Applied Biology
Online ISSN: 2538-3434
Homepage: http://sjoapb.journal.qom-iau.ac.ir

Investigating antibiotic resistance and biofilm formation potential of Pseudomonas aeruginosa isolates isolated from Kerman hospitals

UmmAl-Banin Habili | Assistant Professor, Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran. ummalbanin.habili1402@gmail.com
Farokh Rokhbakhsh | Assistant Professor, Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran **(Corresponding author).** rokhbakhsh@iauk.ac.ir

Abstract

Purpose: Pseudomonas aeruginosa is one of the causes of acquired secondary infections. This bacterium causes hospital infections, including surgical wounds, burns, and chronic lung infections. In this regard, the present study was conducted with the aim of investigating the antibiotic resistance and biofilm formation potential of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from Kerman hospitals.

Materials and methods: This descriptive cross-sectional study was conducted on 70 hospital clinical samples. First, biochemical tests were performed on the samples in order to isolate and confirm the genus Pseudomonas aeruginosa. Antibiotic resistance pattern of strains was determined by disk diffusion method for 11 antibiotics. Then, the ability of biofilm formation in these strains was evaluated.

Findings: 29 Pseudomonas aeruginosa isolates were isolated from 70 hospital clinical samples by biochemical tests, of which 16 Pseudomonas aeruginosa strains were biofilm producers. The highest antibiotic resistance in the antibiotic resistance test is related to imipenem (17.24%), meropenem (58.27%), cefotaxime (62.06%), aztronam (75.86%), tobramycin (27.2%), respectively. 48%), cefpinem (41.37%), ciprofloxacin (34.48%), cefoxitin (48.27%), ceftazidime (48.27%), cholestin (31.03%), cefamycin (48.27%) was.

Conclusion: The results of the present study indicate an increase in the antibiotic resistance of Pseudomonas aeruginosa to the investigated antibiotics and the spread of biofilm-producing clinical isolates. Therefore, considering the clinical importance of this resistant strain in hospitals, it is necessary to quickly identify it and use appropriate infection control tools to prevent further spread of this organism.

Keywords: Antibiotic resistance, Biofilm, Pseudomonas aeruginosa isolates, Kerman hospitals.

Received: 2023/06/01 ; **Revised:** 2023/07/24 ; **Accepted:** 2023/08/30 ; **Published online:** 2023/09/20
Cite: Habili, U. & Rokhbakhsh, F. (2023). Investigating antibiotic resistance and biofilm formation potential of Pseudomonas aeruginosa isolates isolated from Kerman hospitals. *Applied Biology*, 13(3), p. 25-36.
Article type: Research Article © the authors **Publisher:** Qom Islamic Azad University

بیولوژی کاربردی
شاپا الکترونیکی: ۲۵۳۸-۳۴۳۴
Homepage: http://sjoapb.journal.qom-iau.ac.ir

بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی و پتانسیل ایجاد بیوفیلم توسط ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا جداسازی شده از بیمارستان‌های شهر کرمان

ام‌البنین هابیلی | استادیار، گروه میکروبیولوژی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران. ummalbanin.habili1402@gmail.com
فرخ رخ بخش زمین | استادیار، گروه میکروبیولوژی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران (**نویسنده مسئول**). rokhbakhsh@iauk.ac.ir

چکیده

هدف: *سودوموناس آئروژینوزا* یکی از عوامل ایجادکننده عفونت‌های ثانویه اکتسابی می‌باشد. این باکتری باعث ایجاد عفونت‌های بیمارستانی ازجمله زخم‌های جراحی، سوختگی و عفونت مزمن ریوی می‌شود. در این راستا، پژوهش حاضر با هدف بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی و پتانسیل ایجاد بیوفیلم توسط نژادهای *سودوموناس آئروژینوزا* ایزوله شده از بیمارستان‌های شهر کرمان انجام شده است.

