ارزیابی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و پتانسیل تشکیل بیوفیلم در سویه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا

- **عطیه رفوئی**: گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم‌زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
- **شهره زارع‌کاریزی***: گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم‌زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
- **سحر هنرمندجهرمی**: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم‌زیستی،واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۶

چکیده

سودوموناس آئروژینوزا یکی از دلایل اصلی عفونت‌های کسب شده از بیمارستان و اجتماع است و این به‌دلیل صفات ژنتیکی سودوموناس می‌باشد. اکنون به‌دلیل استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت چندداروییی یکی از مشکلات جهانی شده است. مقاومت به‌دلیل ترکیبی از فاکتورهای مختلف مانند ژن‌های مقاومت، پمپ‌های افلاکس و بیوفیلم می‌باشد. بیوفیلم باعث جلوگیری از نفوذ موثرآنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود که شانس مقاومت آنتی‌بیوتیکی را بالا می‌برد. در مطالعه حاضر ۶۰ سویه بالینی سودوموناس آئروژینوزا از بیماران بستری در بیمارستان سینا گرفته شد. سویه‌ها به‌روش‌های استاندارد شناسایی شدند. تست حساسیت میکروبی به‌روش دیسک فیوژن براساس استاندارد کربی بائر انجام شد. پتانسیل تشکیل بیوفیلم سویه‌ها براساس روش میکروتیترپلیت ارزیابی شد. در نهایت ارتباط بین تشکیل بیوفیلم و مقاومت آنتی‌بیوتیکی از طریق آزمون مربع کای با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ بررسی گردید. سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا در این مطالعه به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بودند. آنالیز کمی بیوفیلم نشان داد که اکثر سویه‌ها بیوفیلم قوی ایجاد می‌کردند. تولید بیوفیلم قوی در سویه‌هایی که مقاومت چندداروییی داشتند به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($p=۰/۰۴۲$). مطالعه حاضر نشان داد که مقاومت چندداروییی با تشکیل بیوفیلم در نمونه‌های سودوموناس آئروژینوزا ارتباط دارد. شیوع بالای تولیدکننده‌های بیوفیلم قوی و مقاومت چندداروییی در سودوموناس آئروژینوزا نشان می‌دهد که برنامه‌های پیشگیری برای جلوگیری از عفونت در بیماران در معرض خطر باید مدنظر قرار گیرد.

کلمات کلیدی: مقاومت دارویی، تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی، تشکیل بیوفیلم، سودوموناس آئروژینوزا

