ORIGINAL ARTICLE

Molecular Detection of Type II Toxin-Antitoxin Systems and their Association with Antibiotic Resistance and Biofilm Formation in Clinical Acinetobacter baumannii Isolates of Burn Patients

Elham Haghighifar[1],
Bahram Nasr Esfahani[2],
Hossein Fazeli[2]

[1] MSc Student in Medical Microbiology and Virology, Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[2] Professor, Department of Bacteriology and Virology, Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

(Received August 25, 2020 ; Accepted November 29, 2020)

Abstract

Background and purpose: Burn wounds are a good host for infections. *Acinetobacter baumannii* is an opportunistic bacterium in patients with burn infections. Toxin-antitoxin systems (TA_S) are genetic elements that are essential for antibiotic resistance and biofilm formation in bacteria, including higBA and relBE TA systems. The present study aimed to investigate the frequency of higBA and relBE genes in *A. baumannii* strains isolated from burn wound infection as well as the association between genetic elements and antibiotic resistance and biofilm formation.

Materials and methods: In this descriptive cross-sectional study, 139 *A. baumannii* isolates were collected from burn wounds of patients hospitalized in a burn center in Isfahan, Iran. The isolates were identified and confirmed through biochemical and molecular tests. Antibiotic susceptibility testing was performed via disk diffusion method and biofilm production was detected by microtiter plate assay. Presence of higBA and relBE TA system genes was investigated by PCR.

Results: Out of 139 *A. baumannii* isolates, 114 were multi-drug resistant (MDR) and able to form biofilm. relBE and higBA genes were observed in 94.73% and 8.77% of the isolates, respectively. Significant correlations were found between the presence of relBE and higBA genes and resistance to imipenem and levofloxacin ($P<0.05$). There were no significant correlations between presence of relBE and higBA genes and biofilm formation ($P>0.05$).

Conclusion: In this study, the number of MDR *A. baumanni* strains was significantly higher compared to previous studies and most species had the ability to form biofilms. According to the association between TA genes and antibiotic resistance, further studies are needed on the TA systems.

Keywords: toxin-antitoxin systems, *Acinetobacter baumannii,* biofilm, antibiotic resistance

J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 30 (194): 23-32 (Persian).

* **Corresponding Author: Hossein Fazeli -** Department of Bacteriology and Virology, Isfahan University of Medical Science, Isfahan, Iran (E-mail: h_fazeli@med.mui.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-16]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی ام شماره 194 اسفند سال 1399 (32-23)

ارزیابی مولکولی سیستم توکسین-آنتی توکسین نوع دو در ایزوله های تولید کننده بیوفیلم *اسینتو باکتر بائومانی* مقاوم به چند دارو جدا شده از نمونه های زخم های سوختگی

الهام حقیقی فر[1]
بهرام نصر اصفهانی[2]
حسین فاضلی[2]

چکیده

سابقه و هدف: زخم سوختگی، میزبان مناسبی برای عفونت‌ها است. *اسینتوباکتر بومانی* یکی از باکتری‌های فرصت طلب در بیماران دارای عفونت زخم سوختگی می‌باشد. سیستم‌های توکسین-آنتی‌توکسین(TA) عناصر ژنتیکی هستند که برای مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تشکیل بیوفیلم در باکتری‌ها ضروری می‌باشند. از جمله آن‌ها higBA و relBE است. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ژن‌های relBE و higBA و ارتباط آن‌ها با مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تشکیل بیوفیلم انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی- مقطعی تعداد 139 ایزوله *اسینتوباکتر بومانی* اززخم سوختگی بیماران بستری در بیمارستان امام موسی کاظم اصفهان جمع‌آوری و با استفاده از تست های بیوشیمیایی و ژنتیکی شناسایی وتایید شد. تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن و سنجش بیوفیلم با میکروتیتر پلیت انجام شد. حضور ژن‌های higBA و relBE با تکنیک PCR بررسی و سپس آنالیز آماری انجام شد.

یافته‌ها: از 139 ایزوله، 114 ایزوله مقاوم چند دارویی (MDR) و تشکیل‌دهنده بیوفیلم بودند. 94/73 درصد دارای ژن relBE و 8/77 درصد، ژن higBA داشتند. بین حضور ژن‌هایrelBE و higBA با مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم و لووفلوکساسین ارتباط معنی‌داری وجود داشت($P<0/05$). حضور relBE وhigBA با تشکیل بیوفیلم ارتباط معنی‌داری نداشتند($P>0/05$).

استنتاج: در این مطالعه ایزوله‌های MDR *اسینتوباکتر بومانی* در مقایسه با مطالعات قبلی افزایش معنی‌داری داشت و بسیاری از گونه‌ها توان بالایی در تشکیل بیوفیلم داشتند. بین حضور ژن‌های TA و مقاومت آنتی‌بیوتیکی نیز ارتباط معنی‌داری وجود داشت که بر این اساس مطالعات بیش‌تر در این زمینه ضروری به‌نظر می‌رسد.