مواد و روش‌ها: مطالعه توصیفی- مقطعی حاضر بر روی ۷۰ نمونه بالینی بیمارستانی انجام شد. ابتدا آزمایش‌های بیوشیمیایی بر روی نمونه‌ها به منظور جداسازی و تایید جنس *سودوموناس آئروژینوزا* انجام گرفت. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌ها به روش انتشار دیسک برای ۱۱ آنتی بیوتیک تعیین شد. سپس توانایی تشکیل بیوفیلم در این سویه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: تعداد ۲۹ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* به وسیله آزمایشات بیوشیمیایی از ۷۰ نمونه بالینی بیمارستانی جداسازی شد که از این تعداد ۱۶ سویه *سودوموناس آئروژینوزا* مولد بیوفیلم بودند. بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی در سنجش مقاومت آنتی بیوتیکی به ترتیب مربوط به ایمی پنم (۱۷/۲۴٪)، مروپنم (۵۸,۲۷٪)، سفوتاکسیم (۶۲/۰۶٪)، آزترونام، (۷۵/۸۶٪)، توبرامایسین، (۴۸/۲۷٪)، سفپینم (۴۱/۳۷٪)، سیپروفلوکساسین (۳۴/۴۸٪)، سفوکسیتین (۴۸/۲۷٪)، سفتازیدیوم (۴۸/۲۷٪)، کلستین (۳۱/۰۳٪)، سفامایسین (۴۸/۲۷٪) بود.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده افزایش روند مقاومت آنتی بیوتیکی *سودوموناس آئروژینوزا* به آنتی بیوتیک‌های مورد بررسی و گسترش ایزوله‌های بالینی مولد بیوفیلم است. لذا با توجه به اهمیت بالینی این سویه مقاوم در بیمارستان‌ها، شناسایی سریع آن و به‌کارگیری ابزارهای مناسب کنترل عفونت جهت جلوگیری از انتشار بیشتر این ارگانیسم ضروری است.

کلیدواژه‌ها: مقاومت آنتی بیوتیکی، بیوفیلم، ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا، بیمارستان‌های شهر کرمان.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۱۱ ؛ **تاریخ بازنگری:** ۱۴۰۲/۰۵/۰۲ ؛ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۲/۰۶/۰۸ ؛ **تاریخ انتشار:** ۱۴۰۲/۰۶/۲۹

استناد به این مقاله: هابیلی، ام‌البنین؛ رخ بخش زمین، فرخ (۱۴۰۲). بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی و پتانسیل ایجاد بیوفیلم توسط ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا جداسازی شده از بیمارستان‌های شهر کرمان. *بیولوژی کاربردی*، ۱۳(۳)، ص ۲۵-۳۶.