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: shohrehzare@yahoo.com

مقدمه

در طبیعت باکتری‌ها به دو شکل پلانکتونیک و بیوفیلم یافت می‌شوند (moradali و همکاران، ۲۰۱۷). اصطلاح بیوفیلم به سلول‌هایی گفته می‌شود که روی یک سطح تثبیت شده و عموماً به‌وسیله یک ماتریکس از مواد پلیمری خارج سلولی با منشا میکروبی احاطه شده‌اند. توانایی باکتری‌ها برای چسبیدن به سطوح به‌عنوان یک پدیده مهم برای شروع بیماری‌زایی شناخته شده است. بیوفیلم‌های باکتریایی، تجمعات پیچیده باکتری‌ها هستند که در یک پوشش گلیکوکالیکس محصور شده و به سطوح مخاطی می‌چسبند (moradali و همکاران، ۲۰۱۷). چسبیدن به سطح مزایای مهمی مثل حفاظت در مقابل عوامل ضدمیکروبی کسب صفات ژنتیکی جدید و در دسترس بودن مواد مغذی و عملیات متابولیکی دارد. بیوفیلم در مکان‌های مختلفی تشکیل می‌شود ولی تشکیل آن درصنایع باعث کاهش بازده و عملکرد می‌شود (abidi و همکاران، ۲۰۱۳). از دلایل ایجاد بیوفیلم این است که میکروارگانیسم‌های موجوددر بیوفیلم به سطوح چسبیده و در بین آن‌ها تقسیم کار صورت می‌گیرد. در واقع، قابلیت متابولیکی جامعه سلولی در سطح مطلوبی افزایش می‌یابد. کلونیزاسیون راحت‌تر صورت می‌گیرد و در برابر جریان خون و ادرار پابرجا مانده و باکتری‌های بیوفیلم از دسترس سیستم ایمنی میزبان مانند فاگوسیتوز در امان می‌مانند. انتقال ژن راحت‌تر صورت می‌گیرد و به‌دنبال آن ژن‌های ویرولانس تولید و غلظت بالایی از سموم خارجی (اگزوتوکسین) ایجاد می‌شود (Harrison، ۲۰۰۷؛ Hoffman و همکاران، ۲۰۰۶). تشکیل بیوفیلم در گونه‌های مختلف باکتری‌ها ازجمله سودوموناس آئروژینوزا مشاهده شده است. بیوفیلم سودوموناسی یکی از عوامل مهم طولانی شدن دوره درمان، تشدید علائم بالینی و حتی مرگ بیماران مبتلا به فیبروز کیستیک می‌باشد(Fricks-Lima و همکاران، ۲۰۱۱).عفونت‌های بیوفیلم حتی در اشخاص سالم با سیستم ایمنی مناسب هم ندرتاً خوب شده و بافت‌های مجاور بیوفیلم به‌دلیل پاسخ ایمنی دچار تخریب می‌شوند و تا زمانی‌که جراحی نشود، عفونت پابرجا خواهد بود (Jensen و همکاران، ۲۰۱۷). مهم‌ترین خاصیت متمایز بیوفیلم‌ها تفاوت رشد آن‌ها می‌باشد که سبب مقاومت دارویی و نیاز به درمان و روش‌های متمایز شناسایی بیوفیلم می‌گردد. گسترش نمونه‌های بالینی مولد بیوفیلم با مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی چندگانه به‌عنوان خطر جدی برای بیماران محسوب شده و می‌تواند باعث افزایش موارد مرگ و میر در بیمارستان‌ها گردد. با توجه به ساختار و مکانیسم‌های ویژه در تشکیل بیوفیلم، علاوه بر عدم نفوذعوامل ضدباکتریایی، آلودگی ابزارهای درمانی و پزشکی نیز می‌تواند در ایجاد شرایط بحرانی و راه‌های انتقال عفونت موثر باشد (Hoiby، ۲۰۱۷). باتوجه به اهمیت بیوفیلم درایجادمقاومت آنتی‌بیوتیکی، مطالعه حاضر با هدف بررسی ارتباط مقاومت آنتی‌بیوتیکی و شدت بیوفیلم در ایزوله‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های بالینی و شناسایی سویه‌ها: این مطالعه توصیفی روی ۶۰ نمونه سودوموناس ائروزینوزای جدا شده از بیماران بستری‌در بیمارستان‌سینا تهران در فاصله زمانی مهر تا فروردین ۱۳۹۴ جمع‌آوری شد. نمونه‌ها از کشت ادرار، خون، زخم، ترشحات و تراشه بیماران جداسازی شدند. شناسایی جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی مانند رنگ‌آمیزی گرم، رشد در محیط مک کانکی آگار، آزمون‌های اکسیداز و کاتالاز، واکنش در محیط TSI، آزمون OF، بررسی تحرک، تولید اندول و گاز، رشد در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد و تولید پیگمان بیوسیانین در محیط مولر هینتون صورت گرفت.

ارزیابی شدت بیوفیلم براساس روش میکروتیر پلیت: میزان بیوفیلم ایزوله‌های بالینی به‌روش کمی میکروتیتر پلیت‌ارزیابی‌شد. بدین منظور، کشت شبانه‌روزی ازجدایه‌های سودوموناس ائروزینوزا در محیط تریپتیکاز سوی آگار همراه با ۲٪ گلوکز انجام شد. کشت‌های باکتریایی رقیق شدند و سوسپانسیونی معادل نیم مک فارلند در محیط تریپتیکاز سوی برات تهیه شد. ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه‌شده از هر سویه باکتری به‌درون ۳ چاهک از پلیت ۹۶ خانه پلی استیرنی منتقل شد. پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری‌شدند.پس از این مدت پلیت‌ها خالی‌شده و با محلول بافر فسفات (PBS,pH ۷)دومرتبه شستشو داده شدند. بعداز خشک‌شدن، چاهک‌ها با متانول ۹۵٪ درصد به‌مدت ۱۵ دقیقه تثبیت شدند. سپس بارنگ کریستال ویوله (۱٪) به‌مدت ۵ دقیقه رنگ‌آمیزی شدند. پلیت‌ها خالی شده و با آب مقطر استریل شسته شدند. چاهک‌ها جهت بررسی نتایج با دستگاه خوانش (ELISA reader Citation۳) و در طول‌موج ۵۷۰ نانومتر، با ۱۰۰ میکرولیتر محلول اسیداستیک گلاسیال ۳۳٪ پر شدند (Collee، ۱۹۸۹).میزان تشکیل بیوفیلم براساس جدول ۱ مشخص گردید. این ارزیابی برای هر جدایه سه تکرار شد. سویه *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 به‌عنوان شاهد مثبت و ۲۰۰ میکرولیتر محیط تریپتیکاز سوی برات همراه با ۲٪ گلوکز به‌عنوان شاهد منفی درنظر گرفته شد.