واژه های کلیدی: سیستم‌های توکسین-آنتی توکسین، اسینتوباکتر بومانی، بیوفیلم، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

مقدمه

سوختگی می‌تواند میزبان بسیار مناسبی برای عفونت‌های مربوط به میکروارگانیسم‌های مختلف باشد. از جمله این میکروارگانیسم‌ها باکتری گرم منفی، فرصت‌طلب و غیر تخمیری *اسینتوباکتر بومانی* است. این باکتری عضوی از

مولف مسئول: حسین فاضلی - اصفهان: دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، گروه باکتری شناسی و ویروس شناسی E-mail: h_fazeli@med.mui.ac.ir
1. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران
2. استاد، گروه باکتری شناسی و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران
تاریخ دریافت : 1399/6/4 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1399/6/30 تاریخ تصویب : 1399/9/9

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-16]

خانواده ESKAP (Enterococcus faecium,Staphylococcus aureus Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, and Enterobacter species) محسوب می‌شود که در رابطه با مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در عفونت‌های انسانی بسیار مشکل‌ساز می‌شوند و می‌توانند منجر به شیوع مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی شوند(1،2).

اسینتوباکتر بومانی ظرفیت بالایی در کلونیزاسیون و تشکیل بیوفیلم (مجموعه‌ای از میکروارگانیسم‌ها که در ماتریکس تجمع می‌کنند و باعث ایجاد شرایط محافظت شده‌ای برای میکروارگارگانیسم‌ها می‌شود) روی سطوح زنده و غیرزنده دارد که فاکتور مهمی در افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این باکتری خصوصا در ایزوله‌های موجود در عفونت زخم سوختگی است. سویه‌هایی از *اسینتوباکتر بومانی* که توان تشکیل بیوفیلم دارند نسبت به سویه‌های پلانکتونی، مرگ‌ومیر بیماران دارای عفونت را به میزان قابل توجهی افزایش می‌دهند. ایزوله‌هایی که مقاوم چند دارویی (MDR) هستند، می‌توانند باعث شیوع مقاومت‌های دارویی در سایر ایزوله‌ها شوند. ظهور سویه‌های مقاوم چند دارویی می‌تواند از جمله علت‌های بسیار پر اهمیت شکست درمان در بیماران خصوصا بیماران سوختگی باشد(3-8). *اسینتوباکتر بومانی* دارای عوامل ژنتیکی باعنوان سیستم‌های توکسین-آنتی‌توکسین می‌باشد. سیستم‌های توکسین-آنتی‌توکسین (TA) بر روی عناصر ژنتیکی متحرک، پلاسمیدها و کروموزوم‌ها در باکتری‌ها و آرکی‌ها قرار دارند(9،10). این عناصر ژنتیکی به6 نوع تقسیم می‌شوند. در این سیستم‌ها توکسین (که جزء پایدار سیستم است) همواره از جنس پروتئین می‌باشد و آنتی‌توکسین (که جزء ناپایدار سیستم است) یا از جنس پروتئین مانند سیستم‌های TA نوع ۲،۴ و 5 می‌باشد و یا از جنس RNA مانند سیستم‌های TA نوع 3 و 1 است. تایپ 6 نیز اخیرا کشف شده است. آنتی‌توکسین استراتژی پیشگیری از فعالیت توکسین با اتصال به توکسین به‌طور مستقیم و یا غیر مستقیم با تعامل با سایر فاکتورهای سیگنالینگ و تنظیم ترجمه و رونویسی را برعهده دارد. با توجه به این‌که این عناصر ژنتیکی در ارتباط با استرس هستند آنتی‌توکسین می‌تواند با تاثیر بر توکسین در شرایط استرس بر بسیاری از فعالیت‌های سلولی مثل رونویسی و ترجمه تاثیرگذار باشد(11،12). در اواسط دهه 1980 سیستم TA نوع 2 کشف شد. توکسین و آنتی‌توکسین هر دو از پروتئین ساخته شده‌اند. ازجمله سیستم‌های TA نوع 2 higBA و relBE هستند. مطالعاتی بر روی تاثیر این سیستم‌ها بر مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تشکیل بیوفیلم در باکتری‌های گرم منفی به صورت محدود صورت گرفته است، اما این مطالعه در *اسینتو باکتر بومانی* جدا شده شده از عفونت زخم سوختگی با توجه به تاثیری که می‌تواند به واسطه توانایی بالا در تشکیل بیوفیلم و کسب مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی بر درمان بیماران سوختگی داشته باشد صورت نگرفته است(13-15). این مطالعه با هدف بررسی میزان حضور ژن‌های TA نوع higBA و relBE و ارتباط آن‌ها با مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و تشکیل بیوفیلم در سویه‌های اسینتوباکتر جدا شده از عفونت زخم سوختگی صورت گرفته است.