ناشر: دانشگاه قم
© نویسندگان
نوع مقاله: پژوهشی

۱. مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن فرصت‌طلب گرم منفی، متعلق به خانواده *سودوموناسه*، هوازی اختیاری، غیرتخمیری و فرصت‌طلب است (۱). همچنین در انواعی از محیط‌ها حضور داشته و توانایی زندگی با کمترین نیاز غذایی را دارد و قادر است طیف گسترده‌ای از شرایط فیزیکی را تحمل کند (۲). عفونت‌های ناشی از این میکروارگانیسم هم در جامعه و هم در محیط بیمارستان‌ها بروز پیدا می‌کند، اما شیوع آن در بیمارستان‌ها منجربه عفونت‌های مزمن، بخصوص در بیماران دچار کاهش سیستم ایمنی و سیستیک فیبروزیس می‌گردد (۳). باکتری سودوموناس دومین باکتری شایع عامل عفونت‌های بیمارستانی است که به دلیل اینکه قدرت سازگاری خوبی با محیط داشته و می‌تواند در هر مکانی از بیمارستان حضور داشته باشد، از اهمیت بالایی برخوردار است (۳،۲). *سودوموناس آئروژینوزا* در صورت وجود رطوبت مناسب در محل‌های مختلف مانند دستگاه تنفس مصنوعی، بیهوشی، دستگاه آسپیراسیون، لوازم جراحی، ملافه، کف اتاق، حمام و آب شیر می‌تواند مدت‌ها زنده بماند (۴). این باکتری با داشتن عوامل ویرولانس متعدد مانند لیپوپلی ساکارید، تاژك قطبی و پیلی که سبب ایجاد حرکت و چسبیدن باکتری به غشای سلولی میزبان می‌شوند، ادهسین‌های غیرپیلی، اگزوتوکسین‌ها، پروتئازها و سیستم ترشحی تیپ ۳، می‌تواند عفونت‌های مختلفی را در افراد دچار سوختگی، مبتلایان به سیستیک فیبروزیس، بیماران دچار عارضه کاهش غیرطبیعی نوتروفیل‌ها و بیماران دارای نقص سیستم ایمنی ایجاد نماید (۵). همچنین این باکتری به مراتب از جریان خون، عفونت‌های زخم، ذات الریه، عفونت‌های ادراری و داخل شکمی جدا شده است (۶). علاوه‌بر این، *سودوموناس آئروژینوزا* یکی از عوامل بیماری‌زای متداولی است که منجربه بروز عفونت‌های خونی در بیماران دارای سرطان خون می‌گردد اهمیت این باکتری در ایجاد عفونت‌های ادراری به ویژه در افرادی که از سوند ادراری استفاده کرده‌اند، بسیار زیاد بوده، به طوری که مسئول ایجاد ٪۳۵ از این عفونت‌ها *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد (۷).

در سال‌های اخیر، عفونت‌های بیمارستانی ایجاد شده توسط *سودوموناس آئروژینوزا*، به دلیل مقاومت ذاتی آنها به بسیاری از انواع آنتی‌بیوتیک‌ها و ظرفیت آنها برای کسب مقاومت به تمام آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر، به عنوان یک مشکل حاد در بیمارستان‌ها شناخته شده‌اند (۸). مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به این باکتری می‌تواند به دو صورت ذاتی و اکتسابی باشد که شامل تغییر نفوذپذیری میکروارگانیسم نسبت به داروها، پمپ افلاکس، تغییر گیرنده برای داروها، دستیابی به مسیرهای متابولیک فرعی و تولید آنزیم‌های تخریب‌کننده داروها می‌باشد. از بین مکانیسم‌های فوق، تولید

آنزیم‌های تخریب‌کننده داروها از مهم‌ترین روش‌ها برای کسب فاکتور مقاومت است که سبب تخریب داروی فعال می‌شود (۹). *سودوموناس آئروژینوزا* به طور ذاتی به برخی از بتالاکتام‌ها (β-lactam)، ماکرولیدها، تتراسیکلین‌ها، کوتریموکسازول و فلوروکینولون‌ها مقاوم است. اما در مواجهه با کربوکسی پنیسیلین‌ها، یوریدو پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌های نسل چهارم، برخی از سفالوسپورین‌های نسل سوم (سفپیم، سفتازیدیم و سفوپرازون)، آمینوگلیکوزیدها (جنتامیسین، توبراماسین و آمیکاسین) برخی از فلوروکینولون‌ها (سیپروفلوکساسین و لوفلوکساسین) و کارباپنم‌ها دارای مقاومت ذاتی نیست، ولی قادر است هنگام مواجهه با این آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم گردد (۱۰). افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری خصوصاً به صورت چنددارویی، مشکلات بسیاری را برای درمان عفونت‌های ناشی از آن ایجاد کرده است، که این مقاومت در بسیاری از موارد با تولید بیوفیلم ارتباط دارد (۱۱). به طوری که توانایی تشکیل بیوفیلم منجربه حفاظت باکتری در برابر استرس‌های محیطی ازجمله خشکی مواد کشنده و استرس‌های مکانیکی می‌شود. سویه‌های سودوموناس توانایی بالایی برای تشکیل بیوفیلم دارند و به راحتی بر روی سطوح، بیوفیلم تشکیل می‌دهند. تشکیل بیوفیلم، مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها را افزایش می‌دهد (۱۲). بیوفیلم سودوموناسی یکی از عوامل مهم طولانی شدن دوره درمان، تشدید علائم بالینی و حتی مرگ بیماران مبتلا به فیبروز کیستیک است. عفونت‌های بیوفیلم حتی در اشخاص سالم با سیستم ایمنی مناسب هم ندرتاً خوب شده و بافت‌های مجاور بیوفیلم به دلیل پاسخ ایمنی، دچار تخریب می‌شوند و تا زمانی که جراحی نشود، عفونت پابرجا خواهد بود (۱۳). با توجه به شیوع بسیار بالای عفونت‌های بیمارستانی ناشی از *سوئوموناس آئروژینوزا* و اهمیت بیوفیلم در ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی، این مطالعه با هدف بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و پتانسیل ایجاد بیوفیلم توسط نژادهای *سودوموناس آئروژینوزا* ایزوله شده از بیمارستان‌های کرمان انجام شد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. جمع‌آوری نمونه، جداسازی و شناسایی میکروبی