تعیین پروفایل مقاومت آنتی‌بیوتیکی: تعیین الگوی مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های سودوموناس آئروزینوزای به‌روش انتشاردیسک و براساس استانداردهای CLSI۲۰۱۵ ومتد Kirby-Bauer انجام گرفت (Wayne، ۲۰۰۷).دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد

استفاده (شرکت پادتن طب) شامل سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، آمیکایسین (۳۰میکروگرم)،جنتامایسین(۵ میکروگرم) ، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم)، پیپراسیلین (۱۰۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۱۰ میکروگرم) 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 شرکت Merck) کشت داده‌شد.سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی روی آن قرار داده‌شد. محیط‌های کشت به‌مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند. پس از این مدت نتایج براساس قطر هاله عدم رشد به‌صورت مقاوم، نیمه‌حساس و حساس بررسی گردید.

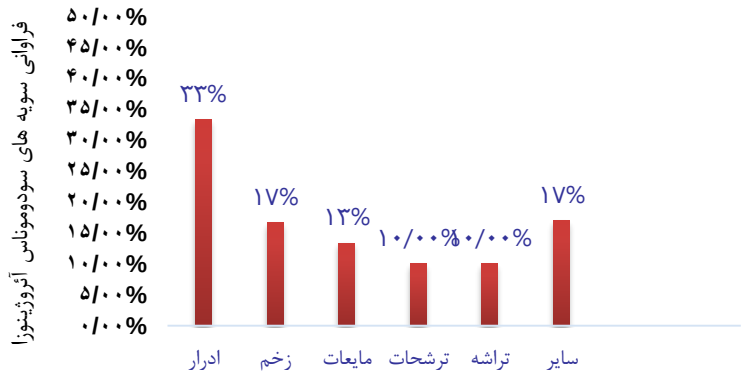
جدول ۱: جذب نوری در انواع بیوفیلم

نوع بیوفیلم	OD۵۷۰ بر حسب نانومتر
بیوفیلم قوی	OD۵۷۰=<۱
بیوفیلم متوسط	۰/۱<=OD۵۷۰<۱
بیوفیلم منفی	OD۵۷۰<۰/۱

در نهایت به‌منظور بررسی ارتباط مقاومت آنتی‌بیوتیکی با تشکیل بیوفیلم، آنتی‌بیوتیک‌ها به‌طور جداگانه گروه‌بندی شدند و تشکیل بیوفیلم در هر یک از گروه‌ها، از طریق آزمون مربع کای با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ تعیین گردید. مقدار آماری آزمون ($P<۰/۰۵$) درنظر گرفته شد.

نتایج

این مطالعه به‌منظور بررسی ارتباط الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی با میزان تشکیل بیوفیلم روی ۶۰ جدایه بالینی سودوموناس ائروزینوزای بیمارستان سینای شهر تهران صورت گرفت. بررسی فراوانی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا در نمونه‌های بیماران نشان داد که فراوانی این باکتری در نمونه‌های ادرار (۳۳٪) به‌مراتب بیش‌تر از سایرنمونه‌ها است (شکل ۱). از مجموع نمونه‌های مورد بررسی ۳۸ درصد مربوط به زنان و ۶۲ درصد مربوط به مردان بود. هم‌چنین بیماران از نظر سن نیز به سه گروه سنی زیر ۳۰سال (۳۰>)، بین ۳۰ تا ۵۰ سال (۳۰<x<۵۰) و بالای ۵۰ سال (۵۰<) تقسیم شدند. فراوانی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا در افراد بین ۳۰ تا ۵۰ سال بیش‌تر از افراد زیر ۳۰ سال و بالای ۵۰ سال است.



