Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Chitosan Nanoparticles: As an Anti-Biofilm Agent against Acinetobacter Strains baumannii Representing the Multidrug Resistance Phenotype

Ghazal Ghajari [1*], Negin Rajaei [2], Arijit Chakraborty [3]

[1] Dept of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
[2] Young Researchers and Elite Club, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
[3] National Sports University, Ministry of Youth Affairs and Sports, Government of India, Imphal

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: 22 August 2022
Revised: 12 November 2022
Accepted: 26 December 2022
Published Online:22 May 2023

**** Correspondence to:***
Dept of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.
Email:
ghajari.ghazal74@gmail.com

A B S T R A C T

Introduction: *Acinetobacter baumannii (A. baumannii)* is a non-fermentative gram-negative coccobacillus that shows high resistance to antimicrobial compounds. Biofilm formation is one of the essential features of many Acinetobacter species that leads to high antibiotic resistance. This study aimed to evaluate the ability of biofilm formation and determine the antibiofilm activity of chitosan nanoparticles in clinical isolates of *A. baumannii*.

Material & Methods: This descriptive cross-sectional study was conducted in 2021 and investigated 100 isolates collected from different hospitals. Microscopic, biochemical, and molecular tests were performed to identify the bacteria. The antibiotic resistance pattern of the isolates was evaluated by the disk diffusion method against 10 antibiotics, and the ability to produce biofilm was evaluated by microtiter plate method. Subsequently, 16SrRNA and CsuA genes were identified by multiplex-PCR molecular methods. After the preparation of chitosan nanoparticles and determination of MIC concentration, antibiofilm activity was measured by plate microtiter, and Real-Time PCR was used to examine the expression of the CsuA gene involved in biofilm.

Findings: In this study, out of 100 isolates examined, 29 isolates were confirmed as *A. baumannii*. Among 29 isolates, ceftazidime had the highest drug resistance (75.86%). The CsuA gene was detected in 51.72% of the isolates. Moreover, using a microtiter plate and Real-Time PCR, the level of antibiotic activity of chitosan nanoparticles was determined at a significant level of $P<0.01$.

Discussion & Conclusion: Considering the anti-biofilm effects found in the present study, it seems that chitosan nanoparticles can be used as a pharmaceutical candidate in the pharmaceutical industry.

Keywords: Acinetobacter baumannii, Biofilm, Chitosan nanoparticles

➢ **How to cite this paper**
Ghajari GH, Rajaei N, Chakraborty A. Chitosan Nanoparticles: As an Anti-biofilm Agent against Acinetobacter Strains baumannii Represents the Multidrug Resistance Phenotype. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2023;31(2): 1-14.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

© The Author(s) Publisher: Ilam University of Medical Sciences

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

JIUMS

P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸

E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

نانوذرات کیتوسان: به عنوان عامل آنتی بیوفیلم علیه سویه های اسینتوباکتر بومانی نشان دهنده فنوتیپ مقاومت چند دارویی MDR

غزل قجری[1*]، نگین رجایی[2]، آرجیت چاکرابورتی[3]

[1] گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

[2] باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

[3] دانشگاه ملی ورزش، وزارت امور جوانان و ورزش، دولت هند، ایمفال

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۳۱

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۸/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۰۵

تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۰۳/۰۱

نویسنده مسئول:

