

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

- **عطیه رفوئی:** گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
- **شهره زارع‌کاریزی\*:** گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
- **سحر هنرمند جهرمی:** گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، 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 به دلیل صفات ژنتیکی سودوموناس می‌باشد. اکنون به دلیل استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت چنددارویی یکی از مشکلات جهانی شده است. مقاومت به دلیل ترکیبی از فاکتورهای مختلف مانند ژن‌های مقاومت، پمپ‌های افلاکس و بیوفیلم می‌باشد. بیوفیلم باعث جلوگیری از نفوذ موثر آنتی‌بیوتیک‌ها 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 به روش‌های استاندارد شناسایی شدند. تست حساسیت میکروبی به روش دیسک فیوژن بر اساس استاندارد کربی بائر انجام شد. پتانسیل تشکیل بیوفیلم سویه‌ها بر اساس روش میکروتیتراپلر 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 چنددارویی داشتند به طور معنی‌داری بالاتر بود ( $p=0/042$ ). مطالعه حاضر نشان داد که مقاومت چنددارویی با تشکیل بیوفیلم در نمونه‌های سودوموناس آئروژینوزا ارتباط دارد. شیوع بالای تولیدکننده‌های بیوفیلم قوی و مقاومت چنددارویی 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



## مقدمه

حاضر با هدف بررسی ارتباط مقاومت آنتی بیوتیکی و شدت بیوفیلم در ایزوله‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا صورت گرفت.

## مواد و روش‌ها

**جمع آوری نمونه‌های بالینی و شناسایی سویه‌ها:** این مطالعه توصیفی روی ۶۰ نمونه سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان سینا تهران در فاصله زمانی مهر تا فروردین ۱۳۹۴ جمع آوری شد. نمونه‌ها از کشت ادرار، خون، زخم، ترشحات و تراشه بیماران جداسازی شدند. شناسایی جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی مانند رنگ آمیزی 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 بر اساس روش میکروتیر پلیت:** میزان بیوفیلم ایزوله‌های بالینی به روش کمی میکروتیر پلیت ارزیابی شد. بدین منظور، کشت شبانه‌روزی از جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا در محیط تریپتیکاز سوی آگار همراه با ۲٪ گلوکز انجام شد. کشت‌های باکتریایی رقیق شدند و سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند در محیط تریپتیکاز سوی برات تهیه شد. ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده از هر سویه باکتری به‌درون ۳ چاهک از پلیت ۹۶ خانه پلی استیرنی منتقل شد. پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شدند. پس از این مدت پلیت‌ها خالی شده و با محلول بافر فسفات (PBS, pH ۷) دو مرتبه شستشو داده شدند. بعد از خشک شدن، چاهک‌ها با متانول ۹۵٪ درصد به مدت ۱۵ دقیقه تثبیت شدند. سپس با رنگ کریستال ویوله (۱٪) به مدت ۵ دقیقه رنگ آمیزی شدند. پلیت‌ها خالی شده و با آب مقطر استریل شسته شدند. چاهک‌ها جهت بررسی نتایج با دستگاه خوانش (ELISA reader Citation ۳) و در طول موج ۵۷۰ نانومتر، با ۱۰۰ میکرولیتر محلول اسیداستیک گلاسیال ۳۳٪ پر شدند (Collee, ۱۹۸۹). میزان تشکیل بیوفیلم بر اساس 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 در نظر گرفته شد.

**تعیین پروفایل مقاومت آنتی بیوتیکی:** تعیین الگوی مقاومت و حساسیت آنتی بیوتیکی جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزای به روش انتشار دیسک و بر اساس استانداردهای CLSI ۲۰۱۵ و متد Kirby-Bauer انجام گرفت (Wayne, ۲۰۰۷). دیسک‌های آنتی بیوتیکی مورد