شکل ۱: نمودار فراوانی سویه‌های سودوموناس در هریک از نمونه‌های بالینی

ارزیابی شدت بیوفیلم به‌روش میکروتیترپلیت: تشکیل بیوفیلم ایزوله‌های بالینی توسط دستگاه خوانش الیزا در طول موج ۵۷۰ نانومتر بررسی شد. در این روش بیوفیلم تشکیل شده در هر یک از سویه‌های بالینی، براساس شدت به۳ گروه تقسیم شد. از ۶۰ نمونه سودوموناس آئروژینوزا ۳۳ مورد (۵۵٪) تشکیل دهنده قوی بیوفیلم بودند. ۲۷ ایزوله (۴۵٪) تشکیل دهنده ضعیف بیوفیلم بودند. در این روش بیوفیلم منفی دیده نشد. در بین ۲۰ نمونه ادراری ۱۰ نمونه (۵۰٪) تشکیل بیوفیلم قوی و ۱۰ نمونه(۵۰ ٪) بیوفیلم ضعیف تشکیل دادند. از ۱۰ نمونه به‌دست آمده از زخم ۶ نمونه(۶۰٪) تشکیل بیوفیلم ضعیف و ۴ نمونه (۴۰٪) تشکیل‌دهنده قوی بیوفیلم بودند. درنمونه‌های تراشه که ۱۴عدد بودند، ۵ نمونه (۳۶٪) بیوفیلم ضعیف و ۹ نمونه (۶۴٪) تشکیل‌دهنده قوی بیوفیلم بودند. ۱۰۰ درصد نمونه‌های ترشحات (۶ عدد) بیوفیلم قوی تشکیل دادند. در سایر نمونه‌های که ازخون، آبسه، خلط به‌دست آمده بودند (۱۰عدد) ۹ مورد (۹۰٪) تشکیل‌دهنده قوی

بیوفیلم و ۱ مورد (۱۰٪) تشکیل‌دهنده متوسط بیوفیلم بودند. در بین کل نمونه‌های به‌دست آمده از زنان که ۲۳ مورد بود ۱۴ مورد بیوفیلم قوی(٪۶۱)و ۹ مورد(۳۹٪)بیوفیلم ضعیف و درمردان ۱۹ سویه(۵۱٪) تولیدکننده بیوفیلم‌قوی و ۱۸سویه(۴۹٪) بیوفیلم‌ضعیف‌تشکیل دادند. ارتباط معنی‌داری‌بین‌جنسیت و شدت‌بیوفیلم‌مشاهده‌نشد (P=۰/۰۶۴). پس از بررسی پلیت‌های حاوی دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی و مشاهده رشد و هاله عدم رشد باکتری‌ها اطراف دیسک‌ها در محیط مولر هینتون آگار، حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها تعیین گردید. نتایج به‌دست آمده در جدول ۲ ارائه شده است. بیش‌ترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در خانواده سفالوسپورین‌ها (سفتریاکسون، سفتازیدیم و سفوتاکسیم) با مقاومت حدود ۷۰٪ وکم‌ترین‌مقاومت نسبت به پیپراسیلین(۳۵/۰۸٪) و آمیکاسین از خانواده آمینوگلیکوزیدها (۳۹/۵۹٪) دیده شد.