مواد و روش ها

دراین مطالعه توصیفی- مقطعی تعداد 139 ایزوله *اسینتوباکتر بومانی* غیرتکراری از بیماران زخم سوختگی بستری در بیمارستان امام موسی کاظم شهر اصفهان بر اساس فرمول حجم نمونه وبررسی مطالعات قبلی در فاصله زمانی نیمه دوم فروردین سال 97 تا انتهای خرداد سال 98 جمع‌آوری شد. ایزوله‌ها بعد از کشت بر روی محیط کشت‌های بلاد آگار و EMB و رنگ‌آمیزی گرم با روش‌های بیوشیمیایی مانند TSI(Triple sugar iron agar)، OF (oxidation-fermentation) و اکسیداز مورد بررسی قرارگرفتند و سپس به روش PCR و با استفاده از ژن bla_{oxa-51} تائید شد. میزان حضور ژن‌های higBA و relBE نیز به روش PCR بررسی و سپس بر روی داده‌های حاصل آنالیز آماری انجام گرفت و آماده گزارش شد(2،16).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-16]

تست حساسیت آنتی بیوتیکی:

تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *آسینتوباکتر بومانی* به روش دیسک دیفیوژن برای 10 آنتی‌بیوتیک انجام گرفت که شامل (جنتامایسین(10 µg)، سفتازیدیم (30 µg)، ایمی پنم (10 µg)، توبرامایسین (10 µg)، لووفلوکساسین(5 µg)، سیپروفلوکساسین (10 µg)، تری متوپریم (1/25 µg)-سولفامتوکسازول (32/75µg)، سفپیم(30 µg)، سفتریاکسون (30 µg)، پیپراسیلین(100 µg)-تازوباکتام(10 µg) (شرکت بیدی) بودند(17،18). نتایج براساس استانداردهای CLSI , 2018 تفسیر گردید. سویه‌هایی که حداقل به سه کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاوم بود به عنوان سویه‌های مقاوم چند دارویی (MDR) در نظرگرفته شد(19،20). از *اشرشیاکلی* 25922 به عنوان سویه کنترل استفاده شد(21).

بررسی تشکیل بیوفیلم: ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* به مدت یک شب در تریپتیکاز سوی براث با 0/25 درصد گلوکز در 37 درجه سانتی‌گراد کشت داده شد. با غلظت 1:40 در تریپتیکاز سوی براث با 0/25 درصد گلوکز رقیق شد و سپس از این محیط درهریک از چاهک‌های میکروتیترپلیت 96 خانه 200 میکرولیتر ریخته شد. بعد از 24 ساعت با دمای 37 درجه سانتی‌گراد، چاهک‌ها را خالی و سه بار با فسفات بافر سالین شستشو داده شد و در حالت معکوس قرار داده شد تا خشک شوند. با کریستال ویوله 1 درصد به مدت 15 دقیقه رنگ‌آمیزی و سپس با آب شیر شستشو داده شد. 200 میلی لیتراز اتانول-استون (80:20v/v) به هر چاهک اضافه شد و جذب نوری آن در طول موج 595 (OD $_{595}$) با استفاده از دستگاه الایزا ریدر قرائت و برای هر نمونه 3 بار تکرار شد، سپس مطابق رابطه زیر شدت تشکیل بیوفیلم تعیین گردید. 1>OD $_{595}$ عدم تشکیل بیوفیلم، 1<OD $_{595}$ 2> ضعیف، 2<OD $_{595}$ 3> متوسط، 3<OD $_{595}$ قوی(22). آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار spss ورژن 24 انجام گرفت(4).

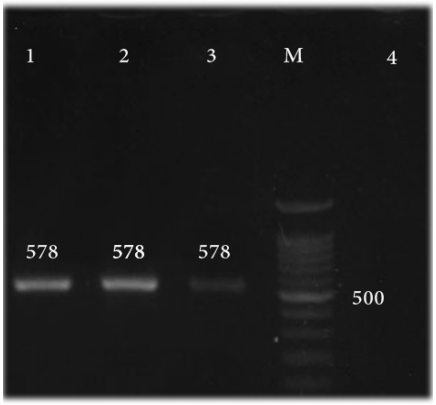
استخراج DNA و بررسی کمی و کیفی DNA ژنومی استخراج شده

برای بررسی از دستگاه نانودراپ استفاده شد .در صورتی که نسبت A260/A280 بین 1/8 تا 2 باشد DNA مطلوب و مورد قبول است، مقادیر کم‌تر نشانگر آلودگی با پروتئین و مقادیر بیش‌تر نشانگر آلودگی با RNA است. در این مطالعه مقادیر بین 1/8-2/1 بود(23).

