فراوانی ژنهای بیماریزایی در سویه های اسینتوباکتر بومانی جداسازی شده از عفونت زخم سوختگی در اصفهان در سالهای ۱۴۰۱-۱۴۰۰

ساناز خاشعی[۱]، حسین فاضلی[۲*]، فاتح رحیمی[۳*]، وجیهه کرباسی زاده[۴]

۱- دانشجوی دکتری باکتری شناسی، گروه باکتری شناسی و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۲- دکتری تخصصی میکروبشناسی، استاد گروه باکتری شناسی و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۳- دکتری تخصصی باکتری شناسی، دانشیار بخش میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوریهای زیستی، دانشگاه اصفهان
۴- دکتری تخصصی باکتری شناسی، دانشیار گروه باکتری شناسی و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
*نشانی برای مکاتبه: h_fazeli@med.mui.ac.ir

دریافت مقاله: دی ۱۴۰۲ پذیرش برای چاپ: اسفند ۱۴۰۲

چکیده

زمینه و هدف: *مقاومت آنتی بیوتیکی و تشکیل بیوفیلم به عنوان عوامل اصلی افزایش دهنده خطر ابتلا به عفونتهای تهدید کننده حیات در بیماران سوختگی در نظر گرفته می شوند. هدف از این مطالعه بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی و توانایی تشکیل بیوفیلم و همچنین تعیین فراوانی ژنهای مرتبط با بیوفیلم در سویه های اسینتوباکتر بومانی جداسازی شده از عفونت زخم سوختگی در اصفهان بود.*

مواد و روشها: *در مجموع ۵۰ ایزوله اسینتوباکتر بومانی از نمونه های عفونت زخم سوختگی بیماران بستری در بیمارستان امام موسی کاظم (ع) اصفهان از اسفند ۱۴۰۰ لغایت تیر ۱۴۰۱ جمع آوری شد. تمامی ایزوله ها در ابتدا با آزمونهای استاندارد مورفولوژیکی، فنوتایپی و بیوشیمیایی مورد شناسایی قرار گرفتند. سپس تأیید مولکولی با آزمون PCR با استفاده از پرایمر اختصاصی ژن bla_{oxa-51} انجام شد. حساسیت ضدمیکروبی نسبت به ۱۳ آنتی‌بیوتیک به روش انتشار دیسک انجام گرفت و توانایی تولید بیوفیلم هر سویه با روش کمی میکروتیتر پلیت مورد بررسی قرار گرفت. همچنین، فراوانی چهار ژن مرتبط با بیوفیلم (pgaA، bap، csuE و abaI) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تعیین شد.*

یافته ها: *تمامی سویه ها نسبت به آنتی بیوتیکهای پیپراسیلین-تازوباکتام، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون، ایمی پنم و سیپروفلوکساسین مقاومت نشان دادند (۱۰۰ درصد) و به عنوان سویه های واجد فنوتایپ مقاومت دارویی گسترده (XDR) طبقه بندی شدند. در مجموع، ۲۶، ۶۰ و ۱۰ درصد سویه‌ها به ترتیب مولد بیوفیلم قوی، متوسط و ضعیف بودند. همچنین، در میان چهار ژن مرتبط با تشکیل بیوفیلم، ژن bap دارای بیشترین فراوانی بود (۹۸ درصد) و فراوانی ژنهای csuE، pgaA و abaI نیز به ترتیب محدود به ۹۲، ۹۲ و ۹۰ درصد سویه ها بود. همچنین حضور ژنهای csuE و pgaA به طور معناداری با توانایی تشکیل بیوفیلم مرتبط بود.*

نتیجه‌گیری: *فراوانی بالای سویه های اسینتوباکتر بومانی مولد بیوفیلم واجد مقاومت دارویی گسترده در بیمارستان مورد مطالعه در اصفهان نشان دهنده اهمیت تشکیل بیوفیلم و عوامل حدت سویه های اسینتوباکتر بومانی در بیماران سوختگی می باشد.*

واژگان کلیدی: اسینتوباکتر بومانی، عفونت زخم سوختگی، مقاومت دارویی، تشکیل بیوفیلم

مقدمه

براساس اعلام سازمان بهداشت جهانی[۱] سالانه ۱۱ میلیون نفر دچار حادثه سوختگی می شوند و این افراد به علت ایجاد اختلال در سد محافظتی پوست، آسیب به میکروبیوتا و سرکوب سیستم ایمنی در معرض ابتلا به عفونتهای تهاجمی از جمله باکتریمی و سپتی سمی قرار دارند (۱). در حال حاضر، ایزوله

[۱] World Health Organization (WHO)