این مطالعه مقطعی- توصیفی در یک دوره ۶ ماهه، روی ۷۰ نمونه بالینی جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های شهر کرمان انجام شد. ابتدا آزمایش‌های بیوشیمیایی بر روی نمونه‌ها به منظور جداسازی و تایید جنس *سودوموناس آئروژینوزا* در آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان انجام شد. این تست‌ها شامل بررسی میکروسکوپی، رشد در محیط مک کانکی آگار، تست اکسیداز، واکنش در محیط TSI، تست OF رشد در ۴۲ درجه سانتیگراد، رشد در

محیط سیتریمید آگار و تولید پیگمان در محیط مولر هینتون آگار بود.

۲-۲. تعیین حساسیت میکروبی

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

الف) انتشار دیسک (کربی بائر): دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده برحسب میکروگرم شامل سفوکسیتین (۳۰)، سفتازیدیوم (۳۰)، سفامایسین (۱۰)، سیپروفلوکساسین (۳)، کلوسیسین (۱۰)، ایمی پنم (۲۴)، مروپنم (۱۰)، سفوتاکسیم (۱۴)، آزترونام (۳۰) و توبرامایسین (۱۰) بود. محیط‌های کشت مورد استفاده در این پژوهش ساخت شرکت merck آلمان و دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده ساخت شرکت MAST انگلستان بود. برای بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش انتشار دیسک، ابتدا سوسپانسیون باکتری با غلظت ۰/۵ مک فارلند تهیه و در محیط مولر هینتون آگار (تهیه شده از شرکتMerck)کشت داده شد. سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی با فواصل یک سانتی‌متری 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، نیمه حساس 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 هینتون براث استفاده شد. در این روش رقت‌های ۱ تا ۱۰۲۴ میکروگرم بر میکرولیتر از آنتی‌بیوتیک ایمی پنم به لوله‌های حاوی محیط مولر هینتون 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.

۲-۳. بررسی هیدروفوبیسیتی (سنجش قدرت اتصالی)

جهت سنجش توانایی تشکیل بیوفیلم در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا، ابتدا هیدروفوبیسیتی 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 ۰/۱ میلی‌لیتر از هر کشت به لوله‌های حاوی ۱۰ 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 اسپکتروفوتومتر 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 هیدروفوبیسیتی هر نمونه با استفاده از فرمول HI محاسبه شد. 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.