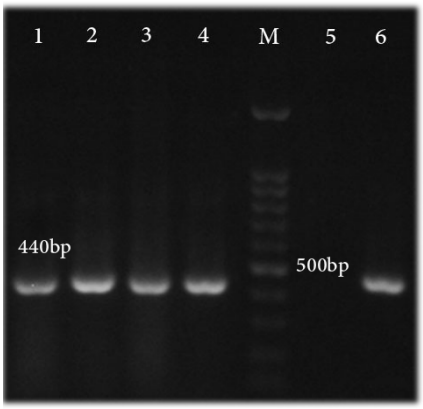
واکنش زنجیره ای پلیمراز(PCR) :

استخراج DNA به روش فنل-کلرفرم انجام گرفت. ایزوله های *اسینتوباکتر بومانی* به روشPCR و با استفاده از ژن bla $_{OXA-51}$ با طول باند 353 bp و توالی forward: 5-TAATGCTTTGATCGG CCTTG-3 و reverse: 5-TGGATTGCACTTCATCTTGG-3 مورد تائید قرار گرفت. فراوانی ژن higBA با استفاده از پرایمر با توالی forward: 5-ATGAAGTGAACGGTCAACAA و reverse:5-ACAGACCTCGGAAAGTGGTCG-3 و طول باند 440 bp و فراوانی ژن relBE با استفاده از پرایمر forward: 5-TAATGCTTTGATCGGCCTTG-3 و reverse: 5-TGGATTGCACTTCATCTTGG-3 با طول باند 578 bp در سویه‌های مقاوم چند دارویی با توان تشکیل بیوفیلم نیز به روش PCR مورد بررسی قرار گرفت. حجم کل 25 µl بودکه میزان Master Mix (شرکت دانمارک) 12/5µl، DNA1µl و از هر پرایمر 1 µl در نظر گرفته شد. برای ژن relBE دمای اتصال 58 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 ثانیه در نظر گرفته شد. برای ژن higBA دمای اتصال56 درجه سانتی‌گراد به مدت 1/5 دقیقه در نظر گرفته شد. برای سویه کنترل مثبت از سویه استاندارد *سودوموناس آئروژینوزا* 27853 استفاده شد. از (دماهای ذکر شده برای DNA بهینه‌سازی شده است). در پایان محصول با استفاده از ژل الکتروفورز مشاهده گردید. تصویر شماره 1و 2، نتایج PCR برای ژن‌های higBA وrelBE را نشان می‌دهد(27-24).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-16]



تصویر شماره 1: الکتروفورز محصول PCR ژن relBE اسینتوباکتر بومانی در ژل آگارز
M= Ladder 100bp، باند1و2 نمونه های بالینی اسینتوباکتر بومانی، باند 3 کنترل مثبت، باند 4 کنترل منفی



تصویر شماره 2: الکتروفورز محصول PCR ژن higBA اسینتوباکتربومانی در ژل آگارز
{}باند۱،۲،۳،۴ نمونه های بالینی اسینتوباکتر بومانی،
M =Ladder 100bp، باند 5 کنترل منفی، باند 6 کنترل مثبت

روش تجزیه و تحلیل داده ها:

داده‌ها پس از جمع‌آوری در رایانه وارد شده جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها و آنالیز آماری از نرم‌افزار SPSS ورژن 24 و آزمون‌های دقیق فیشر (Fisher's Exact Test) و کای اسکوئر (Chi-Square test استفاده شد و ارتباط بین توان تشکیل بیوفیلم و مقاومت آنتی‌بیوتیکی با حضور ژن‌های سیستم توکسین-آنتی‌توکسین نوع higBA و relBE مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها

در مجموع 139 ایزوله از نمونه‌های زخم سوختگی بیماران بستری در بیمارستان امام موسی کاظم شهر اصفهان جمع‌آوری شد. تمامی ایزوله‌ها از لحاظ تست‌های تشخیصی بیوشیمیایی دارای الگوی یکسانی بودند. همه آن‌ها از نظر تست اکسیداز منفی، تست TSI به‌صورت K/K و تست OF به صورت اکسیداسیون(O) مثبت و تخمیر(F) منفی بودند. از 139 ایزوله 132 نمونه همزمان به سه کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاوم و 114 ایزوله دارای توان تشکیل بیوفیلم بودند، 4 ایزوله بیوفیلم قوی، 64 ایزوله بیوفیلم متوسط و46 ایزوله دارای بیوفیلم ضعیف بود و تنها (18 درصد) 25 ایزوله فاقد توانایی تشکیل بیوفیلم بودند. 114 ایزوله نیز همزمان MDR و دارای توان تشکیل بیوفیلم بودند که وارد مطالعه شدند و از نظر حضور ژن‌های سیستم TA نوع higBA و relBE و ارتباط بین حضور آن‌ها و مقاومت آنتی‌بیوتیکی و توان تشکیل بیوفیلم مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج حاصل از تست آنتی‌بیوگرام نشان داد که درمیان ایزوله‌های دارای ژن relBE بیش‌ترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به آنتی‌بیوتیک سفتازیدیم (100 درصد) و کم‌ترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به آنتی‌بیوتیک توبرامایسین (67/88 درصد) بود. در میان سویه‌های فاقد ژن relBE تمام ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم، جنتامایسین، پیپراسیلین-تازوباکتام، تریمتوپریم- سولفامتوکسازول و سیپروفلوکساسین مقاوم بودند وکم‌ترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به آنتی‌بیوتیک سفپیم (60 درصد) بود. همچنین در ایزوله‌های دارای ژن higBA، تمام ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم، جنتامایسین، کوتریموکسازول و سیپروفلوکساسین مقاوم بودند و کم‌ترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به آنتی‌بیوتیک سفپیم (40 درصد) بوده است.