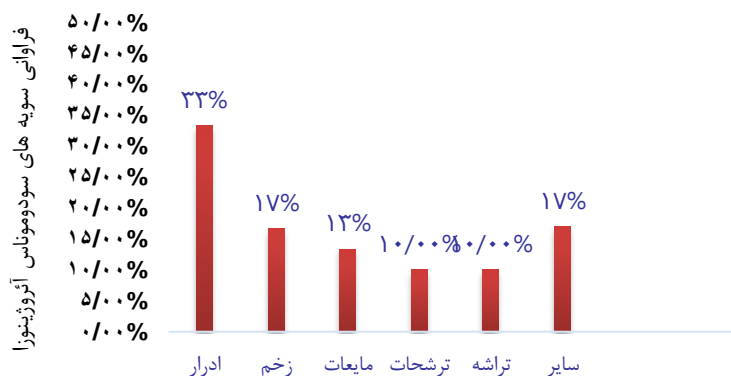
در طبیعت باکتری‌ها به دو شکل پلانکتونیک و بیوفیلم یافت می‌شوند (moradali و همکاران، ۲۰۱۷). اصطلاح بیوفیلم به سلول‌هایی گفته می‌شود که روی یک سطح تثبیت شده و عموماً به وسیله یک ماتریکس از مواد پلیمری خارج سلولی با منشا میکروبی احاطه شده‌اند. توانایی باکتری‌ها برای چسبیدن به سطوح به‌عنوان یک پدیده مهم 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 ضد میکروبی کسب صفات ژنتیکی جدید و در دسترس بودن مواد مغذی و عملیات متابولیکی دارد. بیوفیلم در مکان‌های مختلفی تشکیل می‌شود ولی تشکیل آن در صنایع باعث کاهش بازده و عملکرد می‌شود (abidi و همکاران، ۲۰۱۳). از دلایل ایجاد بیوفیلم این است که میکروارگانیسم‌های موجود در 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 ویروالانس تولید و غلظت بالایی از سموم خارجی (اگزوتوکسین) ایجاد می‌شود (Harrison, ۲۰۰۷; Hoffman و همکاران، ۲۰۰۶). تشکیل بیوفیلم در گونه‌های مختلف باکتری‌ها از جمله 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 به دلیل پاسخ ایمنی دچار تخریب می‌شوند و تا زمانی که 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 آنتی بیوتیکی 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 نفوذ عوامل ضدباکتریایی، آلودگی ابزارهای درمانی و پزشکی نیز می‌تواند در ایجاد شرایط بحرانی و راه‌های انتقال عفونت موثر باشد (Hoiby, ۲۰۱۷). با توجه به اهمیت بیوفیلم در ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی، مطالعه



بیوفیلیم در هر یک از گروه‌ها، از طریق آزمون مربع کای با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ تعیین گردید. مقدار آماری آزمون ( $P < 0/05$ ) در نظر گرفته شد.

## نتایج

این مطالعه به منظور بررسی ارتباط الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی با میزان تشکیل بیوفیلیم روی ۶۰ جدایه بالینی سودوموناس آئروژینوزا در بیمارستان سینای شهر تهران صورت گرفت. بررسی فراوانی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا در نمونه‌های بیماران نشان داد که فراوانی این باکتری در نمونه‌های ادرار (۳۳٪) به مراتب بیشتر از سایر نمونه‌ها 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 ۳۰ سال ( $< 30$ )، بین ۳۰ تا ۵۰ سال ( $30 < x < 50$ ) و بالای ۵۰ سال ( $> 50$ ) 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

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

تشکیل بیوفیلیم قوی و ۱۰ نمونه (۵۰٪) بیوفیلیم ضعیف تشکیل دادند. از ۱۰ نمونه به دست آمده از زخم ۶ نمونه (۶۰٪) تشکیل بیوفیلیم ضعیف و ۴ نمونه (۴۰٪) تشکیل دهنده قوی بیوفیلیم بودند. در نمونه‌های تراشه که ۱۴ عدد بودند، ۵ نمونه (۳۶٪) بیوفیلیم ضعیف و ۹ نمونه (۶۴٪) تشکیل دهنده قوی بیوفیلیم بودند. ۱۰۰ درصد نمونه‌های ترشحات (۶ عدد) بیوفیلیم قوی تشکیل دادند. در سایر نمونه‌های که از خون، آبسه، خلط به دست آمده بودند (۱۰ عدد) ۹ مورد (۹۰٪) تشکیل دهنده قوی

استفاده (شرکت پادتن طب) شامل سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم)، آمیکایسین (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۵ میکروگرم)، ایمی پنم (۱۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم)، پپیراسیلین (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 داده شد. سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی روی آن قرار داده شد. محیط‌های کشت به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند. پس از این مدت نتایج براساس قطر هاله عدم رشد به صورت مقاوم، نیمه‌حساس و حساس بررسی گردید.