های *اسینتوباکتر بومانی* واجد مقاومت دارویی گسترده[۲]، به سبب توانایی چشمگیر در غلبه بر درمانهای آنتی بیوتیکی معمول، به عنوان یکی از مهمترین باکتریهای بیماریزا باکتریایی دخیل در ایجاد عفونتهای بیمارستانی پایدار، به ویژه در بیماران سوختگی، در نظر گرفته می شوند (۲). شیوع عفونتهای ناشی از این باکتری به واسطه انتخاب طبیعی سویه های مقاوم و انتقال افقی سازوکارهای مقاومت رو به افزایش است؛ به طوری که سالانه ۷۵۰۰۰ مورد عفونت ناشی از *اسینتوباکتر بومانی* واجد مقاومت دارویی گسترده در سراسر جهان رخ می دهد (۳). همچنین، تجویز و استفاده از آنتی بیوتیکهای نامناسب و وسیع الطیف[۳] در تسهیل این امر نقش بسیار مهمی ایفا می کند. عفونتهای مرتبط با *اسینتوباکتر بومانی* واجد مقاومت دارویی گسترده در مقایسه با عفونتهای ناشی از سویه های حساس، سبب ۳۰۰۰۰ مورد مرگ بیشتر در سال و افزایش هزینه های درمان به میزان ۷۴۲ میلیون دلار می گردد؛ که این امر ناشی از محدودیت گزینه های درمانی علیه این باکتری بیماریزا می باشد (۴). توانایی *اسینتوباکتر بومانی* در تولید بیوفیلم بر سطوح زیستی و غیرزیستی نقش مهمی در ایجاد عفونتهای پایدار و مزمن و همچینین بقاء در محیطهای بیمارستانی، بر عهده دارد. احاطه سلولهای باکتریایی توسط ماتریکس بیوفیلم به آنها اجازه می دهد تا در شرایط نامساعد از جمله حضور آنتی بیوتیکها مقاومت کنند و همین عامل موجب ناکارآمدی رژیمهای دارویی معمول برای درمان عفونتهای مرتبط با بیوفیلم *اسینتوباکتر بومانی* می گردد (۴).

طیف وسیعی از عوامل حدت[۴] در مراحل مختلف تشکیل بیوفیلم در این باکتری نقش دارند. از جمله این عوامل می توان به پروتئینهای وابسته به سطح نظیر پیلی اشاره نمود که اثر مهمی در اتصال برگشت ناپذیر سلولهای باکتریایی به سطوح مختلف و تشکیل بیوفیلم دارند. chaperon usher pili، سیستم پیلی شناسایی شده در *اسینتوباکتر بومانی* است که توسط اپرون *csu*A/BABCDE رمزگذاری می گردد (۵). مطالعات حاکی از آن است که در میان این ژنها، حذف قطعه *csu*Eسبب اختلال در شکل گیری پیلی و در نهایت عدم تشکیل بیوفیلم می شود. پروتئین مرتبط با بیوفیلم که توسط ژن *bap* رمزگذاری می شود از دیگر پروتئینهای سطحی باکتریایی با وزن مولکولی بالا می باشد که در اتصال بین سلولی، تجمع باکتریها و گسترش و بلوغ بیوفیلم مؤثر است. به علاوه، جهت گسترش بیوفیلم در باکتریها پلی ساکارید پلی-ان-استیل گلوکز آمین مورد نیاز می باشد. این پلی ساکارید توسط لوکوس ژنی *pga*ABCD رمز می شود که در بین آنها قطعه ژنی *pga*A با تشکیل یک پروتئین عبور کننده از غشاء در انتقال پلی-ان-استیل گلوکز آمین از میان غشاء خارجی نقش مؤثری را ایفا می کند (۵). همچنین، نتایج حاصل از مطالعات پیشین، اهمیت ادراک حد نصاب[۵] در تشکیل بیوفیلم را به اثبات رسانده اند. در این فرایند، ارتباط میان سلولهای باکتریایی از طریق ترشح ترکیبات شبه هورمونی نظیر آسیل همو سرین لاکتون برقرار می گردد و ژن *aba*I در ترشح این ماده حائز اهمیت می باشد (۶). با انجام مطالعات اپیدمیولوژیک اطلاعات سودمندی جهت شناسایی منبع عفونت و ردیابی راه های انتقال در میان بیماران فراهم می گردد (۷). این امر خود در دستیابی و اتخاذ برنامه های کنترل پراکندگی سویه های باکتریایی مقاوم، بهینه سازی درمانهای ضدمیکروبی، کاهش هزینه های درمان و شناخت نحوه بیماریزایی باکتریها بسیار کمک کننده است. علیرغم اهمیت اپیدمیولوژیک *اسینتوباکتر بومانی*، نقش دقیق عوامل حدت این باکتری در توسعه مقاومت آنتی بیوتیکی و تشکیل بیوفیلم در عفونتهای زخم سوختگی ناشناخته است. مطالعه حاضر با هدف بررسی مقاومت دارویی و توانایی تشکیل بیوفیلم و همچنین تعیین فراوانی ژنهای *pga*A، *aba*I، *csu*E و *bap* در میان سویه های *اسینتوباکتر بومانی* جداسازی شده از عفونت زخم سوختگی در اصفهان در سالهای ۱۴۰۱-۱۴۰۰ به انجام رسیده است.

روش کار

جمع‌آوری و شناسایی ایزوله های باکتریایی

در بازه زمانی اسفند ۱۴۰۰ لغایت تیر ۱۴۰۱ تعداد ۵۰ ایزوله *اسینتوباکتر بومانی* از نمونه های مربوط به عفونت زخم سوختگی از آزمایشگاه مرکز آموزشی درمانی امام موسی کاظم (ع) اصفهان جمع آوری شد. تمامی ایزوله ها با استفاده از آزمونهای استاندارد مورفولوژیکی، فنوتایپی و بیوشیمیایی مورد شناسایی مجدد قرار گرفتند. همچنین، تأیید سویه ها توسط آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن $bla_{\text{oxa-51}}$ انجام شد (۸).

