌های حاوی محیط مولر هیتون براث اضافه گردید و سپس سوسپانسیون باکتری مورد نظر که برابر لوله نیم مک فارلند بود، تلقیح شد و به مدت ۲۴



ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند. آخرین رقتی که رشد باکتری در آن متوقف شد، معادل حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد آن آنتی‌بیوتیک محاسبه شد و نتایج آن براساس معیارهای CLSI انتشار یافته در سال ۲۰۱۶ مورد بررسی قرار گرفت.

بررسی هیدروفوبیسیته (سنجش قدرت اتصال)

جهت سنجش توانایی تشکیل بیوفیلم در ایزوله‌های اسپیتوباکتر، ابتدا هیدروفوبیسیته سطح سلولی (CSH) تعیین و سپس شاخص آبگریزی (HI) طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$HI = \frac{A_{600} - B_{600}}{600} \times 100$$

(A600nm: جذب نور اولیه، B600nm: جذب نور پس از ترکیب با زایلین)

بر این اساس، ابتدا سویه‌های باکتریایی در نوترینت براث کشت و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. سپس ۱ میلی‌لیتر از هر کشت به لوله‌های حاوی ۹ میلی‌لیتر نوترینت براث یک دوم اضافه و مجدداً به مدت ۲۴ ساعت در شیکر انکوباتور (۲۰۰ دور بر دقیقه) ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از اتمام مدت زمان گرمخانه‌گذاری، جذب نور سوسپانسیون‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. پس از آن به سوسپانسیون‌ها، زایلین اضافه و بعد از ۵ دقیقه ورتکس و سپس ۱۵ دقیقه استراحت، مایع رویی توسط سمپلر جدا و رسوب ته لوله به کووت منتقل و جذب نور آن در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. در پایان میزان هیدروفوبیسیته هر نمونه با استفاده از فرمول HI محاسبه گردید. ایزوله‌های با HI بالاتر از ۷۰ درصد، به شدت آب‌گریز و ایزوله‌های با HI پایین‌تر از ۳۰ درصد، به شدت آب‌دوست در نظر گرفته شدند.

بررسی تشکیل بیوفیلم

ایزوله‌های با هیدروفوبیسیته بالاتر از ۷۰ درصد و پایین‌تر از ۳۰ درصد برای بررسی توان تشکیل بیوفیلم بر سطوح شیشه‌ای و پلاستیکی انتخاب شدند. پس از اتمام دوره گرمخانه‌گذاری ۲۴ ساعته در نوترینت براث، ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی به لوله‌های شیشه‌ای و پلاستیکی حاوی ۹ میلی‌لیتر نوترینت براث ۱/۲ اضافه شد. همه کشت‌ها به مدت ۷۲-۹۶ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد تحت شرایط تکان (۲۰۰ دور بر دقیقه) و همچنین سکون، گرمخانه شدند. بعد از گذشت ۷۲-۹۶ ساعت، لوله‌ها توسط آب مقطر استریل به آرامی شسته شده و رنگ‌آمیزی توسط کریستال ویوله انجام شد. بعد از این مرحله، به هر کدام از لوله‌ها اتانول ۹۵ درصد اضافه و بعد از گذشت چند دقیقه محتوای لوله‌ها داخل کووت ریخته شد و جذب نور آنها در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده و با هم مقایسه شد.

نتایج

در این مطالعه ۲۷ نمونه بالینی در سال ۱۳۹۹ از دستگاه تنفسی، ادرار، و تراشه از آزمایش‌های تشخیص طبی کرمان جمع‌آوری و به آزمایشگاه علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان انتقال داده شدند. تست‌های بیوشیمیایی گوناگون روی محیط‌های سیمون سیترا، TSI و SIM برای تشخیص سویه‌های اسیتوباکتر انجام گرفت (جدول ۱). ارزیابی فنوتیپی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های اسیتوباکتر در این مطالعه نشان داد که باکتری‌ها نسبت به همه آنتی‌بیوتیک‌ها ۹۸-۱۰۰ درصد مقاوم بودند و بیشترین حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های (به ترتیب) کلیستین (۷۰٪)، جنتامایسین (۵۵٪) و ایمپنم (۴۰٪) بود (جدول ۲). بنابراین، نتایج تحقیق نشان داد که کلیستین موثرترین آنتی‌بیوتیک بوده است.