جدول ۱: جذب نوری در انواع بیوفیلیم

نوع بیوفیلیم	OD <sub>۵۷۰</sub> بر حسب نانومتر
بیوفیلیم قوی	OD <sub>۵۷۰</sub> < ۱
بیوفیلیم متوسط	۰/۱ < OD <sub>۵۷۰</sub> < ۱
بیوفیلیم منفی	OD <sub>۵۷۰</sub> < ۰/۱

در نهایت به منظور بررسی ارتباط مقاومت آنتی‌بیوتیکی با تشکیل بیوفیلیم، آنتی‌بیوتیک‌ها به طور جداگانه گروه‌بندی شدند و تشکیل

ارزیابی شدت بیوفیلیم به روش میکروتیتراپلیت: تشکیل بیوفیلیم ایزوله‌های بالینی توسط دستگاه خوانش الیزا در طول موج ۵۷۰ نانومتر بررسی شد. در این روش بیوفیلیم تشکیل شده در هر یک از سویه‌های بالینی، براساس شدت به ۳ گروه تقسیم شد. از ۶۰ نمونه سودوموناس آئروژینوزا ۳۳ مورد (۵۵٪) تشکیل دهنده قوی بیوفیلیم بودند. ۲۷ ایزوله (۴۵٪) تشکیل دهنده ضعیف بیوفیلیم بودند. در این روش بیوفیلیم منفی دیده نشد. در بین ۲۰ نمونه ادراری ۱۰ نمونه (۵۰٪)



رشد و هاله عدم رشد باکتری‌ها اطراف دیسک‌ها در محیط مولر هینتون آگار، حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیک‌ها تعیین گردید. نتایج به دست آمده در جدول ۲ ارائه شده است. بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی در خانواده سفالوسپورین‌ها (سفتزیداکسون، سفزازیدیم و سفوتاکسیم) با مقاومت حدود ۷۰٪ و کمترین مقاومت نسبت به پیپراسیلین (۳۵/۰۸٪) و آمیکاسین از خانواده آمینوگلیکوزیدها (۳۹/۵۹٪) دیده شد.

بیوفیلم و ۱ مورد (۱۰٪) تشکیل دهنده متوسط بیوفیلم بودند. در بین کل نمونه‌های به دست آمده از زنان که ۲۳ مورد بود ۱۴ مورد بیوفیلم قوی (۶۱٪) و ۹ مورد (۳۹٪) بیوفیلم ضعیف و در مردان ۱۹ سویه (۵۱٪) تولیدکننده بیوفیلم قوی و ۱۸ سویه (۴۹٪) بیوفیلم ضعیف تشکیل دادند. ارتباط معنی داری بین جنسیت و شدت بیوفیلم مشاهده نشد ( $P=0/064$ ). پس از بررسی پلیت‌های حاوی دیسک‌های آنتی بیوتیکی و مشاهده

جدول ۲: الگوی مقاومت و حساسیت سویه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا به آنتی بیوتیک‌های مورد مطالعه

نام آنتی بیوتیک	درصد مقاومت به آنتی بیوتیک	درصد حدواسط	درصد حساسیت به آنتی بیوتیک
سفتزیداکسون	۷۰/۷۵	۳/۵۰	۲۶/۳۱
سفالوسپورین‌های وسیع الطیف	۷۳/۶۸	-	۲۶/۳۱
سفالوسپورین‌های وسیع الطیف	۷۳/۶۸	-	۲۶/۳۱
آمیکاسین	۳۸/۵۹	۲/۲۶	۵۶/۱۴
آمینوگلیکوزیدها	۵۹/۶۴	۱/۱۵۷	۳۸/۵۹
کاربانپنم‌ها	۵۶/۱۴	-	۴۳/۸۵
مروپنم	۴۵/۲۳	-	۲۴/۵۶
پنی سیلین	۳۵/۰۸	-	۶۳/۱۵
فلوروکینولون	۶۳/۱۵	-	۳۶/۸۴