آزمون تعیین حساسیت ضدمیکروبی

[۲] Extensive drug-resistant (XDR)
[۳] Broad-spectrum antimicrobials
[۴] Virulence factors
[۵] Quorum sensing (QS)

غربالگری و شناسایی سویه های *اسینتوباکتر بومانی* واجد مقاومت دارویی گسترده با روش انتشار دیسک[۶]، براساس دستورالعمل CLSI[۷] (۹)، بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار و با استفاده از دیسکهای آمپی سیلین-سولباکتام (۲۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، داکسی سایکلین (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، لووفلوکساسین (۵ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، پیپراسیلین-تازوباکتام (۱۰۰/۱۰ میکروگرم)، ایمی پنم (۱۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم) و سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم) انجام شد. تمامی دیسکهای آنتی بیوتیک مورد استفاده در این مطالعه از شرکت Liofilchem (Italy) تهیه شدند. سپس تعیین شیوع سویه های *اسینتوباکتر بومانی* با مقاومت چند دارویی[۸] و یا دارای مقاومت دارویی گسترده براساس قواعد مرکز پیشگیری و کنترل بیماری اروپا (ECDC)[۹] صورت گرفت (۱۰).

بررسی فنوتیپی تولید بیوفیلم

تولید بیوفیلم در سویه های *اسینتوباکتر بومانی* با روش کمی میکروتیتر پلیت[۱۰] مطابق با پروتکل ذکر شده در مطالعات قبلی مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۱). به طور خلاصه، سوسپانسیون باکتریایی از کشت شبانه هر سویه تهیه و پس از تأیید کدورت ($OD_{600} = 0.1$)، ۲۰۰ میکرولیتر از کشت رقیق شده به هر یک از چاهکهای میکروتیترپلیت ۹۶ خانه منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در حالت سکون، انکوبه شد. در مرحله بعدی، تمامی چاهکها به منظور حذف سلولهای پلانکتونی، تخلیه شده و هر چاهک سه مرتبه با نرمال سالین به آرامی شست و شو داده شد. سپس سلولهای باکتریایی باقیمانده با ۲۰۰ میکرولیتر اتانول (۹۶ درصد)، تثبیت شدند. بعد از ۱۵ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، محتوای چاهکها تخلیه و سلولهای متصل به سطح پلیت با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله (۱ درصد) به مدت ۱۵ دقیقه رنگ آمیزی شدند. پس از شست و شوی چاهکها با نرمال سالین، انحلال کریستال ویوله با اسید استیک (۳۰ درصد) انجام گرفت و جذب نوری هر چاهک در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت شد. هر تست سه مرتبه تکرار و چاهکهای فاقد باکتری به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شدند. با مقایسه میان ODi (جذب نوری هر نمونه) و جذب نوری کنترل منفی (ODc) عدم تشکیل بیوفیلم ($ODi < ODc$) و یا تشکیل بیوفیلم به سه شکل ضعیف ($ODc < ODi \leq 2xODc$)، متوسط ($2xODc < ODi \leq 4xODc$) و قوی ($4xODc < ODi$)، تعیین گردید.

تایید مولکولی ایزوله ها

در این مطالعه DNA تمامی ایزوله ها با استفاده از روش جوشاندن استخراج شد. به طور خلاصه، یک لوپ پر از کلنیهای خالص باکتری در ۳۰۰ میکرولیتر آب استریل دیونیزه حل و به خوبی ورتکس گردید و سپس به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شد. پس از سانتریفیوژ در g × ۱۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه، مایع رویی به عنوان DNA الگو در آزمون PCR مورد استفاده قرار گرفت (۱۲). سپس به منظور تأیید مولکولی ایزوله ها که پیشتر با استفاده از آزمونهای فنوتایپی به عنوان *اسینتوباکتر بومانی* مورد شناسایی قرار گرفته بودند، از آزمون PCR با جفت پرایمر اختصاصی جهت تکثیر ژن bla_{oxa-51} (جدول ۱)، مطابق با پروتکل ذکر شده در مطالعات قبلی استفاده شد (۸).

بررسی ژنهای مرتبط با تشکیل بیوفیلم

پس از تعیین سویه های *اسینتوباکتر بومانی* مولد بیوفیلم، حضور چهار ژن مرتبط با بیوفیلم (*pgaA*، *bap*، *csuE* و *abaI*) در میان سویه ها با استفاده از آزمون PCR و جفت پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) مطابق با شرایط ذکر شده در مطالعات قبلی مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۰).

---

[۶] Disc diffusion method
[۷] Clinical and Laboratorial Standards Institute (CLSI)
[۸] Multi drug resistance (MDR)
[۹] European Centre for Disease Prevention and Control
[۱۰] Microtiter plate

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده و شرایط PCR انجام شده در مطالعه حاضر.