جدول ۱ - خصوصیات و ویژگی‌های تست‌های بیوشیمیایی اسیتوباکتر

اکسیداز	کاتالاز	اندول	اوره	سیترا	تخمیر	حرکت	اکسیداسیون	TSI	H ₂ S	VP MR
-	+	-	-	+	-	-	+	ALK/ALK	+	-

جدول ۲- الگوهای حساسیتی ایزوله‌های اسیتوباکتر ایزوله شده از نمونه‌های بالینی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی

ردیف	نام آنتی‌بیوتیک	علامت اختصاری	حساس S	نیمه‌حساس I	مقاوم R
۱	سفتریاکسون	CRO	0	0	100
۲	سفتازیدیم	CAZ	0	0	100
۳	سفکسیم	CFM	0	0	100
۴	سیپروفلوکساسین	CP	0	0	100
۵	ایمپنم	IMP	40	0	60
۶	جنتامایسین	GM	55	0	45
۷	اگزاسیلین	OX	0	0	100
۸	سفوتاکسیم	CTX	0	0	100
۹	آمپی سیلین	AM	0	0	100
۱۰	کلیستین	CL	70	0	30



AC5019	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AC5020	-	-	-	-	MIC	+	+	+	+	+	+	+
AC5021	-	-	MIC	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AC5022	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AC5023	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AC5024	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
AC5025	-	-	-	-	MIC	+	+	+	+	+	+	+
AC5026	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AC5027	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

نتایج بیوفیلم

در مطالعه حاضر بررسی قدرت بیوفیلم سویه‌ها نشان داد که ۶۲٪ از سویه‌ها دارای بیوفیلم قوی بود و توانایی تشکیل بیوفیلم را بر لوله‌های پلاستیکی و شیشه‌ای را داشتند (جدول ۴).

جدول ۴- میزان جذب نور در ۶۰۰ نانومتر توسط ایزوله‌های اسیتوباکتر در لوله‌های شیشه‌ای و پلاستیکی در حالت سکون و شیکدار

نمونه باکتری اسیتوباکتر		جذب نور در حالت شیکدار در طول موج 600 نانومتر		جذب نور در حالت بدون شیک در طول موج 600 نانومتر	
		پلاستیکی	شیشه ای	پلاستیکی	شیشه ای
AC5003		0.115	0.108	0.106	0.097
AC5015		0.127	0.120	0.118	0.115
AC5017		0.021	0.019	0.016	0.014
AC5027		0.025	0.012	0.018	0.010



