Archive of SID

کنترل زیستی *اسنیتوباکتر بومانی* توسط باکتری شکارگر *بدلوویبریو*

ندا جعفریان[۱]، عباس اخوان سپهی*[۲]، نفیسه سادات نقوی[۳]، فرزانه حسینی[۴]، جمیله نوروزی[۵]

۱. دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال،تهران، ایران
۲. دانشیار ،گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران
۳. استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، فلاورجان، اصفهان، ایران
۴. استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران
۵. استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۰۴

چکیده

زمینه و هدف مدیریت عفونت‌های حاصل از اسنیتوباکتر بومانی مقاوم به ترکیبات ضدمیکروبی، معضل بزرگی برای فعالان حوزه سلامت می‌باشد. با توجه به این که امروزه استفاده از باکتری‌های شکارگر مانند بدلوویبریو به عنوان بهترین چاره برای درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک است، در این پژوهش، تأثیر بدلوویبریو بومی جداسازی شده بر اسنیتو باکتر بومانی، به عنوان عامل کنترل زیستی، بررسی شد.

مواد و روش‌ها برای بررسی تأثیر بدلوویبریوی بومی جداسازی شده بر اسنیتوباکتر بومانی (ATCC 19606) از روش کشت دو لایه آگار و بررسی ایجاد پلاک، بررسی تغییرات چگالی نوری و تغییرات در واحد تشکیل‌دهنده کلونی نمونه حاوی اسنیتوباکتر بومانی به تنهایی و نمونه حاویاسنیتوباکتر بومانی به همراه بدلوویبریو در ساعت‌های ۰،۲۴ و ۴۸ و آزمون تعیین درصد کشندگی بدلوویبریو برای اسنیتوباکتر بومانی استفاده شد.

یافته‌ها نتایج حاکی از ایجاد پلاک‌های شفاف در کشت دو لایه آگار، کاهش ۰/۷ چگالی نوری در کشت همراه، کاهش در واحد تشکیل‌دهنده کلونی اسنیتوباکتر بومانیدر کشت همراه در مقایسه با نمونه شاهد و ۸۳ درصد کشندگی بدلوویبریو برای این باکتری می‌باشد.

نتیجه‌گیری *بدلوویبریو* توانایی استفاده از *اسنیتوباکتر بومانی* به عنوان طعمه را دارد و باعث کاهش جمعیت این باکتری می‌شود؛ از این رو استفاده از *بدلوویبریو* برای مبارزه با اسنیتوباکتر بومانی مقاوم به آنتی‌بیوتیک و کنترل زیستی آن پیشنهاد می‌شود.

کلیدواژه‌ها:
اسنیتوباکتر بومانی، مقاومت آنتی بیوتیکی، *بدلوویبریو*، کنترل زیستی.

۱. مقدمه

اسنیتوباکتر بومانی [1] یک باکتری میله‌ای‌شکل کوتاه (کوکوباسیل) است که به عنوان یک پاتوژن فرصت‌طلب به خصوص در افرادی که سیستم ایمنی ضعیف شده دارند یا افرادی که در بیمارستان بستری هستند، مطرح می‌باشد (۲-۱).

این باکتری به طور محاوره‌ای تحت عنوان عراقی‌باکتر نیز شناخته می‌شود؛ زیرا به طور اتفاقی در درمان نظامیان طی جنگ عراق ظاهر شد و به دنبال آن *اسنیتوباکتر بومانی* مقاوم به آنتی‌بیوتیک در بیمارستان‌های غیرنظامی و در بخش‌هایی

1. *Acinetobacter baumannii*

* **نویسندهٔ مسئول: عباس اخوان سپهی**
نشانی: دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

تلفن: ۰۹۱۲۱۵۴۷۱۶۶
رایانامه: Akhavansepahy@gmail.com
شناسه ORCID: 0000-0002-5314-6199
شناسه ORCID نویسندهٔ اول: 0000-0002-9184-0798

مجلهٔ علمی ـ پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ ۲۷، شمارهٔ ۵، آذر و دی ۱۳۹۹، ص ۶۲۸-۶۲۱
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۷۴۸۷-۱۶۰۶

www.SID.ir

Archive of SID

از بیمارستان که سربازان آلوده به آن انتقال داده شده بودند، گسترش یافت (۲).