جدول۲: الگوی مقاومت و حساسیت سویه‌های بالینی سودوموناس آئروزینوزا به آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه

نام آنتی‌بیوتیک		درصد مقاومت به آنتی‌بیوتیک	درصد حدواسط	درصد حساسیت به آنتی‌بیوتیک
سفالوسپورین‌های وسیع الطیف	سفتریاکسون	۷۰/۷۵	۳/۵۰	۲۶/۳۱
	سفتازیدیم	۷۳/۶۸	-	۲۶/۳۱
	سفوتاکسیم	۷۳/۶۸	-	۲۶/۳۱
آمینوگلیکوزیدها	آمیکاسین	۳۸/۵۹	۲/۲۶	۵۶/۱۴
	جنتاماسیسن	۵۹/۶۴	۱/۱۵۷	۳۸/۵۹
کارباپنم‌ها	ایمی‌پنم	۵۶/۱۴	-	۴۳/۸۵
	مروپنم	۴۵/۲۳	-	۲۴/۵۶
پنی‌سیلین	پیپراسیلین	۳۵/۰۸	-	۶۳/۱۵
فلوروکینولون	سیپروفلوکساسین	۶۳/۱۵	-	۳۶/۸۴

در این مطالعه ۵ خانواده آنتی‌بیوتیکی بررسی شد. سویه‌هایی که برای‌بیش از دوخانواده آنتی‌بیوتیکی مقاوم باشند، سویه‌هایی با مقاومت چندگانه معرفی می‌شوند ۵۲٪ سویه‌ها دارای مقاومت چندگانه بودند. ارتباط شدت بیوفیلم در سویه‌های دارای مقاومت ۳ تا ۵ گانه بررسی گردید. ۵۰٪ سویه‌هایی که دارای مقاومت ۵ گانه بودند، تشکیل دهنده قوی بیوفیلم براساس روش میکروتیتر پلیت بودند. در جدول ۳ ارتباط شدت بیوفیلم با مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه مقایسه شده است.

جدول۳: ارتباط بیوفیلم قوی با مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه

بیوفیلم قوی	مقاومت آنتی‌بیوتیکی (MDR)
٪ ۱۷	۳گانه
۳۵٪	۴ گانه
۵۰٪	۵ گانه

همان‌طور که‌انتظار می‌رود ارتباط معنی‌داری بین افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه و شدت تشکیل بیوفیلم قوی مشاهده شد (P=۰/۰۴۲).

بحث

مطالعه حاضر با بررسی ارتباط الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی با شدت بیوفیلم روی نمونه‌های بالینی سودوموناس ائروژینوزا اتجام شد. در این مطالعه اکثر سویه‌های جدا شده از مایعات بدن تشکیل‌دهنده قوی بیوفیلم بودند. این امر بیانگر آن است که سویه‌هایی که در زخم هستند جهت حفظ بقای خود از تشکیل بیوفیلم استفاده می‌کنند. در تایید نتیجه حاصل James و همکاران (۲۰۰۸) میزان بیوفیلم ۵۰ زخم مزمن و ۱۶ زخم حاد را مورد مطالعه قرار دادند. این محققین بیوفیلم قوی را در ۶۰٪ از زخم‌های مزمن و تنها در ۶٪ از زخم های حاد مشاهده کردند. حضور بیوفیلم این باکتری در زخم‌های مزمن ممکن است توضیحی باشد به این‌که چرا پاسخ‌های ایمنی و آنتی‌بیوتیک‌های موضعی یا سیستمیک در بسیاری از موارد قادر به از بین بردن باکتری‌های موجود در این زخم‌ها نیست. اگرچه میکروفلور زخم‌های مزمن ترکیبی از باکتری‌های مختلف است. سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس جزء بیش‌ترین باکتری‌های جدا شده از این زخم‌ها بودند.

طبق نتایج حاضر در روش کمی میکروتیترپلیت که روش طلایی و استاندارد است، ۵۵٪ سویه‌های مورد مطالعه بیوفیلم قوی تشکیل می‌دادند.قوطاسلو(۱۳۹۱)به‌بررسی‌ارتباط الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و قدرت بیوفیلم در ۵۰ ایزوله بالینی جدا شده از تراشه پرداختند. در این تحقیق ۵۸٪ سویه‌ها تشکیل‌دهنده بیوفیلم بودند. در مطالعات مختلف قدرت تشکیل بیوفیلم سودوموناس آئروژینوزا بین ۲۳/۳تا۳۵٪ متغیراست(Cobanوهمکاران،۲۰۰۹؛Houوهمکاران، ۲۰۱۲؛ Kádár و همکاران،۲۰۱۰).تفاوت فراوانی در گزارشات مختلف بستگی به منشاء

نمونه‌گیری، تعداد دفعات کشت باکتریایی و روش ارزیابی بیوفیلم وجود دارد.