نتایج PCR بر روی 114 ایزوله مقاوم چند دارویی و تشکیل‌دهنده بیوفیلم *اسینتوباکتر بومانی* نشان داد که

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-16]

فراوانی ژن relBE در میان نمونه‌های مورد مطالعه، 109(95/61 درصد) ایزوله و فراوانی ژن higBA 10(8/77 درصد) بوده است (تصویر شماره 1و2). براساس نتایج حاصل از روش میکروتیتر پلیت، در سویه‌های دارای ژن relBE 43 درصد بیوفیلم ضعیف، 53 درصد بیوفیلم متوسط و 3 درصد دارای بیوفیلم قوی بودند. همچنین درسویه‌های دارای ژن higBA، 4 ایزوله بیوفیلم ضعیف، 6 ایزوله بیوفیلم متوسط داشتند و هیچ ایزوله‌ای دارای بیوفیلم قوی نبودند. نتایج حاصل از آنالیزهای آماری با توجه به فراوانی ژن‌های relBE و higBA ارتباط معنی‌داری بین فراوانی ژن‌های مربوطه با مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم و لووفلوکساسین نشان داد (جدول شماره 1 و 2). با توجه به فراوانی ژن‌های مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری بین فراوانی ژن‌های relBE و higBA با تشکیل بیوفیلم مشاهده نشد.

جدول شماره 1: ارتباط بین حضور ژن relBE و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی

آنتی بیوتیک	مقاوم و دارای ژن relBE تعداد (درصد)	حساسیت حد واسط و دارای ژن relBE تعداد (درصد)	حساس و دارای ژن relBE تعداد (درصد)	سطح معنی داری
ایمی پنم	99(90/82)	2(1/83)	8(7/33)	0/000
سفتریاکسون	102(93/57)	7(6/42)	0	0/501
سفتازیدیم	109(100)	0	0	0/817
جنتامایسین	79(72/47)	4(3/66)	26(23/85)	0/485
سفیم	79(72/47)	23(21/10)	7(6/42)	0/721
توبرامایسین	74(67/88)	2(1/83)	33(30/27)	0/761
پیپراسیلین-تازوباکتام	101(92/66)	6(5/25)	2(1/83)	0/328
تری متوپریم-سولفامتوکسازول	105(96/33)	3(2/75)	1(0/91)	0/460
سیپروفلوکساسین	107(98/16)	0	2(1/83)	0/389
لووفلوکساسین	81(74/31)	26(23/15)	2(1/83)	0/042

جدول شماره 1: ارتباط بین حضور ژن higBA و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی

آنتی بیوتیک	مقاوم و دارای ژن higBA تعداد (درصد)	حساسیت حد واسط و دارای ژن higBA تعداد (درصد)	حساس و دارای ژن higBA تعداد (درصد)	سطح معنی داری
ایمی پنم	8(80)	2(20)	0	0/004
سفتریاکسون	9(10)	1(10)	0	0/331
سفتازیدیم	10(10)	0	0	0/769
جنتامایسین	10(10)	0	0	0/522
سفیم	4(40)	5(50)	1(10)	0/985
توبرامایسین	5(50)	1(10)	4(40)	0/331
پیپراسیلین-تازوباکتام	9(90)	1(10)	0	0/885
تری متوپریم-سولفامتوکسازول	10(100)	0	0	0/307
سیپروفلوکساسین	10(100)	0	0	0/616
لووفلوکساسین	5(50)	3(30)	2(20)	0/045