نتیجه‌گیری

عفونت‌های بیمارستانی به دنبال جراحی، ضعف سیستم ایمنی افراد و جراحات در بیمارستان‌ها احتمال عفونت‌های ثانویه با باکتری‌های بیماری‌زای فرصت‌طلب را افزایش می‌دهند. این عفونت‌ها باعث ایجاد هزینه‌های بالاتر و نیز مدت زمان بستری بیشتر می‌شوند، همچنین می‌توانند باعث انتقال به سایر بیماران و افزایش مرگ‌ومیر آنها شوند. اسیتوباکترها گروهی از باکتری‌های بیماری‌زای فرصت‌طلب در بیمارستان‌ها هستند که تعداد آنها روزبه‌روز در حال افزایش است و با توجه به توانایی رشد آن در محیط‌های گوناگون، فراوانی آن همچنان در حال افزایش است. با توجه به افزایش روزافزون این باکتری، ظهور مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی این باکتری، شناسایی منشأ عفونت و ارتباط‌های پاتوژن، لازم به نظر می‌رسد. با تعیین منشأ عفونت و اپیدمیولوژی آن می‌توان روش‌هایی به منظور کنترل این پاتوژن ارائه نمود (۱۲). از جمله آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری، آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام است که مطالعات انجام شده در سال‌های اخیر نشان‌دهنده ایجاد مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها است. مکانیسم‌های مختلفی در ایجاد این مقاومت نقش دارند که مهم‌ترین آنها تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز، بخصوص بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف^۳ توسط این باکتری است (۱۳). در مطالعه حاضر ابتدا تست مقاومت آنتی‌بیوتیکی برای تعیین سویه‌های دارای مقاومت چندگانه دارویی، روی ۲۷ ایزوله اسیتوباکتر از نمونه بالینی جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های شهر کرمان انجام شد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی این سویه‌ها به ۱۰ آنتی‌بیوتیک بررسی شد. ارزیابی فنوتیپی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های اسیتروباکتر در این مطالعه نشان داد که بیشترین حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های (به ترتیب) کلسیتین (۷۰٪) و جنتامایسین (۵۵٪) بود. ارزیابی فنوتیپی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های اسیتروباکتر در این مطالعه نشان داد که باکتری‌ها نسبت به همه آنتی‌بیوتیک‌ها ۹۸-۱۰۰ درصد مقاوم بودند و کلسیتین موثرترین آنتی‌بیوتیک بر روی اسیتوباکتر بوده است. در ایران تحقیقات بسیاری درباره حضور ایزوله‌های اسیتوباکتر با الگوی مقاومت دارویی چندگانه انجام شده است. حاتمی و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی دریافتند که ۸۴ درصد از ایزوله‌های اسیتوباکتر مقاومت دارویی چندگانه را نشان دادند (۱۴). در بررسی شاه‌چراغچی و همکاران (۴) نیز بیشتر سویه‌ها به سفتریاکسون، سفوتاکسیم، سفنازیدیم و سفکسیم مقاومت بالایی داشتند، ولی ۵۹/۸٪ سویه‌ها به کلسیتین حساس بودند (۱۵). این امر نشان‌دهنده ارزش بالای این آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت‌های حاصل از باکتری‌های گرم منفی است.

بکاییان و همکاران (۲۰۱۶)، در پژوهشی روی ۱۰۰ نمونه اسیتوباکتر ایزوله شده جهت بررسی شیوع بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف OXA-2 و OXA-10 در سویه‌های اسیتوباکتر ایزوله شده از بیماران شهر زاهدان، نشان دادند که سویه‌های اسیتوباکتر به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف مقاومت بالایی دارند. با توجه به اهمیت این باکتری در عفونت‌های بیمارستانی، اعمال اقداماتی جهت

^۳ ESBLs



جلوگیری از پراکندگی این باکتری ضروری بوده و نتایج این مطالعه نشانگر فراوانی ESBL های تپ 2-OXA و 10-OXA در ایزوله‌های اسیتوباکتر مورد بررسی بود. بنابراین، اتخاذ تدابیر مناسب جهت پیشگیری از انتشار سویه‌های مقاوم، ضروری به نظر می‌رسد (۱۶). در سال‌های اخیر محققان بسیاری به بررسی ارتباط بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی اسیتوباکتر بومانی و ژن‌های دخیل در تولید بیوفیلم این باکتری پرداختند. کیو^۴ و همکاران (۲۰۱۶) در پژوهشی ارتباط بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تشکیل بیوفیلم و مقاومت ویژه بیوفیلم در اسیتوباکتر بومانی را بررسی کردند. در این مطالعه ارتباط بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تشکیل بیوفیلم و مقاومت ویژه بیوفیلم در ایزوله‌های بالینی اسیتوباکتر بومانی بررسی شد (۱۷).

بیوفیلم‌ها به علت مقاومت به ترکیبات ضد میکروبی، حائز اهمیت هستند و در مطالعه حاضر بررسی قدرت بیوفیلم سویه‌ها نشان داد که ۶۲٪ از سویه‌ها دارای بیوفیلم قوی بوده و توانایی تشکیل بیوفیلم را بر لوله‌های پلاستیکی و شیشه‌ای داشتند. به نظر می‌رسد که این جدایه‌ها توانایی تشکیل بیوفیلم را روی سطوح دیگری نظیر سطوح پزشکی نیز داشته باشند.