غزل قجری

گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

Email:
ghajari.ghazal74@gmail.com

چکیده

مقدمه: *اسینتوباکتر بومانی*، کوکوباسیل گرم منفی غیرتخمیری است که مقاومت بالایی به ترکیبات ضد میکروبی نشان می دهد. تشکیل بیوفیلم یکی از ویژگی های مهم بسیاری از گونه‌های اسینتوباکتر است که منجر به مقاومت بالا به آنتی بیوتیک ها می‌شود. مطالعه حاضر با هدف بررسی توانایی تشکیل بیوفیلم و تعیین فعالیت آنتی بیوفیلم نانوذرات کیتوسان در جدایه‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی انجام شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه توصیفی- مقطعی در سال ۱۳۹۹،تعداد ۱۰۰ ایزوله از بیمارستان‌های مختلف جمع آوری و آزمایشات میکروسکوپی، بیوشیمیایی و مولکولی به منظور شناسایی باکتری انجام شد. بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها با روش انتشار دیسک در مقابل۱۰ آنتی‌بیوتیک و همچنین توانایی تولید بیوفیلم به روش میکروتیترپلیت بررسی شد. سپس با روش‌های مولکولی Multiplex-PCR، ژن‌های SrRNA۱۶ و CsuA شناسایی شدند. پس از تهیه نانوذرات کیتوسان و تعیین غلظت MIC، فعالیت آنتی بیوفیلم توسط روش میکروتیتر پلیت سنجیده شده و میزان بیان ژن CsuA دخیل در بیوفیلم با روش Real Time PCR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در این مطالعه از بین ۱۰۰ ایزوله بررسی شده ۲۹ ایزوله به عنوان اسینتوباکتر بومانی تأیید شدند. از بین ۲۹ ایزوله بیشترین مقاومت دارویی متعلق به سفتازیدیم (۷۵/۸۶٪) بود. ژنCsuA در ۵۱/۷۲٪ ایزوله‌ها ردیابی شد. همچنین با استفاده از روش میکروتیترپلیت و Real Time PCR میزان فعالیت آنتی بیوفیلمی نانوذرات کیتوسان با سطح معنی‌داری $P<0.01$ مشخص شد.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به اثرات ضدبیوفیلمی مطالعه حاضر، به نظر می‌رسد نانوذره کیتوسان می‌تواند به عنوان یک کاندید دارویی در صنایع داروسازی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اسینتوباکتر بومانی، بیوفیلم، نانوذرات کیتوسان

استناد: قجری، غزل؛ رجایی، نگین؛ چاکرابورتی، آرجیت. نانوذرات کیتوسان: به عنوان عامل آنتی بیوفیلم علیه سویه های اسینتوباکتر بومانی نشان دهنده فنوتیپ مقاومت چند دارویی MDR. مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام، خرداد ۱۴۰۲؛۳۱(۲): ۱۴-۱.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

مقدمه

عفونت‌های بیمارستانی یک مشکل جدی در مراکز بهداشتی و درمانی می‌باشند و هر ساله هزینه‌های زیادی را به بیماران و مراکز بهداشتی و درمانی تحمیل می‌کنند (۱). امروزه کنترل عفونت‌های بیمارستانی به دلیل رشد روزافزون جمعیت و در نتیجه تراکم و شلوغی بیشتر مراکز تشخیصی و درمانی، افزایش بیماران با نقص سیستم ایمنی و بیماری‌های مزمن و ظهور میکروارگانیسم‌های نوپدید و مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها از اولویت‌های حیاتی سیستم‌های بهداشتی و درمانی هر کشور محسوب می شود (۲). استوباکتر بومانی پاتوژن فرصت‌طلبی است که همواره به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای عفونت‌های بیمارستانی شناسایی شده است (۳). یکی از مشکلات عمده در درمان و پیشگیری ازعفونت‌های ایجاد شده توسط استوباکتر بومانی، مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی ایجاد شده در آن می‌باشد (۳). استوباکتر بومانی مقاومت چند دارویی ایجاد می‌کند که این پدیده توسط انواع مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی مختلف ثابت شده است؛ از جمله فعال‌سازی پمپ‌های افلاکس، سنتز آنزیم‌هایی مثل فسفریل ترانسفرازها و استیل ترانسفرازها که باعث مقاومت به آمینو گلیکوزیدها می‌شود. علاوه بر موارد ذکر شده مکانیسم دیگری در مقاومت آنتی‌بیوتیکی استوباکتر بومانی تحت عنوان بیوفیلم وجود دارد (۴). بیوفیلم، در حال حاضر به عنوان یکی از ترکیبات مهم مقاومت باکتری‌ها به اکثر کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی شناخته شده است. بیوفیلم‌ها تجمع پیچیده‌ای از کلنی‌های میکروبی هستند و منجر به تشکیل یک ماتریکس سلولی که از یک لایه محافظ پلی ساکاریدی تشکیل شده است، می‌شوند (۵). سلول چسبنده در بیوفیلم درون یک ماتریکس خارج سلولی قرار دارد که حاوی مواد پلیمری خارج سلولی (EPS) است. سلول‌های میکروبی اجزای اصلی بیوفیلم‌ها هستند که EPS تولید می‌کنند که شامل ۵۰ تا ۹۰ درصد کل کربن آلی موجود در بیوفیلم‌ها است (۶). لذا تشکیل بیوفیلم عامل اصلی دخیل در بقاء و مقاومت باکتریایی است (۷). از سویی، نشان داده شده است که این پاتوژن در محیط بیمارستان اشیاء مختلفی از جمله تجهیزات پزشکی و ابزار، مبلمان بیمارستان و حتی روپوش و دستکش ارائه‌دهندگان خدمات بهداشتی را آلوده می‌کند (۶). تشکیل بیوفیلم A. baumannii در چنین سطوح غیر زنده توسط Csu pili انجام می‌شود. این مجموعه از ۴ زیرواحد تشکیل شده است که ساختار کریستالی CsuA-CsuC / B به عنوان چاپرون پیش‌ساز این مجموعه می‌باشد و از اهمیت بالاییبرخوردار است. لذا ایجاد اختلال در یکی از این اجزاء باعث اختلال در تشکیل کمپلکس CsuA-CsuC/B شده، که متعاقباً از تشکیل بیوفیلم جلوگیری می‌کند(۶، ۷).