امروزه، *استیتوباکتر بومانی* به واسطه توانایی زنده ماندن در محیط‌های بیمارستانی و مقاومت در برابر ترکیبات ضدمیکروبی، به عنوان پاتوژن مهم بیمارستانی مطرح شده است و می‌تواند طیف وسیعی از عفونت‌ها شامل پنومونیه وابسته به سیستم‌های تهویه، باکتریمی، مننژیت، عفونت زخم و عفونت دستگاه ادراری را ایجاد کند (۴-۳-۲). طی سال‌های اولیه دهه ۱۹۷۰، *استیتوباکتر بومانی* جداسازی شده از نمونه‌های بالینی معمولاً به ترکیبات ضدمیکروبی مانند جنتامایسین، مینوسیکلین، نالیدیک‌اسید و آمپی‌سیلین حساس بود اما از سال ۱۹۷۵ به بعد، مقاومت به اغلب گروه‌های دارویی شامل سفالوسپورین‌های نسل اول و دوم مشاهده گردید. طی دهه‌های ۱۹۸۰ و ۱۹۹۰، گسترش سویه‌های *استیتوباکتر بومانی* مقاوم به ایمی‌پنم نیز مشاهده گردید و در اواخر دهه ۱۹۹۰ کاربا‌پنم‌ها تنها عوامل درمانی مفیدی بودند که توانایی مقابله با بسیاری از عفونت‌های استیتوباکتر بومانی را داشتند. در صورتی که امروزه مقاومت به کاربا‌پنم‌ها به خصوصیت ذاتی استیتوباکتر بومانی تبدیل گشته است؛ به طوری که میزان مقاومت این باکتری در جهان به کاربا‌پنم حدود ۹۰ درصد است. به همین دلیل گزینه‌های درمانی جدیدی برای مقابله با عفونت‌های حاصل از این باکتری در حال مطالعه و بررسی می‌باشد که در این میان می‌توان به استفاده از باکتری‌های شکارگر اشاره کرد (۴-۳-۲).

باکتری‌های شکارگر، باکتری‌هایی هستند که باکتری‌های دیگر را به عنوان طعمه شکار می‌کنند. باکتری شکارگری که به طور غالب مطالعه شده است *بدلوویبریو*[1]، یک باکتری شکارگر گرم منفی و بسیار متحرک است. ویژگی منحصربه‌فرد *بدلوویبریو*، چرخه زندگی دو مرحله‌ای آنها می‌باشد که این دو مرحله عبارتند از: ۱- مرحله اتصال به سلول طعم ۲- مرحله رشد (۷-۶-۵).

بدلوویریوها، ارگانیسم‌های جالبی برای میکروبیولوژیست‌ها دارند؛ به دلیل اینکه پتانسیل مهارکنندگی بسیاری از پاتوژن‌های گرم منفی است و می‌توان از آنها به عنوان عوامل کنترل زیستی استفاده کرد، همچنین آنزیم‌های مخرب این باکتری‌ها چشم‌اندازی برای مطالعات پژوهشگران خواهد بود. به همین دلیل از زمان کشف *بدلوویبریو*، مطالعات بسیاری روی این باکتری و استفاده از پتانسیل‌های آن، مطرح بوده است (۸).

هدف از این پژوهش، ارزیابی پتانسیل مهارکنندگی بدلوویبریو روی *استیتوباکتر بومانی* به منظور کنترل زیستی آن می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

پژوهش الف) تهیه سویه *استیتوباکتر بومانی* به عنوان طعمه و *بدلوویبریو*: در تمامی مراحل این پژوهش، از *استیتوباکتر بومانی* (ATCC 19606) خریداری شده از سایت DSMZ و *بدلوویبریو* بومی جداسازی شده طی انجام پایان‌نامه دکتری که با شماره دسترسی MH359237 در مرکز ملی اطلاعات زیست فن‌آوری (NCBI) ثبت گردیده است، استفاده شد.

ب) تهیه سوسپانسیون باکتریایی از *استیتوباکتر بومانی* و *بدلوویبریو*: برای انجام این پژوهش سوسپانسیون باکتریایی از *استیتوباکتر بومانی* به عنوان طعمه در محیط کشت نوترینت براث (کیولب،کانادا) با غلظت5×109 CFU/ml و نیز سوسپانسیونی از *بدلوویبریو* در بافر 2-N- هیدروکسی اتیل‌پیپرازین- N´ 2 و ۲ اتان سولفونیک‌اسید (HEPES) (سیگما آلدریچ، امریکا) با غلظت 10 -5 PFU/ml تهیه گردید.

ج) انجام کشت دو لایه آگار به منظور بررسی تولید پلاک: برای بررسی تأثیر *بدلوویبریو* بر استیتوباکتربومانی از روش کشت دولایه آگار استفاده شد. به این منظور ابتدا از سوسپانسیون *بدلوویبریو* سری رقت تهیه گردید. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقتی به لوله‌های در پیچ‌دار حاوی محیط کشت نوترینت براث رقیق شده (به نسبت ۱:۱۰ با آب مقطر) مذاب دارای ۰/۶ درصد آگار و حاوی ۵ میلی‌لیتر محلول ۲ میلی‌مولار CaCl2.2 H2Oو ۵ میلی‌لیتر محلول ۳ میلی‌مولار MgCl2.6H2O (کیولب، کانادا)، اضافه گردید، سپس لوله‌ها همزده شدند. در ادامه ۲۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلول طعمه به لوله‌های فوق اضافه شد و پس از مخلوط کردن، محتویات این لوله‌ها در سطح پلیت حاوی محیط کشت نوترینت براث رقیق شده (به نسبت ۱:۱۰ با آب مقطر) و دارای ۱/۵ درصد آگار پخش گردید. پلیت‌ها به مدت یک ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شدند تا لایه رویی کاملاً بسته شود و پس از آن، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ تا ۶ روز به منظور بررسی تشکیل پلاک گرماگذاری شدند (۱۴-۱۳-۱۲-۱۱-۱۰-۹).