بحث

اسینتوباکتر بومانی یک پاتوژن فرصت‌طلب با انتشار وسیع در بخش سوختگی است(7). شیوع سویه‌های MDR در میان ایزوله‌های *اسینتو باکتر* خصوصا در بیماران سوختگی به‌سرعت درحال افزایش است(25،28). ظهور این سویه‌های باکتریایی به عنوان اصلی‌ترین علت شکست درمان در نظر گرفته شده است(5). از جمله عوامل موثر در افزایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی تشکیل بیوفیلم است. مطالعات صورت گرفته نشان داده است که عوامل مختلفی می‌توانند برافزایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و تشکیل بیوفیلم تاثیرگذار باشند، از جمله این عوامل سیستم‌های توکسین-آنتی‌توکسین هستند(29). در مطالعه حاضر فراوانی ژن‌های سیستم توکسین- آنتی‌توکسین relBE و higBA به ترتیب 95/61 و 8/77 درصد بود. درمطالعه انجام شده توسط غفوریان و همکاران در سال 2014 بر روی ژن‌*های* higBA و relBE در *اسینتوباکتر بومانی* فراوانی ژن‌های مربوطه به ترتیب 4/7 و 88/2 درصد بود. در تمام ایزوله‌هایی که ژن‌های مربوطه حضور داشته‌اند بیان ژن صورت گرفته است، این موضوع نشان می‌دهد در صورت حضور ژن‌های سیستم TA در باکتری نقش آن‌ها کاملا کاربردی است(24).

در مطالعه انجام شده توسط Maghraby و همکاران در کشور مصر در سال 2018 فراوانی ژن‌های relBE و higBA به‌ترتیب 81/5 و 29/6 درصد گزارش شد که از نظر فراوانی با مطالعه حاضر تفاوت‌هایی وجود دارد که می‌تواند به دلیل جدا شدن سویه‌ها از بخش‌های مختلف بیمارستان و یا مربوط به پلاسمیدی بودن ژن‌ها و وجود یا عدم وجود شرایط مطلوب برای انتقال آن‌ها باشد(30). در شرایط مطلوب امکان انتقال پلاسمیدها و به طبع انتقال ژن‌های موجود در ژنوم آن‌ها راحت‌تر بوده و در نتیجه منجر به افزایش فراوانی ژن‌های مربوطه در میان ایزوله‌های مورد مطالعه می‌شود. در مطالعه حاضر بین حضور ژن‌های توکسین-آنتی‌توکسین و بیوفیلم ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد اما در مطالعه انجام شده توسط

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-16]

wood و همکاران در سال 2016 در پنسیلوانیا نشان داده شد که با فعال شدن توکسین higB میزان بیوفیلم در *سودوموناس آئروژینوزا* کاهش می‌یابد(14). علت عدم معنی‌دار بودن ارتباط بین حضور ژن‌ها و تشکیل بیوفیلم می‌تواند مربوط به نوع باکتری و توان متفاوت آن در مقایسه با سایر باکتری‌ها در تشکیل بیوفیلم، محل متفاوت جداسازی نمونه‌ها و یا به دلیل متفاوت بودن ژن انتخابی باشد همچنین در مطالعات قبلی تاثیر حضور ژن‌های سیستم توکسین-آنتی‌توکسین در تشکیل بیوفیلم در *سودوموناس آئروژینوزا* بررسی شده بود که به‌دلیل تفاوت‌های ساختاری و عوامل موثر بر تشکیل بیوفیلم که با *اسینتوباکتر بومانی* دارد می‌تواند بر نتایج حاصل از مطالعه بر روی دو باکتری اثرگذار باشد. در مطالعه حاضر بین حضورسیستم توکسین-آنتی توکسین relBE و مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های لووفلوکساسین (P=0/042) و ایمی‌پنم (P=0/000) ارتباط معنی‌داری مشاهده شد. همچنین بین حضور سیستم توکسین-آنتی‌توکسین higBA و مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های لووفلوکساسین (P=0/045) و ایمی‌پنم (P = 0/004) ارتباط معنی‌داری مشاهده شد. در مطالعه انجام شده در سال 2014 توسط همتی و همکاران بر روی ژن mazEF در *سودوموناس آئروژینوا* بین ژن‌های mazEF و مقاومت به جنتامایسین (P=0/027)، مروپنم (P=0/022) و پیپراسیلین (P=0/011) ارتباط معنی‌داری وجود داشت(15). در مطالعه انجام شده در سال 2018 توسط Coskun و همکاران در کشور ترکیه بر روی ژن‌های higBA، relBE و mazEF در *سودوموناس آئروژینوا* بین بیان ژن relBE و حساسیت به آزترئونام ارتباط معنی‌داری وجود داشت (P<0/05)، همچنین بین سطح بیان mazEF و مقاومت به جنتامایسین، سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین نیز ارتباط معنی‌داری وجود داشت. اما بین ژن higBA و مقاومت آنتی‌بیوتیکی ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد(31).

با توجه به این‌که تاثیر این ژن‌ها مربوط به کاهش یا افزایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی است و به‌طور مستقیم باعث ایجاد مقاومت نمی‌شوند. بنابراین دلیل معنی‌داری برای دو آنتی‌بیوتیک می‌تواند مربوط به حضور ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی مختلف در مجاورت این ژن‌ها بر روی پلاسمید و یا بیان متفاوت این ژن‌ها و ژن‌های مجاور آن‌ها در سویه‌های مختلف باشد. با توجه به نقش بیوفیلم در مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و همچنین اهمیتی که مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در درمان بیماران دارد و همچنین توان سیستم‌های توکسین آنتی‌توکسین در تاثیر بر آن‌ها و با توجه به این‌که مطالعات اندکی بر روی این سیستم‌ها صورت گرفته است نیاز به مطالعات بیش‌تر در این زمینه لازم به نظر می‌رسد.