ژن هدف	توالی پرایمر (´۵ به ´۳)	شرایط PCR			طول قطعه (جفت باز)	منبع
*bla*OXA-51	F: TAATGCTTTGATCGGCCTTG R: TGGATTGCACTTCATCTTGG	۹۴°C	۳ دقیقه	۱ سیکل	۳۵۳	(۸)
		۹۴°C	۳۰ ثانیه	۳۰ سیکل		
		۵۵°C	۳۰ ثانیه			
		۷۲°C	۳۰ ثانیه			
bap	F: GAGGGAACTTCTGCAAAACTTTC R: CAGACGTATGACTGCATTGGT	۹۴°C	۳ دقیقه	۱ سیکل	۱۰۸	(۱۳)
		۹۴°C	۳۰ ثانیه	۳۰ سیکل		
		۵۹°C	۳۰ ثانیه			
		۷۲°C	۳۰ ثانیه			
*csu*E	F: ACCAATGCTCAGACCGGAG R: CTTGTACCGTGACCGTATCTTG	۹۴°C	۳ دقیقه	۱ سیکل	۷۵۱	(۱۳)
		۹۴°C	۳۰ ثانیه	۳۰ سیکل		
		۹۴°C	۳۰ ثانیه			
		۹۴°C	۳۰ ثانیه			
*aba*I	F: CCGCTACAGGGTATTTGTTGAA R: CACGATGGGCACGAAAACC	۹۴°C	۳ دقیقه	۱ سیکل	۴۲۸	(۱۳)
		۹۴°C	۳۰ ثانیه	۳۰ سیکل		
		۹۴°C	۳۰ ثانیه			
		۹۴°C	۳۰ ثانیه			
*pga*A	F: ATTCAAAAGTCAGTTGATGGGC R: TTTTTTGTCCTTGCTCCAGC	۹۴°C	۳ دقیقه	۱ سیکل	۴۶۰	(۱۳)

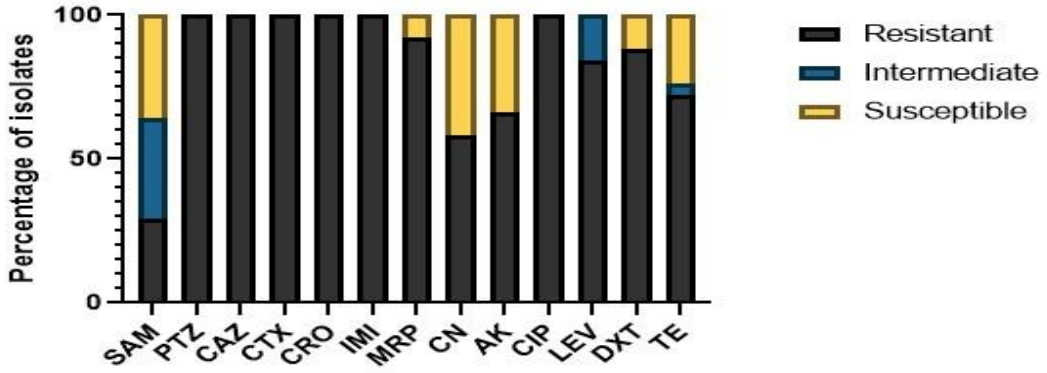
تحلیل آماری

وجود ارتباط میان حضور ژن‌های مرتبط با بیوفیلم (*pga*A، *bap*، *csu*E و*aba*I) و توانایی تشکیل بیوفیلم در سویه‌های مورد مطالعه با نرم افزار GraphPad Prism (نسخه ۹) و آزمون Chi-square، مورد سنجش قرار گرفت.

یافته ها

شناسایی ایزوله های باکتریایی و تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی

تمامی ایزوله های بالینی بر اساس آزمونهای فنوتایپی، بیوشیمیایی و مولکولی به عنوان *اسینتوباکتر بومانی* مورد تأیید قرار گرفتند. بر اساس نتایج حاصل از آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی، در این مطالعه بالاترین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیکهای پیپراسیلین-تازوباکتام، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون، ایمی پنم و سیپروفلوکساسین مشاهده گردید و تمامی ۵۰ سویه نسبت به این آنتی بیوتکیها مقاوم بودند. از سوی دیگر، جنتامایسین (۴۲ درصد)، آمیکاسین (۴۰ درصد) و آمپی سیلین-سولباکتام (۳۶ درصد) موثرترین آنتی بیوتیکها بر علیه سویه های *اسینتوباکتر بومانی* بودند (شکل ۱). همچنین، تمامی سویه‌ها (۱۰۰ درصد) به عنوان سویه های واجد فنوتایپ مقاومت دارویی گسترده طبقه بندی شدند.



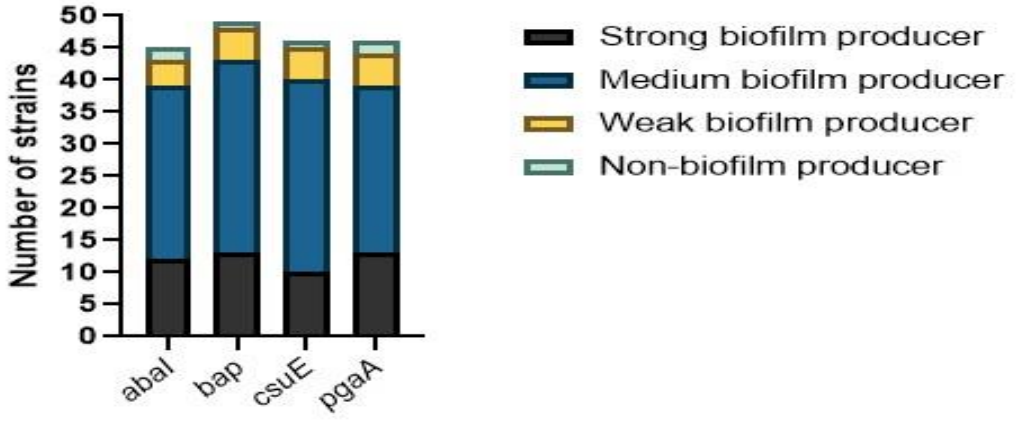
شکل ۱. فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی در میان سویه های *اسینتوباکتر بومانی* جداسازی شده از عفونت زخم سوختگی. اختصارات عبارتند از: SAM: آمپی سیلین-سولباکتام PTZ: پیپراسیلین-تازوباکتام، CAZ: سفتازیدیم، CTX: سفوتاکسیم، CRO: سفتریاکسون، IMI: ایمی پنم، MRP: مروپنم، CN: جنتامایسین، AK: آمیکاسین، CIP: سیپروفلوکساسین، LEV: لووفلوکساسین، DXT: داکسی سایکلین، TE: تتراسایکلین. نمادهای شکل عبارتند از: Resistant: مقاوم، Intermediate: حدواسط، Susceptible: حساس.