1. *Bdellovibrio*

www.SID.ir

Archive of SID

د) بررسی تغییرات چگالی نوری در کشت همراه و نمونه شاهد: برای انجام این مرحله از آزمون، دو گروه نمونه تهیه گردید:

گروه اول: ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت نونرینت براث رقیق شده که ۵۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون *استنیتوباکتر بومانی* و ۲۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون *بدلوویبریو* به آن اضافه شده بود و به عنوان کشت همراه در نظر گرفته شد.

گروه دوم: ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت نوترینت براث رقیق شده که فقط ۵۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون *استنیتوباکتر بومانی* به آن اضافه شده بود و به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد.

هر دو گروه نمونه به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور شیکردار با دور rpm180 و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند و در ساعت‌های ۰، ۲۴ و ۴۸ چگالی نوری آنها در ۵۷۰ نانومتر بررسی شدند (۱۷-۱۶-۱۵).

ه) بررسی تغییرات واحد تشکیل‌دهنده کلونی در کشت همراه و نمونه شاهد: در این مرحله نیز مانند قبل، دو گروه نمونه (نمونه کشت همراه و نمونه شاهد) تهیه گردید و نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور شیکردار با دور 180 rpm و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. برای بررسی تأثیر *بدلوویبریو* بر تعداد واحد تشکیل‌دهنده کلونی باکتری میزبان (*استنیتوباکتر بومانی*) در ساعت‌های ۰، ۲۴ و ۴۸ از هریک از ارلن‌های نمونه کشت همراه و نمونه شاهد سری رقت تهیه شد و در محیط کشت مک‌کانکی آگار(کیولب، کانادا) پورپلیت انجام گرفت. پلیت‌ها پس از جامد شدن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند و پس از این مدت، کلونی در مورد هریک از نمونه‌ها شمارش شد (۲۱-۲۰-۱۹-۱۸).

و) آزمون تعیین درصد کشندگی *بدلوویبریو* برای *استنیتوباکتر بومانی*: این آزمون مطابق روش Rogosky انجام شد (۲۲). به این ترتیب که مجدداً دو گروه نمونه (نمونه کشت همراه و نمونه شاهد)، مانند آنچه در دو بخش قبل نیز توضیح داده شد، تهیه گردید و ارلن‌ها به مدت ۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور شیکردار با دور 180 rpmگرماگذاری شدند. برای تعیین درصد کشندگی از هر ارلن در ساعت صفر و ساعت ۴، سری رقت (۴-۱۰-۱-۱۰) تهیه و سپس در محیط کشت مک‌کانکی آگار پورپلیت انجام شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. سپس کلونی‌های تشکیل شده در هر پلیت، شمارش شدند و اعداد به دست آمده برای تعیین درصد کشندگی *بدلوویبریو* در فرمول زیر قرار داده شد (۲۲):

$$\text{درصد کشندگی} = (1-B_4/B_0)/(A_4/A_0) \times 100$$

در این فرمول، A_0 و A_4 به معنی تعداد واحد تشکیل‌دهنده کلونی *استنیتوباکتر بومانی* در غیاب *بدلوویبریو* (نمونه شاهد) به ترتیب در ساعات ۰ و ۴ می‌باشد و B_0 و B_4 به معنی تعداد واحد تشکیل‌دهنده کلونی *استنیتوباکتر بومانی* در حضور *بدلوویبریو* (نمونه کشت همراه) به ترتیب در ساعات ۰ و ۴ است.

۳. یافته‌های پژوهش

در این مطالعه سویه بومی *بدلوویبریو* توانست از اسنیتوباکتر بومانی به عنوان طعمه استفاده کند و به طور چشمگیری، میزان حضور این باکتری را در محیط کاهش دهد. به این ترتیب که در آزمون تشکیل پلاک مشاهده شد ۳ تا ۶ روز پس از گرماگذاری، پلاک‌های شفافی در سطح پلیت ظاهر شدند که نشان‌دهنده مصرف *استنیتوباکتر بومانی* به عنوان طعمه توسط *بدلوویبریو* می‌باشد (شکل ۱).