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان‌دهنده شیوع بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بیماران سوختگی در شهر اصفهان و همچنین روند رو به رشد در شیوع سویه‌های MDR و همچنین سویه‌های با توان بالا در تشکیل بیوفیلم است. شناسایی این سویه‌ها و کنترل به موقع آن‌ها از پیامدهای جانی و مالی بسیاری جلوگیری خواهدکرد. با توجه به ارتباط معنی‌داری که بین ژن higBA و relBE و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف وجود داشت، می‌توان با شناسایی سویه‌های دارای این ژن‌ها در بیماران و هدف قرار دادن این ژن‌ها و با ایجاد تداخل در عملکرد آن‌ها از افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تشکیل بیوفیلم جلوگیری کرد، که نتیجه تمام این موارد ذکر شده کمک به عدم افزایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و درمان مناسب بیماران و کاهش مرگ و میر ناشی از افزایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی خواهد بود.

سپاسگزاری

این مقاله براساس نتایج پایان‌نامه دانشجویی دوره کارشناسی ارشد با شماره 397050 (با کد اخلاق: IR.MUI.RESEARCH.REC.1397.114) انجام پذیرفته است. نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی و تشکر خود را از گروه باکتری شناسی و ویروس‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان اعلام می‌دارد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-16]

References

1. Flynn PB, Graham WG, Gilmore BF. Acinetobacter baumannii biofilm biomass mediates tolerance to cold plasma. Lett Appl Microbiol 2019; 68(4): 344-349.
2. Babaei AH, Pouladfar G, Pourabbas B, Jafarpour Z, Ektesabi S, Abbasi P. Seven-Year Trend of Antimicrobial Resistance of Acinetobacter and Pseudomonas spp. Causing Bloodstream Infections: A Retrospective Study from Shiraz, Southern Iran. Jundishapur J Microbiol 2019; 12(4): e85819.
3. Lin M-F, Lin Y-Y, Lan C-Y. A method to assess influence of different medical tubing on biofilm formation by Acinetobacter baumannii. J Microbiol Methods 2019; 160: 84-86.
4. Cevahir N, Demir M, Kaleli I, Gurbuz M, Tikvesli S. Evaluation of biofilm production, gelatinase activity, and mannose-resistant hemagglutination in Acinetobacter baumannii strains. J Microbiol Immunol Infect 2008; 41(6): 513-518.
5. Lacmata ST, Kuete V, Dzoyem JP, Tankeo SB, Teke GN, Kuiate JR. Antibacterial activities of selected Cameroonian plants and their synergistic effects with antibiotics against bacteria expressing MDR phenotypes. Evid Based Complement Alternat Med 2012; 2012: 623723.
6. Feng DY, Zhou YQ, Zou XL, Zhou M, Wu WB, Chen XX, et al. Factors influencing mortality in hospital-acquired pneumonia caused by Gram-negative bacteria in China. J Infect Public Health 2019; 12(5): 630-633.
7. Zubair M, Malik A, Ahmad J, Rizvi M, Farooqui KJ, Rizvi MW. A study of biofilm production by gram-negative organisms isolated from diabetic foot ulcer patients. Biol Med 2011; 3(2): 147-157.
8. Gupta M, Naik AK, Singh SK. Bacteriological profile and antimicrobial resistance patterns of burn wound infections in a tertiary care hospital. Heliyon 2019; 5(12): e02956.
9. Kamruzzaman M, Iredell J. A ParDE-family toxin antitoxin system in major resistance plasmids of Enterobacteriaceae confers antibiotic and heat tolerance. Scientific Reports 2019; 9(1): 9872.
10. Goormaghtigh F, Fraikin N, Putrinš M, Hallaert T, Hauryliuk V, Garcia-Pino A, et al. Reassessing the role of type II toxin-antitoxin systems in formation of Escherichia coli type II persister cells. MBio 2018; 9(3): e00640-18.
11. Fernández-García L, Blasco L, Lopez M, Bou G, García-Contreras R, Wood T, et al. Toxin-antitoxin systems in clinical pathogens. Toxins 2016; 8(7): 227.
12. Harms A, Brodersen DE, Mitarai N, Gerdes K. Toxins, targets, and triggers: an overview of toxin-antitoxin biology. Mol Cell 2018; 70(5): 768-784.
13. Karimi S, Ghafourian S, Kalani MT, Jalilian FA, Hemati S, Sadeghifard N. Association between toxin-antitoxin systems and biofilm formation. Jundishapur J Microbiol 2015; 8(1): e59746.
14. Wood TL, Wood TK. The HigB/HigA toxin/antitoxin system of Pseudomonas aeruginosa influences the virulence factors pyochelin, pyocyanin, and biofilm formation. Microbiologyopen 2016; 5(3): 499-511.
15. Hemati S, Azizi-Jalilian F, Pakzad I, Taherikalani M, Maleki A, Karimi S, et al. The correlation between the presence of quorum sensing, toxin-antitoxin system genes and MIC values with ability of biofilm

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-16]

formation in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. Iran J Microbiol 2014; 6(3): 133-139.