در گام بعدی مطالعه، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی برای سویه‌های سودوموناس ائروژینوزا تعیین گردید. در این تحقیق بیش‌ترین مقاومت برای خانواده سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف با مقاومتی حدود ۷۰ درصدی دیده شد. کم‌ترین مقاومت نیز نسبت به پیپراسیلین (۳۵/۰۸ درصد) و آمیکاسین از خانواده آمینوگلیکوزیدها (۳۹/۵۹ درصد) دیده شد. مشابه تحقیق حاضر، در مطالعه قوطاسلو (۱۳۹۱) مقاومت به آمینوگلیکوزیدها ۴۵٪ بود. این باکتری‌ها به آمیکاسین (۵۵/۴۸٪) حساس‌تر از جنتامایسین (۶۷/۴۱) بودند. در سایر مطالعات مقاومت به آمینوگلیکوزیدها بین ۲۴ تا ۷۶/۷درصد گزارش شده‌است. این تفاوت در فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ناشی از تفاوت‌های جغرافیایی نمونه‌ها می‌باشد.

رستمی و همکاران (۲۰۱۰) به بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۱۱۰ ایزوله بالینی سودوموناس آئروژینوزا در بیمارستان‌های تهران پرداختند. در این مطالعه مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های کوتریموکسازول و آموکسی‌سیلین به‌ترتیب ۹۶/۴ درصد و ۹۲/۷ درصد و کم‌ترین مقاومت به آمیکاسین (۱۷/۳درصد) دیده شد.

مطالعه‌ای توسط جلال‌مردانه و همکاران(۱۳۹۱) به‌منظور تعیین پروفایل الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان طالقانی شهرستان اهواز انجام شد. در این مطالعه ۱۱۱ ایزوله سودوموناس از بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان جداسازی شد. ۳۰/۶ درصد نمونه‌ها مربوط به بیماران بستری در بخش ICU، ۳۷/۸ درصد سویه‌ها از بخش زنان، ۱/۸ درصد از بخش اطفال، ۱۹/۸ درصد از بخش مردان و ۹/۹ درصد از بخش ترمیمی و بیش‌ترین تعداد سویه‌های سودوموناس از زخم (۴۸/۶٪) جداسازی شد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های سودوموناس به سفوتاکسیم ۹۲ درصد، آمیکایسین۸۸/۳ درصد، جنتامایسین ۸۱ درصد،ایمی‌پنم۸۵/۵درصد، پیپراسیلین۸۰/۲درصد، سیپروفلوکساسین ۸۲ درصد و آمپی‌سیلین ۸۸/۳درصد بود. همان‌طورکه مشاهده می‌شود مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این مطالعه بیش از تحقیق حاضر است. چرا که نمونه‌های مورد بررسی از بیماران بستری در بیمارستان گرفته شده است.

Hassan و همکاران (۲۰۱۱) به‌بررسی ارتباط مقاومت آنتی‌بیوتیکی و قدرت تشکیل بیوفیلم در ۱۱۰ ایزوله بالینی پاکستانی پرداختند. نمونه‌ها از منابع مختلفی چون چرک، خون، ادرار و ترشحات جداسازی شدند. استافیلوکوکوس اپیدرمیس عمده‌ترین باکتری (۳۷/۱درصد) و سودوموناس آئروزینوزا ۴/۲درصد باکتری‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم را تشکیل می‌داد. مقایسه الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی بین باکتری‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم و عدم تشکیل بیوفیلم بیانگر مقاومت بالای سویه‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم بود. به‌طوری‌که مقاومت به پنی‌سیلین به‌ترتیب در سویه‌های تشکیل‌دهنده و عدم تشکیل‌دهنده بیوفیلم ۱۰۰، ۱۰۰، ریفامپیسین ۷۰، ۳۰، سیپروفلوکساسین ۴۰، ۱۰، اریترومایسین ۴۰، ۲۰ و کوتریموکسازول ۳۰ و ۲۵ درصد بود. در این تحقیق چنین بیان شد که با توجه به تشکیل ساختارهای چندلایه در بیوفیلم، می‌توان گسترش نمونه‌های بیوفیلمی را به‌عنوان مرحله کلیدی و شاخص در افزایش عفونت و هم‌چنین گسترش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در نظر گرفت.