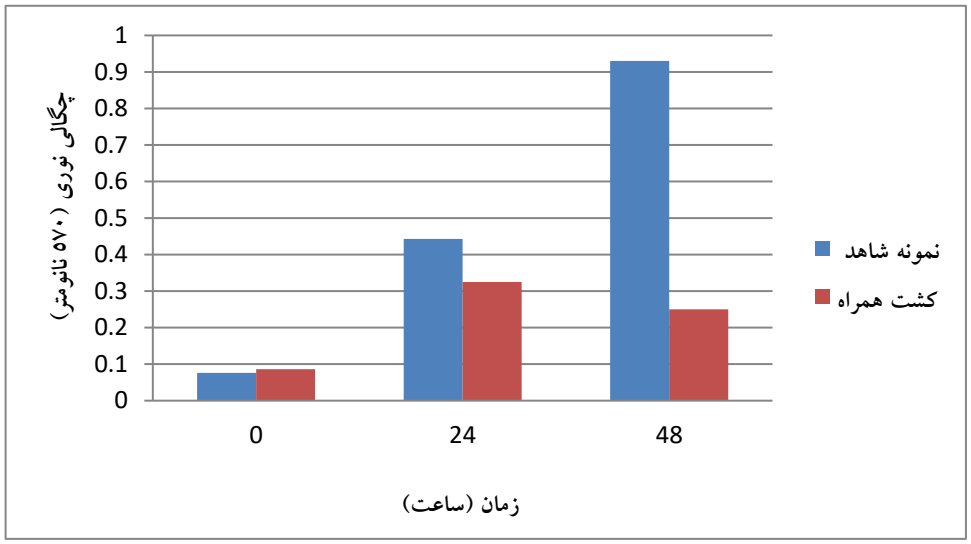
شکل ۱. ایجاد پلاک‌های شفاف در روش کشت دولایه آگار که نشان‌دهنده مصرف *استنیتوباکتر بومانی* به عنوان طعمه توسط *بدلوویبریو* می‌باشد.

هم‌چنین در آزمون بررسی چگالی نوری مشاهده گردید که با گذشت زمان، میزان کدورت در نمونه کشت همراه و میزان چگالی نوری این نمونه، کاهش چشمگیری داشت؛ به طوری که پس از گذشت ۴۸ ساعت، میزان چگالی نوری در کشت همراه ۰/۷ کاهش یافت (نمودار ۱). البته شایان ذکر

www.SID.ir

Archive of SID

است که پس از گذشت ۴۸ ساعت، میزان کدورت و چگالی نوری نمونه همراه، روند افزایشی دارد. دلیل کاهش در میزان چگالی نوری طی ۴۸ ساعت و سپس افزایش آن را می‌توان با توجه به چرخه زندگی *بدلوویبریو* تفسیر کرد. هنگامی که منبع غذایی (ذخیره غذایی) سیتوپلاسم سلول‌های طعمه در اثر مصرف توسط سلول‌های بدلوویبریو کاهش می‌یابد، سلول‌های *بدلوویبریو* که در این هنگام به صورت رشته‌های طویل درون سلول میزبان خود در آمده‌اند به سلول‌هایی با اندازه یکسان تقسیم می‌شوند و بعد از تقسیم این سلول‌ها فلاژل‌دار می‌شوند و سپس آنزیم‌های مخرب را برای لیز سلول طعمه تولید می‌کنند. در این حالت، سلول‌های طعمه، مصرف می‌شوند و میزان چگالی نوری نمونه کشت همراه نسبت به نمونه شاهد، کاهش می‌یابد. اما پس از آزاد شدن سلول‌های فلاژل‌دار *بدلوویبریو*، فاز حمله دیگری آغاز می‌گردد و سیکل زندگی *بدلوویبریو* دوباره تکرار می‌شود. در واقع، زمانی که چگالی نوری نمونه کشت همراه، افزایش می‌یابد؛ یعنی سلول‌های *بدلوویبریو* تکثیر یافته‌اند و افزایش تعداد آنها در نمونه، دلیل افزایش میزان چگالی نوری خواهد بود.