تشکیل بیوفیلم در سویه های *اسینتوباکتر بومانی*

با استناد به نتایج حاصل از آزمون کمی میکروتیتر پلیت جهت سنجش توانایی تولید بیوفیلم در میان سویه های *اسینتوباکتر بومانی* مشخص شد که در مجموع ۴۸ سویه (۹۶ درصد) واجد توانایی تشکیل بیوفیلم بودند. بر این اساس، ۲۶ درصد (۱۳ سویه)، ۶۰ درصد (۳۰ سویه) و ۱۰ درصد (۵ سویه) به ترتیب مولد بیوفیلم قوی، متوسط و ضعیف بودند.

تعیین فراوانی ژنهای مرتبط با تشکیل بیوفیلم

نتایج حاصل از آزمونهای PCR جداگانه جهت شناسایی ژنهای مرتبط با تشکیل بیوفیلم نشان داد که از مجموع ۴ ژن مورد بررسی، ژن *bap* غالبترین ژن بود و در ۹۸ درصد سویه ها شناسایی گردید. همچنین، فراوانی ژنهای *csu*E، *pga*A و *aba*I نیز به ترتیب محدود به ۹۲ درصد، ۹۲ درصد و ۹۰ درصد سویه های مورد مطالعه بود. از طرف دیگر، ژنهای *bap* و *pag*A شایعترین ژنها در سویه های مولد بیوفیلم قوی بودند و در سویه های مولد بیوفیلم متوسط ژنهای *bap* و *csu*E از بیشترین فراوانی برخوردار بودند (شکل ۲). همچنین، نتایج حاصل از سنجش ارتباط میان توانایی تولید بیوفیلم و حضور ژنهای گوناگون نشان داد که حضور ژنهای *csu*E ($P = 0.0254$) و *pga*A ($P < 0.0001$) به طور معناداری با توانایی تشکیل بیوفیلم مرتبط بودند (جدول ۲).



شکل ۲. فراوانی ژنهای مرتبط با تشکیل بیوفیلم در سویه های *اسینتوباکتر بومانی* واجد مقاومت دارویی گسترده. نمادهای شکل عبارتند از: Strong biofilm producer: مولد بیوفیلم قوی، Medium biofilm producer: مولد بیوفیلم متوسط، Weak biofilm producer: مولد بیوفیلم ضعیف، Non-biofilm producer: غیر تولید کننده بیوفیلم.

جدول ۲. ارتباط میان حضور ژنهای *pgaA*، *bap*، *csuE* و *abaI* و توانایی تشکیل بیوفیلم در سویه های *اسینتوباکتر بومانی* واجد مقاومت دارویی گسترده.

ژن مرتبط با تشکیل بیوفیلم		توانایی تشکیل بیوفیلم		*P*-Value
		سویه های بیوفیلم منفی (درصد)	سویه های مولد بیوفیلم (درصد)	
*aba*I	مثبت	۲ (۴)	۴۳ (۹۶)	۰/۶۳
	منفی	-	۵ (۱۰۰)	
bap	مثبت	۱ (۲)	۴۸ (۹۸)	۰/۶۷
	منفی	۱ (۱۰۰)	-	
*csu*E	مثبت	۱ (۲)	۴۵ (۹۸)	۰/۰۲۵۴ (*)
	منفی	۱ (۲۵)	۳ (۷۵)	
*pga*A	مثبت	۲ (۴)	۴۴ (۹۶)	< ۰/۰۰۰۱ (****)
	منفی	-	۴ (۱۰۰)	

ژن *abaI*: Acyl-homoserine-lactone synthase، ژن *bap*: Biofilm-associated protein، ژن *csuE*: Csu fimbrial tip adhesin، ژن *pgaA*: Poly-beta-1,6 N-acetyl-D-glucosamine export porin. علامت (*) نشان دهنده وجود ارتباط معنادار است ($P < 0.05$).