مطالعه‌ای توسط Abidi و همکاران(۲۰۱۳)به‌منظور بررسی ارتباط تشکیل بیوفیلم و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نمونه‌های سودوموناس آئروژینوزای جداشده از لنز تماسی بیماران در کراچی پاکستان پرداختند. در این تحقیق ۲۲ ایزوله سودوموناس از لنزهای تماسی و مایع محافظ لنزهای تماسی جداسازی شد. سپس الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و قدرت تشکیل بیوفیلم در هریک از سویه‌ها تعیین گردید. بیش‌ترین مقاومت نسبت به اریترومایسین و آمپی‌سیلین (۸۲ درصد) و کم‌ترین مقاومت به افلوکساسین (۲۳درصد) مشاهده شد. هم‌چنین عمده سویه‌ها تشکیل بیوفیلم قوی می‌دادند. ارتباط معنی‌داری بین قدرت تشکیل بیوفیلم و مقاومت آنتی‌بیوتکی چندگانه مشاهده شد (P=۰/۰۴۲).

در مطالعه قوطاسلو (۱۳۹۱) ۶۵ درصد ایزوله‌ها دارای مقاومت چندگانه و در دو مطالعه دیگر از ایران فراوانی سویه‌های MDR ۳۰/۱ درصد و ۵۸/۶۵ درصد گزارش شده است. در مطالعه حاضر ۵۲ درصد سویه‌ها دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه بودند. تفاوت در فراوانی سویه‌های MDR ناشی از تعداد نمونه‌های مورد مطالعه، موقعیت جغرافیایی محل نمونه‌گیری، وضعیت اجتماعی- اقتصادی منطقه مورد مطالعه، نوع نمونه بالینی و تعریف MDR دارد. در تحقیق حاضر ارتباط معنی‌داری بین مقاومت ۵ گانه و بیوفیلم قوی دیده شد. در مطالعه قوطاسلو (۱۳۹۱) نیز ارتباط معنی‌داری بین قدرت تشکیل بیوفیلم و سویه‌های MDR وجود داشت (P<۰/۰۵)(jensen و همکاران، ۲۰۱۷).

همان‌طورکه مشاهده‌می‌شود نتایج تحقیق حاضر با سایر تحقیقات مبنی بر ارتباط بین تشکیل بیوفیلم و ایجاد مقاومت چندداروییی هم‌خوانی دارد. با توجه به این‌که سودوموناس آئروژینوزا ازجمله باکتری‌های رایج ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی است که در اکثر نقاط ایجاد می‌شود در این پژوهش سعی شده با بررسی شدت بیوفیلم سودوموناس آئروژینوزا در نمونه‌های 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.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله‌ازمسئول‌وکارشناسان‌محترم‌آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین پیشوا و جناب آقای امید حسینی کارشناس آزمایشگاه جامع تحقیقاتی دانشگاه‌شهیدبهشتی‌که در اجرای این پژوهش یاری نمودند، تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

۱. **قوطاسلو، ر.، ۱۳۹۱.** بیوفیلم سودوموناس آئروژینوزا و روش‌های پیشگیری و درمان‌های تازه آن. دانشگاه علوم پزشکی تهران. ۲۲ صفحه.

۲. **مردانه، ج.، ۱۳۹۱.** بررسی پروفایل مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های پسودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان طالقانی شهرستان اهواز. مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا. شماره ۳، ۶ صفحه.

۳. **Abidi, S.H.; Sherwani, S.K.; Siddiqui, T.R.; Bashir, A. and Kazmi, S.U., 2013.** Drug resistance profile and biofilm forming potential of Pseudomonas aeruginosa isolated from contact lenses in Karachi-Pakistan. BMC Ophthalmol. Vol. 17, No. 13, pp: 57. doi: 10.1186/1471-2415-13-57.

۴. **Abidi, S.H.; Sherwani, S.K.; Siddiqui, T.R.; Bashir, A. and Kazmi, S.U., 2013,** Drug resistance profile and biofilm forming potential of Pseudomonas aeruginosa isolated from contact lenses in Karachi-Pakistan. BMC Ophthalmol. Vol. 17, No. 13, pp: 57-63.