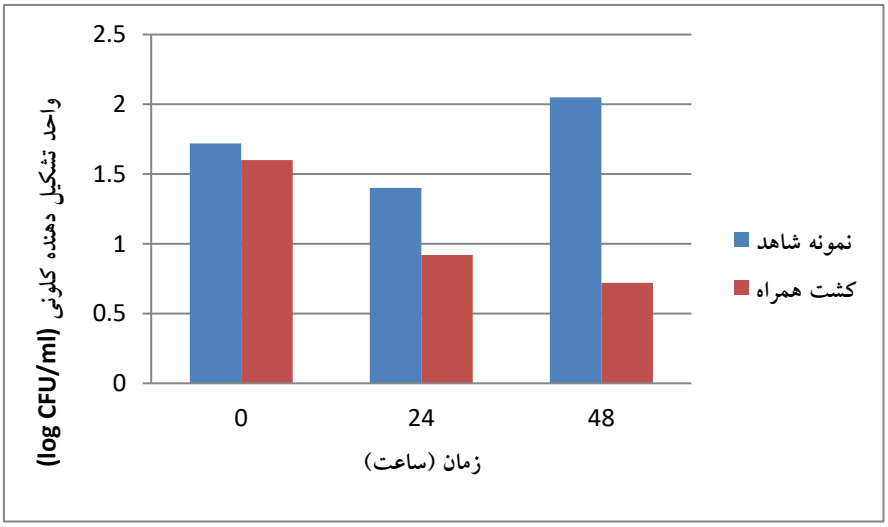


نمودار ۱. بررسی تغییرات چگالی نوری نمونه کشت همراه و نمونه شاهد

در روش بررسی تغییرات تعداد واحد تشکیل‌دهنده کلونی پس از گذشت ۲۴ ساعت از کشت، هر یک از نمونه‌های کشت همراه و نمونه‌های شاهد، در ساعت‌های ۰، ۲۴ و ۴۸، تعداد کلونی‌های تشکیل‌شده، شمارش و با یکدیگر مقایسه شدند. همان‌طور که در نمودار ۲ نشان داده شده است، این نتیجه به دست آمد که تعداد واحد تشکیل‌دهنده کلونی در نمونه کشت همراه نسبت به کشت نمونه شاهد، کاهش چشمگیری داشته است و این امر نشان‌دهنده آن است که در کشت همراه، *بدلوویبریو* از *اسنیتوباکتر بومانی*، به عنوان طعمه استفاده کرده و در نتیجه، تعداد این باکتری نسبت به نمونه شاهد که فقط حاوی *اسنیتوباکتر بومانی* است، کاهش یافته است.

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۲. بررسی تغییرات در تعداد تشکیل‌دهنده کلونی در کشت همراه و نمونه شاهد

در آزمون تعیین میزان کشندگی، پس از گذشت ۲۴ ساعت، کشت‌های انجام شده در ساعت صفر و ساعت ۴، بررسی شدند و شمارش کلونی در مورد آن‌ها انجام گرفت. به این ترتیب A_0 و A_4 که معرف تعداد واحد تشکیل‌دهنده کلونی اسنیتوباکتر بومانی در غیاب بدلوویبریو (نمونه شاهد) در ساعت صفر و ساعت ۴ بودند و نیز B_0 و B_4 که تعداد واحد تشکیل‌دهنده کلونی اسنیتوباکتر بومانی در حضور بدلوویبریو (نمونه کشت همراه بدلوویبریو) را به ترتیب در ساعات ۰ و ۴ نشان می‌دادند، تعیین گردید. سپس اعداد به‌دست آمده در فرمول قرار داده شدند. به این ترتیب، درصد کشندگی بدلوویبریو برای اسنیتوباکتر بومانی ۸۳ درصد می‌باشد.

٤. بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش، پتانسیل کاربردی سویه بومی *بدلوویبریو* برای کنترل زیستی *اسنیتوباکتر بومانی* بررسی شد. مشاهده پلاک‌های شفاف در کشت دولایه آگار، کاهش ۰/۷ چگالی نوری کشت همراه نسبت به نمونه شاهد، کاهش چشمگیر تعداد واحد تشکیل‌دهنده کلونی در کشت همراه نسبت به نمونه شاهد و درصد کشندگی قابل توجه (۸۳ درصد) *بدلوویبریو* برای *اسنیتوباکتر بومانی*، نشان دهنده این است که *بدلوویبریو* توانایی استفاده از *اسنیتوباکتر بومانی* به عنوان طعمه را دارد و به این ترتیب می‌تواند جمعیت این باکتری را در محیط کنترل کند و به عنوان عاملی برای کنترل زیستی *اسنیتوباکتر بومانی* به کار رود.

امروزه به این دلیل که اغلب بیماری‌ها و عفونت‌های ایجاد شده توسط *اسنیتوباکتر بومانی* به داروهای چندگانه، مقاوم هستند، شناسایی داروی مناسب برای درمان مؤثر، دشوار است. به طور کلی، این گونه عفونت‌ها، با داروهایی مانند ایمی‌پنم یا مروپنم قابل درمان هستند اما نکته قابل‌توجه، وجود مسیر صعودی مقاومت به کارپاپنم‌ها در این باکتری است. به طور کلی، مکانیسم‌های مقاومت به ترکیبات ضدمیکروبی در *اسنیتوباکتر بومانی*، به سه دسته محدود می‌شود:

۱)وجود آنزیم‌های خنثی‌کننده ترکیبات ضدمیکروبی

۲) کاهش دسترسی به سلول‌های هدف باکتریایی (که این امر در نتیجه کاهش نفوذپذیری غشاء است که به دلیل کاهش یا از دست دادن پورین‌ها یا در اثر بیان بیش از حد پمپ‌های انتشار دارو به خارج از سلول رخ می‌دهد.)

۳) جهش‌ها که می‌توانند هدف یا عملکردهای سلول را تغییر دهند (مانند جهش‌هایی که باعث تغییر در پروتئین متصل‌شونده به پنی‌سیلین می‌شوند)(۲۳-۲).

با توجه به مقاومت *اسنیتوباکتر بومانی* به ترکیبات ضدمیکروبی و به‌ویژه ترکیبات ضدمیکروبی جدید، امروزه، استفاده مجدد از برخی ترکیبات مانند کلی‌سیتین و میکسین برای درمان این گونه عفونت‌ها رواج یافته است که به دلیل عوارض جانبی شدید مانند تأثیر بر کلیه، استفاده از این روش نیز جای بحث دارد. به همین دلیل، امروزه روش‌های دیگری مانند افزایش شستن دست‌ها و استفاده از روش‌های سخت‌کوشانه برای استریلیزاسیون مخصوصاً در بیمارستان‌ها مورد توجه قرار گرفته است (۲).