بحث

عفونت به عنوان شایعترین عامل مرگ و میر در بیماران سوختگی شناخته می شود و سویه های *اسینتوباکتر بومانی* یکی از مهمترین و مشکل سازترین عوامل عفونی در این بیماران در سراسر جهان به شمار می روند (۱۴). موانع در درمان بیماران سوختگی در کشورهای در حال توسعه در مقایسه با کشورهای توسعه یافته منحصر به فرد و چالش برانگیز هستند که همین امر سبب افزایش استفاده سیستمیک از آنتی بیوتیکها در جهت پیشگیری و همچنین درمان بیماران سوختگی می گردد. نتیجه حاصل از افزایش استفاده از آنتی بیوتیکها ظهور باکتریهای مقاوم به دارو است که به عنوان یکی از اصلی ترین مسائل در درمان عفونتهای باکتریایی شناخته می شوند. بنابراین، پایش و به روز رسانی مداوم الگوهای مقاومت آنتی بیوتیکی در محیطهای بیمارستانی جهت اتخاذ برنامه های کنترل و درمان عفونت مناسب و کارآمد، بسیار ضروری و الزامی است (۱۵). براساس یافته های مطالعه حاضر، بیشترین مقاومت سویه های *اسینتوباکتر بومانی* نسبت به آنتی بیوتیکهای پیپراسیلین-تازوباکتام، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون، ایمی پنم و سیپروفلوکساسین مشاهده شد که در راستای نتایج حاصل پژوهشهای پیشین بود (۱۶, ۱۷). در ایران تجویز دارو جهت درمان عفونتهای زخم سوختگی غالبا مبتنی بر درمانهای تجربی است و نتایج حاصل از کشت میکروبی و آزمونهای حساسیت آنتی بیوتیکی چندان مورد توجه قرار نمی گیرد. طبق آمارهای ارائه شده در مطالعات پیشین، آنتی بیوتیکهای پیپراسیلین-تازوباکتام، سفتریاکسون، ایمی پنم و سیپروفلوکساسین از فراوانترین داروهای تجویز شده در ایران جهت درمان این بیماران بوده است (۱۸). درمان بیماران دارای عفونت زخم سوختگی با رژیم آنتی بیوتیکی نامناسب، آنها را در معرض خطر ابتلا به عفونتهای مهلک ناشی از باکتریهای مقاوم به دارو قرار می دهد که می تواند منجر به بستری طولانی مدت در بیمارستان و افزایش هزینه های درمانی بیماران گردد (۱۹). یافته های حاصل از این پژوهش نشان دهنده نیاز فوری و ضروری به تغییر الگوی درمانی و استفاده از آنتی بیوتیکهای مؤثر (نسلهای جدید آنتی بیوتیکی) در این بیماران می باشد.

شیوع صد درصدی سویه های *اسینتوباکتر بومانی* دارای مقاومت دارویی گسترده در بیماران مبتلا به عفونت زخم سوختگی در این مطالعه و افزایش آن نسبت به مطالعات انجام شده در سالهای قبل در ایران (۱۰۰-۷۷ درصد) (۱۶, ۱۷, ۲۰)، حاکی از به صدا درآمدن زنگ خطر گسترش مقاومت دارویی در میان سویه های *اسینتوباکتر بومانی* در بیمارستانهای کشور است. از جمله دلایل افزایش شیوع این عفونتها می توان به انتخاب طبیعی سویه های مقاوم به دارو، گسترش وسیع ژنهای مقاومت و استفاده نادرست و یا بیش از حد از ترکیبات ضدمیکروبی با طیف عملکردی وسیع، اشاره کرد.

تشکیل بیوفیلم موضوعی قابل توجه در زمینه درمان عفونتهای ناشی از سوختگی است، به طوری که ۶۰ درصد از مرگ و میر ناشی از سوختگی در اثر عفونتهای ناشی از سویه های مولد بیوفیلم رخ می دهد. بیوفیلم سبب کاهش حداقلی فعالیت سیستم ایمنی میزبان و افزایش مقاومت به درمان ضدمیکروبی می شود که این امر سبب تأخیر فرایند التیام زخم و افزایش خطر عفونت در زخمهای حاد و مزمن می شود (۲۱). در این مطالعه شیوع ۹۶ درصدی سویه های *اسینتوباکتر بومانی* مولد بیوفیلم مشاهده شد که منطبق بر فراوانی تخمین زده شده (۷۵-۱۰۰ درصد) در مطالعه Donadu و همکاران بود (۲۲). همچنین، در مطالعه حاضر فراوانی چهار ژن مؤثر در تشکیل بیوفیلم (*pgaA*، *bap*، *csuE* و *abaI*) در میان سویه های *اسینتوباکتر بومانی* جداسازی شده از بیماران مبتلا به عفونت زخم سوختگی تعیین شد. در مطالعه انجام شده توسط Santajit و همکاران در تایلند ژن *csuE* از فراوانی کمتری (۷۶/۴۷ درصد) نسبت به مطالعه حاضر برخوردار بود (۲۳). Jalal و همکاران شیوع صد درصدی ژنهای *pgaA*، *csuE* و*abaI* در میان سویه های *اسینتوباکتر بومانی* جداسازی شده از بیماران بستری در بیمارستان سرطان کودکان در مصر را گزارش کردند. این در حالی است که در آن مطالعه ژن *bap* از کمترین میزان فراوانی (۷۶/۷ درصد) در میان سایر ژنها برخوردار بود که مغایر با نتایج حاصل از مطالعه اخیر بود (۲۴). در پژوهشی که توسط قدیری و همکاران در استان چهارمحال و بختیاری انجام شد، ژن *bap* دارای بیشترین فراوانی (۱۰۰ درصد) بود که این نتایج همسو با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر می باشد (۲۵). وجود تفاوت در نتایج به دست آمده در کشور در مقایسه با سایر کشورها می تواند ناشی از فرکانس بالاتر انتقال سویه های دارای مشابهت ژنتیکی در یک منطقه جغرافیایی خاص و یا استفاده از پروتکلهای درمانی مختلف در بین کشورها و شهرهای مختلف باشد.