۵. **Coban, A.Y.; Ciftci, A.; Onuk, E.E.; Erturan, Z. and Tanriverdi, C.Y., 2009,** Durupinar, B., Investigation of biofilm formation and relationship with genotype and antibiotic susceptibility of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from patients with cystic fibrosis. Mikrobiyoloji bulteni. Vol. 43, No. 4, pp: 563-573.

۶. **Collee, J.M. and McCartney, M., 1989.** practical medical microbiology.

۷. **Fricks-Lima, J.; Hendrickson, C.M.; Allgaier, M.; Zhuo, H.; Wiener-Kronish, J.P.; Lynch, S.V. and Yang, K., 2011.** Differences in biofilm formation and antimicrobial resistance of Pseudomonas aeruginosa isolated from airways of mechanically ventilated patients and cystic fibrosis patients. nt J Antimicrob Agents. Vol. 37, No. 4, pp: 309-315.

۸. **Harrison, F., 2007.** Microbial ecology of the cystic fibrosis lung. Microbiology. Vol. 153, No. 4, pp: 917-923.

۹. **Hassan, A.; Usman J.; Kaleem, F.; Omair, M.; Khalid, A. and Iqbal, M., 2011,** Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. Braz J Infect Dis. Vol. 15, No. 4, pp: 305-311.

۱۰. **Hoffman, L.R.; Deziel, E.; D'Argenio, D.A.; Lepine, F.; Emerson, J. and McNamara, S., 2006.** Selection for Staphylococcus aureus small-colony variants due to growth in the presence of Pseudomonas aeruginosa. Proc Natl Acad Sci USA. Vol. 103, No. 52, pp: 19890-19895.

۱۱. **Høiby**, **N.A., 2017.** Short history of microbial biofilms and biofilm infections. APMIS. Vol. 125, No. 4, pp: 272-275.

۱۲. **Hou, W.; Sun, X.; Wang, Z. and Zhang, Y., 2012,** Biofilm Forming Capacity of Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, and Pseudomonas aeruginosa from Ocular InfectionsBiofilm-Forming Capacity of Human Flora Bacteria. Investigative ophthalmology and visual science. Vol. 53, No. 9, pp: 5624-5631.

۱۳. **Imani Foolad, A.A.; Rostami, Z. and Shapouri R., 2010.** Antimicrobial resistance and ESBL prevalence in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical specimen by phenotypic and genotypic methods. Journal of Ardabil University of Medical Sciences. Vol. 10, No. 3, pp: 189-191.

۱۴. **James, G.A.; Swogger, E.; Wolcott, R.; Pulcini, Ed.; Secor, P.; Sestrich, J.; Costerton, J.W. and Stewart, P.S., 2008.** Biofilms in chronic wounds. Wound Repair Regen. Vol. 16, No. 1, pp: 37-44.

۱۵. **Jensen, P.Ø.; Kolpen, M.; Kragh, K.N. and Kühl, M., 2017.** Microenvironmental characteristics and physiology of biofilms in chronic infections of CF patients are strongly affected by the host immune response. APMIS, Vol. 125, No. 4, pp: 276-288.

۱۶. **Kádár, B.; Szász, M.; Kristóf, K.; Pesti, N.; Krizsán, G. and Szentandrássy, J., 2010.** In vitro activity of clarithromycin in combination with other antimicrobial agents against biofilm-forming Pseudomonas aeruginosa strains. Acta microbiologica et immunologica Hungarica. Vol. 57, No. 3, pp: 235-245.

۱۷. **Moradali, M.F.; Ghods, S. and Rehm, B.H., 2017.** Pseudomonas aeruginosa Lifestyle: A Paradigm for Adaptation, Survival, and Persistence.Front Cell Infect Microbiol. Vol. 15; No. 7, pp: 39. doi: 10.3389.

۱۸. **Wayne, P., 2007.** Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.

۱۹. **Yousefi, S.; Nahaei, M.; Farajnia, S.; Ghojazadeh, M.; Akhi, M. and Sharifi, Y., 2010,** Class 1 integron and imipenem resistance in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa: prevalence and antibiotic susceptibility. Iranian journal of microbiology. Vol. 2, No. 3, pp: 113-119.