همچنین استفاده از ترکیبات دارویی دیگر، فاژدرمانی و

www.SID.ir

Archive of SID

نیز استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال، روش‌های پیشنهاد شده جدیدی برای درمان عفونت‌های ناشی از *اسنیتوباکتر بومانی* مقاوم به چند دارو می‌باشند. در این میان، استفاده از ترکیبات دارویی مانند ترکیباتی که در سنتز لیپید A نقش دارند به عنوان هدف جایگزین در درمان *اسنیتوباکتر بومانی* مطرح گشته است؛ مانند ترکیب LpxC که یک عامل داستیله‌کننده وابسته به روی است و مهار این ترکیب باعث افزایش حساسیت *اسنیتوباکتر بومانی* به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود. همچنین RX-P873 کاندید دارویی دیگری است که توانایی اتصال به مناطق محافظت شده در ریبوزوم را دارد و از سنتز پروتئین‌ها جلوگیری می‌کند. اما این دو ترکیب اخیر، فقط در آزمایشگاه به کار می‌روند و هنوز کاربرد بالینی آنها مشاهده نشده است (۳).

فاژدرمانی برای مقابله با عفونت‌های ایجاد شده توسط *اسنیتوباکتر بومانی* مقاوم به چند دارو نتایج نویدبخشی در پی داشته است، اما کاستی‌ها و محدودیت‌هایی نیز در این روش درمانی به چشم می‌خورد؛ مانند این که فاژها بسیار اختصاصی میزبان هستند که این امر، هم استفاده از آنها را محدود می‌کند و هم باعث ایجاد مقاومت در باکتری‌های میزبان می‌شود. از طرفی آماده‌سازی فاژها برای کاربرد درمانی، وقت‌گیر، هزینه‌بر و سخت است. نکته حائز اهمیت دیگر این که دوز معمول مصرفی و نیز جدول زمان‌بندی استفاده از فاژها برای مکان‌های مختلف بدن، هنوز ناشناخته است و این در حالی است که محققان نمی‌دانند که در فاژدرمانی با دوزهای تکراری، آنتی‌بادی ضد فاژ، چه زمانی در بدن تولید خواهد شد (۳).

از دیگر روش‌های نوین مقابله با *اسنیتوباکتر بومانی* مقاوم به چند دارو، استفاده از آنتی‌بادی مونوکلونال می‌باشد. امروزه آنتی‌بادی‌های مونوکلونال ضد *اسنیتوباکتر بومانی* مقاوم به چند دارو برای حمایت بیماران مبتلا به سپتی سمی، ذات‌الریه و عفونت زخم در مدل‌های حیوانی استفاده شده است. نیلسن و همکاران، این آنتی‌بادی مونوکلونال را C8 نامیدند و نتایج کاربردی آن را در موش مشاهده کردند اما تولید اختصاصی این آنتی‌بادی‌ها برای هر بافت و هر میزبان، از جمله معضلات پیش رو در کاربرد این روش نوین می‌باشد (۳).

با توجه به محدودیت‌های هر یک از روش‌های جایگزین درمانی برای مقابله با *اسنیتوباکتر بومانی* مقاوم به ترکیبات ضدمیکروبی، به‌کارگیری روش دیگرکه تا حدی محدودیت روش‌های فوق را نداشته باشد مورد نیاز خواهد بود. در این میان، استفاده از باکتری‌های شکارگر و مخصوصاً *بدلوویبریو*، روش جایگزین و مناسبی می‌باشد.

یکی از نویدبخش‌ترین زوایای استفاده از *بدلوویبریو* به عنوان عامل ضدمیکروبی این حقیقت است که مقاومت طعمه، عموماً کمیاب است؛ زیرا *بدلوویبریوها* طیف وسیعی از باکتری‌های گرم منفی را به عنوان طعمه مورد استفاده می‌دهند، از این رو ایجاد مقاومت در میزبان، بسیار نادر می‌باشد و اگر مقاومتی هم وجود داشته باشد به صورت ناپایدار و گذرا اتفاق می‌افتد و در اثر کشت‌های جدید، باکتری طعمه، مانند سویه مستعد اولیه، فعالیت می‌کند. هم‌چنین استفاده از *بدلوویبریو* به طور یک در میان با یک عامل ثانویه می‌تواند به عنوان راهکاری در جهت جلوگیری از گسترش مقاومت مطرح شود. از آن جایی که *بدلوویبریو* به طور طبیعی به آنتی‌بیوتیک‌های بتا لاکتام مقاوم است، ترکیب *بدلوویبریو*- پنی‌سیلین در این مورد، امکان‌پذیرخواهد بود. برای استفاده موفقیت‌آمیز درمانی، بدلوویبریو باید در بدن انسان زنده بماند اما به سلول‌های پستانداران حمله نکند. مطالعات اخیر، به جداسازی بدلوویبریو از مدفوع اشاره می‌کند که این امر نشان‌دهنده حضور این باکتری در روده انسان می‌باشد. هم‌چنین ایبا و همکاران نشان دادند که *بدلوویبریو* دارای ساختار لیپید A تغییریافته‌ای است؛ به گونه‌ای که خاصیت ایمنی‌زایی کمتری نسبت به ساختار تیپیک دارد؛ از این رو برای انسان، بی‌خطر است (۲۵-۲۴).