روحی و همکاران (۲۰۲۰) نیز با بررسی میزان مقاومت ایزوله‌های اسیتوباکتر با روش دیسک دیفیوژن و ارتباط ایزوله‌های مقاوم با تشکیل بیوفیلم، نشان دادند که تشکیل بیوفیلم توسط اکثر ایزوله‌های مقاوم بود. همچنین فراوانی ژن *bap* با تعداد ایزوله‌های تشکیل دهنده بیوفیلم، مطابقت حداکثری داشت. با این حال هرچند ژن *bap* تنها ژن دخیل در تشکیل بیوفیلم نیست، اما می‌توان گفت دارای نقش بسزایی در تشکیل بیوفیلم توسط این باکتری است (۱۸).

لیه‌وآ و همکاران (۲۰۱۶)، در پژوهشی ارتباط بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی، شکل‌گیری بیوفیلم و مقاومت ویژه بیوفیلم در اسیتوباکتر بومانی را بررسی کردند. در این تحقیق ۲۷۲ ایزوله از بیمارستان‌های مختلف چین طی سال‌های ۲۰۱۰ تا ۲۰۱۳ جمع‌آوری شد. آزمون تشکیل بیوفیلم برای ۲۴۹ ایزوله انجام گردید که ۶۳ مورد آن در تشکیل بیوفیلم از سویه استاندارد اسیتوباکتر با کد شناسایی ATCC ۱۹۶۰۶ قوی‌تر بودند. ایزوله‌هایی که مقاومت بیشتری از خود نشان می‌دادند، در تشکیل بیوفیلم ضعیف‌تر عمل کردند (۱۹).

تیموری و همکاران (۱۳۹۶) در پژوهشی ارتباط بین توانایی تشکیل بیوفیلم و مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های کلینیکی و محیطی اسیتوباکتر بومانی را در شهر تهران بررسی کردند. در این مطالعه بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به ایمنی پنم با ۹۲ درصد بود. تشکیل بیوفیلم با روش کنگورد آگار در نمونه‌های آب ۴۴ درصد، خاک ۴۰ درصد و بالینی ۱ درصد گزارش شد. روش میکروتیتربلیت در همه جدایه‌ها منفی بود (۲۰).

افزایش میزان شیوع اسیتوباکتر بیانگر این است که ارائه طرح‌هایی برای کنترل عفونت‌های ناشی از آن، ضروری می‌باشد. به علاوه، گسترده شدن مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری در اثر مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها از دیگر نگرانی‌های حوزه بهداشت به‌شمار



می‌رود (۲۱). در این مطالعه میزان مقاومت ایزوله‌ها با روش دیسک دیفیوژن ارزیابی شد و ارتباط ایزوله‌های مقاوم با تشکیل بیوفیلم مقایسه گردید که نشان‌دهنده تشکیل بیوفیلم توسط اکثر ایزوله‌های مقاوم بود. در این پژوهش تلاش شد با بررسی شدت بیوفیلم اسیتوباکتر در ایزوله‌های مختلف بیمارستانی، گامی هرچند کوتاه برای سلامت جامعه برداشته شود. تشکیل بیوفیلم باعث افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌شود که راه‌های جلوگیری از آن بیشتر باید بررسی شود.