۲-٤. بررسی تشکیل بیوفیلم

ایزوله‌های با هیدروفوبیسیتی 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، ۰/۰۵ میلی‌لیتر از سوپانسیون میکروبی به لوله‌های شیشه‌ای و پلاستیکی حاوی ۵ میلی‌لیتر نوترینت براث اضافه شد. تمامی کشت‌ها به مدت ۴ روز در ۳۷ درجه سانتیگراد تحت شرایط تکان (۲۰۰ دور بر دقیقه) و همچنین سکون، گرمخانه شدند. بعد از گذشت ۴ روز، 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 اسپکتروفوتومتر خوانده و با هم مقایسه شد.

۳. نتایج

در این مطالعه از مجموع ۷۰ نمونه بالینی جمع‌آوری شده از بیمارستان‌های شهر کرمان، پس از انجام کشت‌های باکتریایی و آزمایش‌های بیوشیمیایی، ۲۹ (۴۱/۴%) جدایه سودوموناس آئروژینوزا بدست آمد. ارزیابی فنوتیپی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا در این مطالعه نشان داد که بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های (به ترتیب) آزترونام (۷۵/۸۶%)، سفوتاکسیم (۶۲/۰۶%) و بیشترین حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های (به ترتیب) ایمی پنم (۸۲/۷۵%)، مروپنم، کلستین و سفامایسین (۶۸/۹۶%) بود (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی سویه‌های سودوموناس آئروژینوز

نام آنتی‌بیوتیک	حساس	نیمه‌حساس	مقاوم
ایمی پنم	۲۴(٪۸۲/۷۵)	۰(٪۰)	۵(٪۱۷/۲۴)
مروپنم	۲۰(٪۶۸/۹۶)	۱(٪۳/۴)	۸(٪۲۷/۵۸)
سفوتاکسیم	۱(٪۳/۴)	۱۰(٪۳۴/۴۸)	۱۸(٪۶۲/۰۶)
آزترونام	۲(٪۶/۸۹)	۵(٪۱۷/۲۴)	۲۲(٪۷۵/۸۶)
توبرامایسین	۱۵(٪۵۱/۷۲)	۰(٪۰)	۱۴(٪۴۸/۲۷)
سفپینم	۱۲(٪۴۱/۳۷)	۵(٪۱۷/۲۴)	۱۲(٪۴۱/۳۷)
سیپروفلوکساسین	۱۲(٪۴۱/۳۷)	۷(٪۲۴/۱۳)	۱۰(٪۳۴/۴۸)
سفوکسیتین	۸(٪۲۷/۵۸)	۷(٪۲۴/۱۳)	۱۴(٪۴۸/۲۷)
سفتازیدیوم	۱۵(٪۵۱/۷۲)	۰(٪۰)	۱۴(٪۴۸/۲۷)
کلستین	۲۰(٪۶۸/۹۶)	۰(٪۰)	۹(٪۳۱/۰۳)
سفامایسین	۲۰(٪۶۸/۹۶)	۵(٪۱۷/۲۴)	۱۴(٪۴۸/۲۷)

حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد آنتی‌بیوتیک ایمی پنم، در برابر ۲۹ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا مورد بررسی قرار گرفت. ۳۷/۹۳ درصد سویه‌ها به غلظت ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر آنتی‌بیوتیک ایمی پنم حساس بودند.

۳-۱. نتایج بیوفیلم

در مطالعه حاضر بررسی قدرت بیوفیلم سویه‌ها نشان داد که ۵۲% از سویه‌ها دارای بیوفیلم قوی بود و توانایی تشکیل بیوفیلم را بر لوله‌های پلاستیکی و شیشه‌ای داشتند (جدول ۲).