در این میان، کونگرونگ و همکاران در سال ۲۰۱۷ از *بدلوویبریو* برای درمان بیماری کبد ایجاد شده توسط ویبریوپراهمولیتیکوس بهره جستند و مشاهده کردند که تعداد واحد تشکیل‌دهنده کلونی در کشت همراه، کاهش چشمگیری یافته است (۲۰). در سال ۲۰۱۵ مارکلوا به کنترل زیستی عفونت‌های ناشی از ویبریوکلرا توسط *بدلوویبریو* پرداخت و نشان داد که تعداد واحد تشکیل‌دهنده کلونی ویبریوکلرا در کشت همراه با *بدلوویبریو*، به شدت کاهش می‌یابد (۱۹).

استفاده از باکتری‌های شکارگر برای کنترل باکتری‌های گرم منفی ایجادکننده عفونت‌های چشمی، تلاشی بود که شانک و همکاران در سال ۲۰۱۳ با بررسی تغییرات در میزان واحد تشکیل‌دهنده کلونی در کشت همراه انجام دادند (۲۶).

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش و از آن جا که مقاومت آنتی‌بیوتیکی *اسنیتوباکتر بومانی* به عنوان معضلی

www.SID.ir

Archive of SID

در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری می‌باشد، می‌توان از این پتانسیل *بدلوویبریو* در زمینه کاهش و نیز کنترل جمعیت *استنیتوباکتر* مخصوصاً در محیط‌های بیمارستانی بهره جست یا می‌توان به عنوان ترکیب آنتی‌بیوتیک زنده در زمینه درمان عفونت‌های به وجود آمده توسط این باکتری از *بدلوویبریو* استفاده کرد که در این مورد، نیاز به تحقیقات بیشتری خواهد بود.

References

[1]. Lin F, Lan C. Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumanni:* From bench tobedside. Word J Clin Cases. 2014; 2(12):787-814

[2]. Manchanda V, Sanchaita S, Singh. Multidrug resistant *Acinetobacter*. JGlob Infect Dis. 2010;2(3):291-304

[3]. Isler B, Doi y, Bonomo R, Paterson D. New Treatment Options Against Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumanni* Infections. Antimicrobial Agentsand Chemotherapy.2018:1-19

[4]. Tatti C, Leski T, Stockelman M, Craft D, Zurawski D, Krikup B. Antimicrobial Resistance Determinants in *Acinetobacter baumanni* Isolates Taken from Military Treatment Facilities.Antimicrobial Agents and Chemotherapy.2014;58(2):767-781

[5]. Shanks R, Kadouri D. Predatory prokaryotes wage war against eye infections. Future Microbiol.2014;9(4):429-432

[6]. Dwidar M, Monnappa A, Mitchell R. The dual probiotic and antibiotic nature of *Bdellovibrio bacteriovorus*. BMB reports. 2012;45(2):71-78

[7]. Sinha A, Hurakadli M, Ravindra S, Agarwal A. Bdellovibrio and Like Organisms: The Predatory Assassin. IOSR Journal of Dental and Medical Sciences.2014;13(10): 32-36

[8]. Sar T, Umeh E, Akosu D. Occurrence, Detection and Isolation of *Bdellovibrio* spps. From some Fresh Water Bodies in Benue State, Nigeria. Microbiology Journal.2015;5(1):21-27

[9]. Taylor R. Delt Proteobacter. Current Protocols in Microbiology. 2005: 1-7

[10]. Lambert C, Sockett R. Laboratory Maintenance of *Bdellovibrio*. Current Protocols in Microbiology.2008: 1-13

[11]. Oyedara O, Luna-Santilla E, Olguin-Rodriguez O, Guo X. Isolation of*Bdellovibrio* sp. from soil samples in Mexico and their potential applications in control of pathogens. Microbiology Open.2016: 1-11doi:10.1002/mbo3.382

[12]. Feng S, Tan C, Cohen Y, Rice S.Isolation o*f Bdellovibrio bacteriovorus* from tropical wastewater treatment plant and predation of mixed species biofilms assembled by the native community members. Wiley-Blackwell and Society for Applied Microbiology.'Accepted Article',doi:10.1111/1462-2920.13384

[13]. Lu F, Cai J. The protective effect of ., *Bdellovibrio* and like organisms on tilapia fish fillets against *salmonella entrica* spp. Entrica serovar Typhimurium.Applied Microbiology. 2010;51:625-631

[14]. Dashiff A, Junka R, Libera M, Kadouri D. Predation of human pathogens by the predatory bacteria *Micavibrio aeroginosavorus and Bdellovibrio bacteriovorus*. Journal of applied Microbiology.2010; 110:431-444