در این مطالعه ارتباط میان ژنهای مرتبط با بیوفیلم و توانایی تشکیل بیوفیلم در میان سویه ها مورد ارزیابی قرار گرفت و

ارتباط معناداری میان حضور ژنهای *pgaA* و *csuE* و تولید بیوفیلم مشاهده شد. بیوفیلم ماتریکس پیچیده ای حاوی پروتئینها، یونها، اسیدهای نوکلئیک و پلیمرهای اگزوپلی ساکاریدی[11] بوده و پلی-ان-استیل گلوکز آمین به عنوان یکی از اصلی ترین و مهمترین اجزاء سازنده بیوفیلم شناخته می شود (۲۶). این پلی ساکارید علاوه بر نقشی که در چسبندگی به سطح و اتصال سلول به سلول دارد، یک عامل حدت مهم بوده و از باکتریها در برابر سیستم ایمنی ذاتی میزبان مانند فاگوسیتوز و پپتیدهای ضدمیکروبی محافظت می کند (۲۷). توانایی *اسینتوباکتر بومانی* در اتصال به سطح در ابتدای فرایند تشکیل بیوفیلم تا حد زیادی وابسته به پیلی بوده و CsuE با قرار گرفتن در رأس پیلی سبب ایجاد خاصیت چسبندگی در پیلی می شود (۲۸). علاوه بر نقش پیلی در اتصال باکتری به سطح، مطالعه انجام شده توسط Ahmad و همکاران تأثیر پیلی در ترشح سایتوکاینهایی مانند اینترلوکین-۸ از سلولهای اپیتلیال موش و حفاظت *اسینتوباکتر بومانی* از اثر باکتری کشی کلیستین با تنظیم تولید Mountain-like biofilm-patches را به اثبات رساند. از سوی دیگر، به دلیل وجود نواحی اتصالی متعدد در پروموتر *csu* برای تنظیم کننده های رونویسی مختلف، پیلی Csu را می توان به عنوان یک نقطه تنظیمی[12] برای تولید بهینه بیوفیلم و ایجاد فنوتایپهای بیماریزا در نظر گرفت (۲۹). از این رو، این ژنها می توانند به عنوان اهداف بالقوه برای توسعه راهبرد جدید جهت پیشگیری و درمان عفونتهای ناشی از *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به دارو، در مطالعات آینده مورد بررسی بیشتری واقع شوند.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر شیوع بالای سویه های *اسینتوباکتر بومانی* واجد مقاومت دارویی گسترده مولد بیوفیلم و واجد ژنهای دخیل در بیماریزایی و تشکیل بیوفیلم را در میان بیماران مبتلا به عفونتهای زخم سوختگی در اصفهان نشان داد. با توجه به ایجاد مشکلات بهداشتی و اقتصادی گسترده ناشی از عفونت در مراقبت از زخم سوختگی، تخصیص منابع لازم جهت اجرای برنامه های نظارت و پیشگیری از عفونت امری حیاتی است. همچنین محدود کردن مصرف آنتی بیوتیکها و تجویز آنها بر اساس نتایج حاصل از آزمون تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی هر بیمار و آموزش مناسب کارکنان مراقبتهای بهداشتی جهت جلوگیری از پراکندگی بیشتر عفونت در میان بیماران از جمله رویکردهای مؤثر جهت کنترل شیوع و درمان این باکتری به شمار می رود.

تأییدیه اخلاقی

پژوهش حاضر توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان (IR.MUI.MED.REC.1400.704) مورد ارزیابی و تایید قرار گرفت.

منابع مالی

نتایج ارائه شده در این مقاله بخشی از پایان نامه دکترای تخصصی خانم ساناز خاشعی بوده که توسط دفتر معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد حمایت قرار گرفته است.

تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافعی بین نویسندگان این مقاله وجود ندارد.