جدول ۲- میزان جذب نور در ۶۰۰ نانومتر توسط ایزوله‌های سودوموناس پنومونیه در لوله‌های شیشه‌ای و پلاستیکی در حالت سکون و شیکردار

ایزوله باکتری	جذب نور در حالت شیکردار در طول موج ۶۶۰ نانومتر		جذب نور در حالت شیکردار در طول موج ۶۶۰ نانومتر	
	پلاستیکی	شیشه‌ای	پلاستیکی	شیشه‌ای
۱	۰/۰۰۲	۰/۰۱۱	۰/۲۲۱	۰/۱۵۴
۲	۰/۰۱۴	۰/۰۱۳	۰/۰۱۲	۰/۰۱۷
۳	۰/۰۱۷	۰/۰۰۱	۰/۰۱۴	۰/۰۱۶
۴	۰/۰۲۵	۰/۰۲۱۵	۰/۲۶۰	۰/۰۳۷

٤. نتیجه‌گیری

شیوع سویه‌های *سودوموناس ائروژینوزا* بیمارستانی مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک[1] در سراسر جهان افزایش یافته و یک مشکل جدی در مدیریت بیمارستانی می‌باشد (۷). کنترل شیوع این ارگانیسم‌های مقاوم، اغلب مشکل است؛ زیرا *سودوموناس آئروژینوزا* دارای مقاومت ذاتی نسبت به عوامل ضد میکروبی متعدد می‌باشد. *سودوموناس آئروژینوزا* با تولید بیوفیلم و افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها پایداری خود را در محیط افزایش می‌دهد (۷،۸).

در مطالعه حاضر ابتدا تست مقاومت آنتی‌بیوتیکی برای تعیین سویه‌های دارای مقاومت چندگانه دارویی، روی ۲۹ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا از ۷۰ نمونه بالینی جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های شهر کرمان انجام شد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی این سویه‌ها به ۱۱ آنتی‌بیوتیک بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان داد که از بین ۲۹ ایزوله مورد بررسی، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های (به ترتیب) آزترونام (۷۵/۸۶%)، سفوتاکسیم (۶۲/۰۶%)، توبرامایسین (۴۸/۲۷ %)، سفوکسیتین (۴۸/۲۷%)، سفتازیدیوم (۴۸/۲۷%)، سفامایسین (۴۸/۲۷%)، سفپینم (۴۱/۳۷%)، سیپروفلوکساسین (۳۴/۴۸%)، کلستین (۳۱/۰۳%)، مروپنم (۲۷/۵۸%)، ایمی پنم (۱۷/۲۴%) وجود دارد. بیشترین حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های (به ترتیب) ایمی پنم (۸۲/۷۵%)، مروپنم و کلستین و سفامایسین (۶۸/۹۶%) وجود دارد.

حبیبی و همکاران (۲۰۱۶) 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 آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند و ۷۰% از سویه‌ها مقاومت چندگانه دارویی از خود نشان دادند (۱۵). نوری‌طلب و همکاران نیز 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 گروه‌های آنتی‌بیوتیکی مقاومت نشان دادند (۱۶). در سایر مطالعات مقاومت به آمینوگلیکوزیدها بین ۲۴ تا ۷۶/۷ درصد گزارش شده است (۵،۴،۱، ۲۰،۱۹،۱۸،۱۷). این تفاوت در فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ناشی از تفاوت‌های جغرافیایی ایزوله‌ها می‌باشد.

امروزه تشکیل بیوفیلم روی سطوح پزشکی نظیر سوندها، پروتزها، لنزهای تماسی و غیره به یک معضل در دنیای پزشکی تبدیل شده است (۲۰). بیوفیلم‌ها به علت مقاومت به ترکیبات ضدمیکروبی

1. MDR (multidrug resistance)

حائز اهمیت هستند و در مطالعه حاضر بررسی قدرت بیوفیلم سویه‌ها نشان داد که ۵۲% از سویه‌ها دارای بیوفیلم قوی بود 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.

نتایج مطالعه قوطاسلو و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که در غربالگری اولیه از ۸۰ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* مورد مطالعه، ۴۰ ایزوله (۵۰%) تولیدکننده بیوفیلم بودند (۲۱).