References

- 1- Pour NK, Dusane DH, Dhakephalkar PK, Zamin FR, Zinjarde SS & Chopade BA. Biofilm formation by *Acinetobacter baumannii* strains isolated from urinary tract infection and urinary catheters. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2011;62(3):328-38.
- 2- Wisplinghoff H, Schmitt R, Wöhrmann A, Stefanik D & Seifert H. Resistance to disinfectants in epidemiologically defined clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of hospital infection*. 2007;66(2):174-81.
- 3- Karyne R, Lechuga GC, Souza AL, da Silva Carvalho JP, Bôas MH & De Simone SG. Pan-drug resistant *Acinetobacter baumannii*, but not other strains, are resistant to the bee venom peptide mellitin. *Antibiotics*. 2020; 9(4):178.
- 4- Da Silva GJ & Domingues S. Interplay between colistin resistance, virulence and fitness in *Acinetobacter baumannii*. *Antibiotics*. 2017;6(4): 28.
- 5- World Health Organization. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed.
- 6- Horrevorts A, Bergman K, Kollee L, Breuker I, Tjernberg I & Dijkshoorn L. Clinical and epidemiological investigations of *Acinetobacter* genomospecies 3 in a neonatal intensive care unit. *Journal of clinical microbiology*. 1995;33(6):1567-72.
- 7- Bou G, Cerveró G, Dominguez MA, Quereda C & Martínez-Beltrán J. Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of β -lactamases. *Journal of clinical microbiology*. 2000;38(9): 3299-305.
- 8- Mohajeri P, Farahani A, Feizabadi MM, Davoodabadi A & Noroozi B. The prevalence of ESBL isolates of *Acinetobacter baumannii* using pulsed-field gel electrophoresis. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 2014;16(11): 20-3.
- 9- Ahmed MN, Porse A, Sommer MO, Høiby N & Ciofu O. Evolution of antibiotic resistance in biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa* populations exposed to subinhibitory levels of ciprofloxacin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2018; 62(8):10-128.
- 10- Vijayakumar S, Rajenderan S, Laishram S, Anandan S, Balaji V & Biswas I. Biofilm formation and motility depend on the nature of the *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Frontiers in public health*. 2016; 4: 105.
- 11- Gordon NC & Wareham DW. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *International journal of antimicrobial agents*. 2010; 35(3): 219-26.
- 12- Evans SR, Hujer AM, Jiang H, Hill CB, Hujer KM, Mediavilla JR, Manca C, Tran TT, Domitrovic TN, Higgins PG & Seifert H. Informing antibiotic treatment decisions: evaluating



- rapid molecular diagnostics to identify susceptibility and resistance to carbapenems against *Acinetobacter* spp. in PRIMERS III. *Journal of clinical microbiology*. 2017; 55(1):134-44.
- 13- Stobberingh EE, Arends J, Hoggkamp-Korstanje JA, Goessens WH, Visser MR, Buiting AG, Debets-Ossenkopp YJ, Van Ketel RJ, Van Ogtrop ML, Sabbe LJ & Voorn GP. Occurrence of extended-spectrum betalactamases (ESBL) in Dutch hospitals. *Infection*. 1999; 27: 348-54.
 - 14- Moghadam RH, Alvandi AH, Akbari N, Jafari P & Abiri R. The frequency of multidrug-resistance and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in west of Iran. *Journal of Research in Medical and Dental Science*. 2018; 6(2):112-9.
 - 15- Shahcheraghi F, Akbari Shahmirzadi N, Jabbari H & Amirmozafari N. Detection of blaCTX, blaTEMbeta-lactamase genes in clinical isolates of *Acinetobacterspp.* from selected Tehran hospitals. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 2009; 3(1):1-9.
 - 16- Bokaian M, Shahraki S, Raeisi J & Mohammadzadeh Rostami F. Prevalence of OXA-2 and OXA-10 Type ESBL among *Acinetobacter* Strains Isolated from Patients of Zahedan (South Eastern Iran). *Medical journal of mashhad university of medical sciences*. 2016; 59(1): 26-34.
 - 17- Qi L, Li H, Zhang C, Liang B, Li J, Wang L, Du X, Liu X, Qiu S & Song H. Relationship between antibiotic resistance, biofilm formation, and biofilm-specific resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in microbiology*. 2016; 7: 483.
 - 18- Rouhi V, Safarkar & Habibi S. Phonotypic investigation of biofilm formation and determination of presence of bap and blaOXA-51 genes in *acinetobacter baumannii* from clinical specimens in Tehran. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 2020; 14(6): 566-83.
 - 19- Qi L, Li H, Zhang C, Liang B, Li J, Wang L, Du X, Liu X, Qiu S & Song H. Relationship between antibiotic resistance, biofilm formation, and biofilm-specific resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in microbiology*. 2016; 7: 483.
 - 20- Teymori F, AmirMozafari sabet nour. Studing the realationship between the ability of biofilm formation and antibiotic resistance in Acentobacter Baumannii clinical and envaromental isolates in Tehran. *Arak Medical University Journal (AMUJ)*. 2017
 - 21- Vijayakumar S, Rajenderan S, Laishram S, Anandan S, Balaji V & Biswas I. Biofilm formation and motility depend on the nature of the *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Frontiers in public health*. 2016; 4:105.