---

[11] Exopolysaccharides
[12] Check point

REFERENCE

1. Gong Y, Peng Y, Luo X, Zhang C, Shi Y, Zhang Y, et al. Different infection profiles and antimicrobial resistance patterns between burn ICU and common wards. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2021;11:681731.
2. Zaidan N, Hornak JP, Reynoso D. Extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* nosocomial pneumonia successfully treated with a novel antibiotic combination. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2021;65(11):e0092421.
3. Spellberg B, Bonomo RA. Combination therapy for extreme drug resistant (XDR) *Acinetobacter baumannii*: ready for Prime-Time? Critical care medicine. 2015;43(6):1332.
4. Gedefie A, Demsis W, Ashagrie M, Kassa Y, Tesfaye M, Tilahun M, et al. *Acinetobacter baumannii* biofilm formation and its role in disease pathogenesis: a review. Infection and Drug Resistance. 2021;14:3711-3719.
5. Mohamed EA, Raafat MM, Samir Mohamed R, Ali AEE. *Acinetobacter baumannii* biofilm and its potential therapeutic targets. Future Journal of Pharmaceutical Sciences. 2023;9(1):82.
6. Upmanyu K, Haq QMR, Singh R. Factors mediating *Acinetobacter baumannii* biofilm formation: Opportunities for developing therapeutics. Current Research in Microbial Sciences. 2022;3:100131.
7. Parkhill J, Wren BW. Bacterial epidemiology and biology-lessons from genome sequencing. Genome Biology. 2011;12:1-7.
8. Falah F, Shokoohizadeh L, Adabi M. Molecular identification and genotyping of *Acinetobacter baumannii* isolated from burn patients by PCR and ERIC-PCR. Scars Burn Heal. 2019;5:2059513119831369.
9. Clinical and Laboratory Standard Institute, C. 2022. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 32th informational supplement. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa.
10. ECfD P. Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) ECDC Stockholm. 2017.
11. Chen L, Li H, Wen H, Zhao B, Niu Y, Mo Q, et al. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii* was inhibited by PAβN while it had no association with antibiotic resistance. MicrobiologyOpen. 2020;9(9):e1063.
12. Rahimi F, Khashei S. Characteristics of Prophage Patterns and Virulence Gene Profiles among Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from Patients with Diabetic Foot Infections in a Referral Hospital in Tehran, Iran. Infection Epidemiology and Microbiology. 2023;9(1):15-23.
13. Al-Shamiri MM, Zhang S, Mi P, Liu Y, Xun M, Yang E, et al. Phenotypic and genotypic characteristics of *Acinetobacter baumannii* enrolled in the relationship among antibiotic resistance, biofilm formation and motility. Microbial Pathogenesis. 2021;155:104922.
14. Chaudhary NA, Munawar MD, Khan MT, Rehan K, Sadiq A, Bhatti HW, et al. Epidemiology, bacteriological profile, and antibiotic sensitivity pattern of burn wounds in the burn unit of a tertiary care hospital. Cureus. 2019;11(6):e4794.
15. Muthukumar V, Arumugam PK, Bamal R. Role of systemic antibiotic prophylaxis in acute burns: A retrospective analysis from a tertiary care center. Burns. 2020;46(5):1060-5.

16. Maleki A, Kaviar VH, Koupaei M, Haddadi MH, Kalani BS, Valadbeigi H, et al. Molecular typing and antibiotic resistance patterns among clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* recovered from burn patients in Tehran, Iran. Frontiers in Microbiology. 2022;13:994303.
17. Farshadzadeh Z, Hashemi FB, Rahimi S, Pourakbari B, Esmaeili D, Haghighi MA, et al. Wide distribution of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* in burns patients in Iran. Frontiers in Microbiology. 2015;6:1146.
18. Soltani R, Sajjadi S, Shirani K, Minaiyan M, Saghafi F. Drug Utilization Evaluation of Antibiotics in Burn Patients at a Referral Teaching Hospital. Journal of Pharmaceutical Care. 2022;10(2):63-8.
19. Thapa P, Bista D, Baidya P, Giri P. Antibiotic utilization pattern in burn patients admitted at tertiary hospital: A retrospective study. medRxiv. 2022:2022.02.15.22270999.
20. Mahdian S, Sadeghifard N, Pakzad I, Ghanbari F, Soroush S, Azimi L, et al. *Acinetobacter baumannii* clonal lineages I and II harboring different carbapenem-hydrolyzing-β-lactamase genes are widespread among hospitalized burn patients in Tehran. Journal of Infection and Public Health. 2015;8(6):533-42.
21. Thomas RE, Thomas BC. Reducing biofilm infections in burn patients' wounds and biofilms on surfaces in hospitals, medical facilities and medical equipment to improve burn care: a systematic review. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2021;18(24):13195.
22. Donadu MG, Mazzarello V, Cappuccinelli P, Zanetti S, Madléna M, Nagy ÁL, et al. Relationship between the biofilm-forming capacity and antimicrobial resistance in clinical *Acinetobacter baumannii* isolates: results from a laboratory-based in vitro study. Microorganisms. 2021;9(11):2384.
23. Santajit S, Bhoopong P, Kong-Ngoen T, Tunyong W, Horpet D, Paehoh-Ele W, et al. Phenotypic and Genotypic Investigation of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in Maharaj Nakhon Si Thammarat Hospital, Thailand. Antibiotics. 2023;12(3):580.
24. Jalal D, Elzayat MG, Diab AA, El-Shqanqery HE, Samir O, Bakry U, et al. Deciphering multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* from a pediatric cancer hospital in Egypt. mSphere. 2021;6(6):e0072521.
25. Ghadiri A, Doosti A, Shakhsi-Niaei M. Prevalence, Antimicrobial Susceptibility, and Distribution of Virulence Genes Involved in Biofilm Formation in Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolated from Shahrekord Medical Centers, Chaharmahal and Bakhtiari, Iran. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2023;17(1):73-80.
26. Choi AH, Slamti L, Avci FY, Pier GB, Maira-Litrán T. The *pgaABCD* locus of *Acinetobacter baumannii* encodes the production of poly-β-1-6-N-acetylglucosamine, which is critical for biofilm formation. Journal of Bacteriology. 2009;191(19):5953-63.
27. Khosravy M, Hosseini F, Razavi MR, Khavari RA. Expression of Biofilm-Related Genes in Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. Jundishapur Journal of Microbiology. 2023;16(4):e133999.
28. Azizi O, Shahcheraghi F, Salimizand H, Modarresi F, Shakibaie MR, Mansouri S, et al. Molecular analysis and expression of *bap* gene in biofilm-forming multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Reports of Biochemistry and Molecular Biology. 2016;5(1):62-72.
29. Ahmad I, Nadeem A, Mushtaq F, Zlatkov N, Shahzad M, Zavialov AV, et al. Csu pili dependent biofilm formation and virulence of *Acinetobacter baumannii*. npj Biofilms and Microbiomes. 2023;9(1):101.