کریمی و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه‌ای با هدف ارزیابی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* با توانایی تشکیل بیوفیلم نشان دادند که از ۷۸ نمونه مورد مطالعه، به طور کلی، ۵۶/۴ درصد از جدایه‌ها تولیدکننده بیوفیلم قوی در هر دو جدایه محیطی و بالینی بودند (۲۰).

Ratajczak و همکاران (۲۰۲۰) در مطالعه‌ای با هدف ارزیابی مقاومت به آنتی‌بیوتیک و تشکیل بیوفیلم در جدایه‌های بالینی *سودوموناس آئروژینوزا*، ۷۳ جدایه بالینی سودوموناس آئروژینوزا را بررسی کردند. اکثر سویه‌ها (۷۳/۶%) تولیدکننده بیوفیلم قوی، ۱۷% متوسط و ۹/۴% تولیدکننده بیوفیلم ضعیف بودند. فرکانس بالای سویه‌های MDR و توانایی تشکیل بیوفیلم و عوامل بیماری‌زا ممکن است تهدیدی برای درمان موثر باشد و می‌تواند باعث افزایش عوارض و مرگ و میر بیماران آلوده شود (۱۸).

در مطالعات مختلف قدرت تشکیل بیوفیلم *سودوموناس آئروژینوزا* بین ۲۳/۳ تا ۳۵% متغیر است (۱۷،۱۸،۱۹،۲۰). تفاوت فراوانی در گزارشات مختلف بستگی به منشاء ایزوله‌گیری، تعداد دفعات کشت باکتریایی و روش ارزیابی بیوفیلم وجود دارد.

نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان‌دهنده توانایی تولید بیوفیلم توسط درصد قابل توجهی از جدایه‌های مورد بررسی با مقاومت دارویی چندگانه است. کسب توانایی بیوفیلم می‌تواند یک استراتژی خوب، به منظور افزایش بقاء تحت شرایط استرس، به عنوان مثال، در طول حمله میزبان یا پس از درمان آنتی‌بیوتیک باشد (۱۶). به دلیل خواص متمایز و نقش بیوفیلم‌ها در کاهش نفوذ دارو به داخل سلول‌های باکتریایی، باکتری‌های مولد بیوفیلم مقاومت دارویی زیادی دارند که این مسأله هشداری برای جامعه پزشکی می‌باشد که می‌تواند باعث افزایش مرگ و میر در بیمارستان‌ها گردد (۱۸). درک بیشتر ماهیت بیوفیلم و ارتباطات بین سلولی در بیوفیلم و همچنین نقش آنها در ارتباط با مقاومت، به درمان عفونت‌های ناشی از آن کمک خواهد کرد (۲۰). در این پژوهش سعی شد با

بررسی شدت بیوفیلم سودوموناس آئروژینوزا در ایزوله‌های مختلف بیمارستانی، گامی هرچند کوتاه برای سلامت جامعه برداشته شود. با توجه به مشکلات درمانی بیوفیلم باکتریایی توصیه می‌شود قبل از تجویز آنتی‌بیوتیک، تولید بیوفیلم توسط سویه‌ها مورد بررسی قرار گیرد.