16. Fazeli H, Taraghian A, Poursina F, Kamali R. Molecular identification of Esbl Genes Bla-Shv, Bla-Veb, and Bla-Per, in Acinetobacter baumannii isolated from patients admitted in a university hospital in Isfahan. Iranian Journal of Public Health 2014; 43(2): 39.
17. Fazeli H, Kamali Dolatabadi R, Taraghian A, Nasr Isfahani B, Moghim S. Genetic Characterization of blaSHV/VEB/PER Genes in ESBL-producing MDR Klebsiella Pneumonia Strains Isolated from Patients in Isfahan, Iran. Eur Online J Nat 2015; 4(1): 191-202.
18. Savari M, Rostami S, Ekrami A, Bahador A. Characterization of toxin-antitoxin (TA) systems in Pseudomonas aeruginosa clinical isolates in Iran. Jundishapur J Microbiol 2016; 9(1).
19. Tahanasab Z, Mobasherizadeh S, Moghadampour M, Rezaei A, Maleki N, Faghri J. High Prevalence of Multiple Drug Resistance among ESBLs-Producing Klebsiella pneumoniae Isolated from Hospitalized Patients in Isfahan, Iran. J Med Bacteriol 2016; 5(5-6): 29-38.
20. CLSI C. M100-S25: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 25th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
21. Gholami M, Hashemi A, Hakemi-Vala M, Goudarzi H, Hallajzadeh M. Efflux pump inhibitor phenylalanine-arginine B-naphthylamide effect on the minimum inhibitory concentration of imipenem in Acinetobacter baumannii strains isolated from hospitalized patients in Shahid Motahari burn hospital, Tehran, Iran. Jundishapur J Microbiol 2015; 8(10): e59912.
22. Cevahir N, Demir M, Kaleli I, Gurbuz M, Tikvesli S. Evaluation of biofilm production, gelatinase activity, and mannose-resistant hemagglutination in Acinetobacter baumannii strains. J Microbiol Immunol Infect 2008; 41(6): 513-518.
23. Tiwari S, Tomar R, Tripathi M, Ahuja A. Modified Protocol for Plant Genomic DNA Isolation. Indian Res J Genet & Biotech 2017; 9(4): 478-485.
24. Ghafourian S, Good L, Sekawi Z, Hamat RA, Soheili S, Sadeghifard N, et al. The mazEF toxin-antitoxin system as a novel antibacterial target in Acinetobacter baumannii. Mem Inst Oswaldo Cruz 2014; 109(4): 502-505.
25. Tsukayama D, Van Loon H, Cartwright C, Chmielewski B, Fluit A, Van der Werken C, et al. The evolution of Pseudomonas aeruginosa during antibiotic rotation in a medical intensive care unit: the RADAR-trial. Int J Antimicrob Agents 2004; 24(4): 339-345.
26. Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S, et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in Acinetobacter spp. Int J Antimicrob Agents 2006; 27(4): 351-353.
27. Safari M, Nejad ASM, Bahador A, Jafari R, Alikhani MY. Prevalence of ESBL and MBL encoding genes in Acinetobacter baumannii strains isolated from patients of intensive care units (ICU). Saudi J Biol Sci 2015; 22(4): 424-429.
28. Mirsalehian A, Feyzabadi M, Akbari NF, Jabal AF, Goli H. Prevalence of extended spectrum beta lactamases among strains of Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients. Tehran Univ Med J 2008; 66(5): 333-337.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-16]

29. Hosseini N, Pourhajibagher M, Chiniforush N, Hosseinkhan N, Rezaie P, Bahador A. Modulation of Toxin-Antitoxin System Rnl AB Type II in Phage-Resistant Gammaproteobacteria Surviving Photodynamic Treatment. J Lasers Med Sci 2019; 10(1): 21-28.
30. El Maghraby HM, Mohammed HA. Detection of Toxin-Antitoxin System in Acinetobacter baumannii Isolated from Patients at Zagazig University Hospitals. Egypt J Med Microbiol 2018; 27(4): 81-86.
31. Coskun USS, Kilinc C, Guckan R, Dagcioglu Y, Demir O, Sandalli C. Effect of mazEF, higBA and relBE toxin-antitoxin systems on antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus isolates. Malawi Med J 2018; 30(2): 67.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-16]