در این مطالعه اکثر سویه‌های جدا شده از مایعات بدن تشکیل دهنده 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 زخم‌های حاد مشاهده کردند. حضور بیوفیلم این باکتری در زخم‌های مزمن ممکن است توضیحی باشد به این که چرا پاسخ‌های ایمنی و آنتی بیوتیک‌های 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 میکروتیتر پلیت که روش طلایی و استاندارد است، ۵۵٪ سویه‌های مورد مطالعه بیوفیلم قوی تشکیل می‌دادند. قوطاسلو (۱۳۹۱) به بررسی ارتباط الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و قدرت بیوفیلم در ۵۰ ایزوله بالینی جدا شده از تراشه پرداختند. در این تحقیق ۵۸٪ سویه‌ها تشکیل دهنده بیوفیلم بودند. در مطالعات مختلف قدرت تشکیل بیوفیلم سودوموناس آئروژینوزا بین ۲۳/۳ تا ۳۵٪ متغیر است (Coban و همکاران، ۲۰۰۹؛ Hou و همکاران، ۲۰۱۲؛ Kádár و همکاران، ۲۰۱۰). تفاوت فراوانی در گزارشات مختلف بستگی به منشأ

در این مطالعه ۵ خانواده آنتی بیوتیکی بررسی شد. سویه‌هایی که برای بیش از دو خانواده آنتی بیوتیکی 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 بر اساس روش میکروتیتر پلیت بودند. در جدول ۳ ارتباط شدت بیوفیلم با مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه مقایسه شده است.

جدول ۳: ارتباط بیوفیلم قوی با مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه

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

همان‌طور که انتظار می‌رود ارتباط معنی داری بین افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه و شدت تشکیل بیوفیلم قوی مشاهده شد ( $P=0/042$ ).

## بحث

مطالعه حاضر با بررسی ارتباط الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی با شدت بیوفیلم روی نمونه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا انجام شد.



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

در گام بعدی مطالعه، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی برای سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا 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 ۷۶/۷ درصد گزارش شده است. 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 به ترتیب ۹۶/۴ درصد و ۹۲/۷ درصد و کم‌ترین مقاومت به آمیکاسین (۱۷/۳ درصد) دیده شد.

مطالعه‌ای توسط جلال‌مردانه و همکاران (۱۳۹۱) به منظور 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، آمیکاسین ۸۸/۳ درصد، جنتامایسین ۸۱ درصد، ایمپنم ۸۵/۵ درصد، پیپراسیلین ۸۰/۲ درصد، سیپروفلوکساسین ۸۲ درصد و آمپی‌سیلین ۸۸/۳ درصد بود. همان‌طور که 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) به بررسی 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 (۳۷/۱ درصد) و سودوموناس آئروژینوزا ۴/۲ درصد 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. به طوری که مقاومت به پی‌سیلین به ترتیب در سویه‌های تشکیل‌دهنده و عدم تشکیل‌دهنده بیوفیلم ۱۰۰، ۱۰۰، ۱۰۰، ۳۰، ۷۰، 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 به عنوان مرحله کلیدی و شاخص در افزایش عفونت و همچنین گسترش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در نظر گرفت.

مطالعه‌ای توسط Abidi و همکاران (۲۰۱۳) به منظور بررسی ارتباط تشکیل بیوفیلم و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نمونه‌های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده 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 هر یک از سویه‌ها تعیین گردید. بیش‌ترین مقاومت نسبت به اریترومایسین و آمپی‌سیلین (۸۲ درصد) و کم‌ترین مقاومت به افلوکساسین (۲۳ درصد) مشاهده شد. همچنین عمده سویه‌ها تشکیل بیوفیلم قوی می‌دادند. ارتباط معنی‌داری بین قدرت تشکیل بیوفیلم و مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه مشاهده شد ( $P=0/042$ ).

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 ( $P<0/05$ ) (Jensen و همکاران، ۲۰۱۷).

همان‌طور که مشاهده می‌شود نتایج تحقیق حاضر با سایر تحقیقات مبنی بر ارتباط بین تشکیل بیوفیلم و ایجاد مقاومت چندارویی هم‌خوانی دارد. با توجه به این که سودوموناس آئروژینوزا از جمله 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.



Ocular Infections Biofilm-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 Szentandrassy, 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.; Ghojzadeh, 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.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مسئول و کارشناسان محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین پیشوا و جناب آقای امید حسینی کارشناس آزمایشگاه جامع تحقیقاتی دانشگاه شهید بهشتی که 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