References

1. Roshani Asl P & et al. Survey of Antibiotic Resistance and Relationship Between Eesterase (estA) Gene with Biofilm Formation in Pseudomonas Aeruginosa Strains Isolated from Burn Patients. *Journal of Advanced Biomedical Sciences.* 2019; 9(3): 1577-1584.
2. SAINI H, Chhibber S & Harjai K. Azithromycin and ciprofloxacin: a possible synergistic combination against Pseudomonas aeruginosa biofilm-associated urinary tract infections. *International journal of antimicrobial agents.* 2015; 45(4): 359-367.
3. Ciofu O & Tolker-nielsen T. Tolerance and resistance of Pseudomonas aeruginosa biofilms to antimicrobial agents—how P. aeruginosa can escape antibiotics. *Frontiers in microbiology*. 2019; 10: 913.
4. Tabasi M, Javadinia Sh, Masoumi Asl H, Nemati AM, Azizian R, Alipour M & Tabatabai AD. Antibiotic resistance and biofilm formation ability in Pseudomonas aeruginosa isolates Isolated from patients with urinary tract infections. *Infectious and Tropical Diseases Quarterly affiliated to the Association of Infectious and Tropical Diseases Specialists*. 2017; 20(77): 63-68.
5. Resalati Z, Mahdavi Ortakand M & Honarmand Jahromi S. Evaluation of biofilm formation and determination of antibiotic resistance pattern in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. *Iranian Journal of Biological Sciences*. 2017; 12(4): 23-29. [in persian]
6. Mardaneh J, Ahmadi KH & Jahan Sepas A. Determination antimicrobial resistance profile of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from hospitalized patients in Taleghani Hospital (Ahvaz, Iran) from 2011-2012. *JFUMS.* 2013; 3(3): 188-193. [in persian]
7. Olivares E & et al. Clinical impact of antibiotics for the treatment of Pseudomonas aeruginosa biofilm infections. *Frontiers in microbiology*. 2020; 2894.
8. Pang, Z & et al. Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology advances.* 2019; 37(1): 177-192.
9. Poudyal B & Sauer K. The PA3177 gene encodes an active diguanylate cyclase that contributes to biofilm antimicrobial tolerance but not biofilm formation by Pseudomonas aeruginosa. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2018; 62(10).
10. Torrens G & et al. Activity of ceftazidime-avibactam against clinical and isogenic laboratory Pseudomonas aeruginosa isolates expressing combinations of most relevant β-lactam resistance mechanisms. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2016; 60(10): 6407-6410.
11. Ahmed MN & et al. Evolution of antibiotic resistance in biofilm and planktonic Pseudomonas aeruginosa populations exposed to subinhibitory levels of ciprofloxacin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2018; 62(8).
12. Rybtke M & et al. Pseudomonas aeruginosa biofilm infections: community structure, antimicrobial tolerance and immune response. *Journal of molecular biology.* 2015; 23(427): 3628-3645.
13. Falcone M & et al. *Dissecting the role of the small RNA ErsA in Pseudomonas aeruginosa motility and biofilm regulation*. 2017. URL= https://air.unimi.it/retrieve/dfa8b999-279f-748b-e053-3a05fe0a3a96/FEMS%202017%20Marilena%20Falcone_abstract.pdf

14. CLSI. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. twenty-six information supplements: Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA; 2016. URL= https://clsi.org/media/wi0pmpke/m100ed32_sample.pdf
15. Habibi A & et al. The frequency and antibiotic resistance modeling in clinical strains of Pseudomonas aeruginosa isolated from different parts of Tehran hospitals. *Razi Journal of Medical Sciences.* 2016; 23(146): 10-16. [in persian]
16. Nooritalab N & et al. Frequency of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa in patients with ventilator associated pneumonia. *Razi Journal of Medical Sciences.* 2013; 20(112): 16-23. [in persian]
17. Kamali E & et al. Evaluation of antimicrobial resistance, biofilm forming potential, and the presence of biofilm-related genes among clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. *BMC research notes*. 2020; 13: 1-6.
18. Ratajczak M & et al. Relationship between antibiotic resistance, biofilm formation, genes coding virulence factors and source of origin of Pseudomonas aeruginosa clinical strains. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine.* 2021; 28(2): 306-313.
19. Heydari S & Eftekhar F. Biofilm formation and β-lactamase production in burn isolates of Pseudomonas aeruginosa. *Jundishapur journal of microbiology*. 2015; 8(3).
20. Karami P & et al. The correlation between biofilm formation capability and antibiotic resistance pattern in Pseudomonas aeruginosa. *Gene Reports*. 2020; 18: 100561.
21. Ghotaslou R & et al. Antibacterial Effects of Azerbaijan honey on Pseudomonas aeruginosa biofilm. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 2016; 9(4): 40-46. [in persian]