[15]. Russo R, Chae R, Mukherjee S, Singleton E, Occi J, Kadouri D, Connell N. Susceptibility of Select A gents to Predation by Predatory Bacteria. Microorganisms.2015; 3: 903-912

[16]. Wan-Yebob s. Identification and Characterization of *Bdellovibrio bacteriovorus*, a Predator of *Burkholderia glumae*. Journal of Microbiology and Biotechnology.2004; 14(1): 48-55

[17]. El-shanshoury A, Abo-Amer A. Isolation of *Bdellovibrio*sp. from wastewater and their potential application in control of *Salmonella paratyphi* in water. Geomicrobiology. 2016; 33(10): 886-893

[18]. Markelova N. The potential of *Bdellovibrio* For the Biocotrol of the Infectious Agents *Vibrio cholera*. Avicenna J Environ Health Eng. 2015; 2(2): 41-45

[19]. Kongrueng J, Mitraparp P, Bangpanwimon K, Robins W, Vuddhakul V, Mekalanos J. Isolation of Bdellovibrio and Like Organisms and potential to reduce acute hepatopancreatic necrosis disease caused by *Vibrio parahaemolyticus*. Dis Aquat Org. 2017; 124: 223-232

[20]. Chu W, Zhu W. Isolation of *Bdellovibrio* as Biological Therapeutic Agents used For the Treatment of *Aeromonas hydrophila* Infection. Zoonoses and Public Heaith. 2009:1-7 Doi:10.111/j.1863-2378.2008.01224.x

[21]. Atterbury R, Hobley L, Till R, Capeness M, Lerner T, Fenton A, Barrow P, Sockett E. Effect of Orally Administered *Bdellovibrio bacteriovorus* on the Well-Being and *Salmonella* Colonization of Yong Chicks. Applied and Environmental Microbiology. 2001: 5794-5803

[22]. Boileau M, Clinkenbeard K, Iandolo J. Assessment of *Bdellovibrio bacteriovorus*109J killing of *Moraxella bovis* in an in vitro model of infectious bovine Keratoconjuctivitis.The Canadian Journal of Veterinary Research .2011; 75:285-291

[23]. Maragakis L, Perl T. *Acinetobacter baumanni* Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Treatment Options. Antimicrobial Resistance. 2008;46:1254-1263

[24]. Sockett E, Lambert C. *Bdellovibrio* as therapeutic agents: a predatory renaissance. Nature.2004;2: 669-675

[25]. Strauch E, Beck S, Appel B. Bdellovibrio and Like Organisms: Potential Sources for New Biochemicals and Therapeutic Agents?. Microbiol Monogr.2006:132-148

[26]. Shanks R, Davar V, Romanowski E, Brothers K, Stella N, Godboley D, Kadouri D. An Eye to a Kill:Using Predatory Bacteria to Control Gram-Negative Pathogens Associated with Ocular Infections.PLOS.2013; 8(6):1-7

www.SID.ir

Archive of SID

Bio-control of *Acinetobacter baumannii* by *Bdellovibrio* as a predatory bacteria

Neda Jafarian[1], Abbas Akhavan Sepahi[2]*, Nafiseh Sadat Naghavi[3], Farzaneh Hosseini[4], Jamileh Nowroozi[5]

1. Ph.D Student of Microbiology, Department of Microbiology, School of Biological Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran
2. Associate professor, Department of Microbiology, School of Biological Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran
3. Assistant professor, Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
4. Assistant professor, Department of Microbiology, School of Biological Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran
5. Professor, Department of Microbiology, School of Biological Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

Abstract

Introduction: Management of antimicrobial-resistant *Acinetobacter baumanni* is a great challenge for clinical microbiologist. Whereas use the predatory bacteria is the best way to treat infection diseases caused by antibiotic-resistant bacteria, the aim of this study was to use the autochthonous *Bdellovibrio* potential to prey *Acinetobacter baumannii* as a biological control agent.

Materials and Methods: To evaluate the effect of autochthonous *Bdellovibrio* on *Acinetobacter baumannii*, as a biological control agent, plaque perdition assay, reduction in optical density (OD) and reduction in host cells viability by colony forming unit (CFU) counting in co-cultures after 0,24, 48 hours and assay of killing efficiency were carried out.

Results: Clear plaques were observed after 3-6 days of incubation. In co-cultures, the CFU enumeration of *Acinetobacter baumannii* was decreased after 48 hours. Also, after 48 hours, OD was decreased 0.7unit. In this research the efficiency of*Bdellovibrio*killing for *Acinetobacter baumannii* was 83%.

Conclusion: Base on the results, *Bdellovibrio* can prey *Acinetobacter baumannii* as a prey cell. Therefore utilize of *Bdellovibrio* spp., as biological control agent, for treatment of antimicrobial-resistant *Acinetobacter baumannii* infection suggested in future study.

Received: 2018/12/26
Accepted: 2019/02/23

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, Antimicrobial-resistance, *Bdellovibrio*, biological control agent.

www.SID.ir