CsuA یک پروتئین در سطح خارجی A. baumannii می‌باشد که شامل هسته‌ی مرکزی در ارتباط با انواع پروتئین‌های دخیل در مقاومت دارویی است. این پروتئین به باکتری قابلیت تشکیل بیوفیلم و اتصال به سطوح را می‌دهد و به این ترتیب نقش مهمی در عفونت‌زایی پاتوژن‌ها دارد (۸ و ۲۷). امروزه محققان در حال جستجوی راه حل‌های جدید برای درمان باکتری‌های مقاوم به دارو هستند. یکی از زمینه‌های کاربردی؛ نانوبیوتکنولوژی و استفاده از نانوذرات در درمان عفونت‌های میکروبی می‌باشد (۹). استفاده از ترکیبات پلی‌ساکاریدی زیست تخریب‌پذیر برای تشکیل نانو ذرات دارویی در حال حاضر بسیار مورد توجه قرار گرفته است. یکی از این ترکیبات کیتوسان است. کیتوسان کوپلیمری از گلوکزآمین و N–استیل – گلوکزآمین با یک پرایمر آمینو و دو گروه هیدروکسیل آزاد برای هر واحد ساختاری C6 می‌باشد. این گروه‌های آمینوی آزاد به ایجاد بار مثبت در کیتوسان کمک می‌کنند که امکان واکنش با سطوح با بار منفی مثل باکتری‌ها و پلیمرهای آنیونی را فراهم می‌کند (۱۰). با وجود اینکه تعدادی از تحقیقات انجام شده عدم فعالیت آنتی‌باکتریال کیتوسان را گزارش کرده‌اند اما تحقیقات متعددی توانایی کیتوسان برای حفظ حیات میوه‌ها و سبزیجات و جلوگیری از فساد میکروبی را ثابت کرده‌اند. از این رو فعالیت ضدمیکروبی کیتوسان در تنوع گسترده–ی قارچی و باکتریایی مورد توجه قرار گرفته است. برای

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

دستیابی به خاصیت آنتی‌باکتریال کیتوسان، احتمالاً کیتوسان با غلظت بالاتر از ۵۰ درصد ارجحیت داشته باشد (۱۱). مشاهده شده است که فعالیت ضد میکروبی کیتوسان توسط استیک، فرمیک یا لاکتیک اسید در محیط، تقویت شده است. حلالیت درآب کیتوسان‌ها و فعالیت ضدمیکروبی آنها بهم وابسته است (۱۲). کیتوسان‌های قابل حل در آب هیچ فعالیت ضد میکروبی نشان نمی‌دهند. برخلاف این، کیتوسان های غیر قابل حل و محلول در محیط اسیدی فعالیت های میکروب‌کشی نشان می‌دهند. واکنش بین مولکول‌های کیتوسان با بار مثبت و غشاهای سلولی میکروبی بار منفی می‌تواند منجر به تخریب آنها و کمبود ترکیبات داخل سلولی ضروری شود (۱۳). از آنجا که در زمان تشکیل بیوفیلم هزینه های درمان بالا رفته و گران‌بودن درمان های فعلی و همچنین عدم کارایی کافی درمان‌های موجود، استفاده از نانوذرات کیتوسان برای درمان می‌تواند راهکار مناسبی تلقی شود (۱۴). با توجه به شیوع بالای عفونت‌های بیمارستانی ناشی از اسینتوباکتر بومانی و همچنین گسترش عوامل افزایش‌دهنده مقاومت مانند بیوفیلم و نقش آن در ایجاد فنوتیپ مقاومت چند دارویی (MDR)، مطالعه حاضر با هدف بررسی فراوانی حضور ژن CsuA در ایزوله های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی انجام گرفت

مواد و روش ها

جمع‌آوری و شناسایی ایزوله‌های باکتری: در این مطالعه توصیفی -مقطعی از اردیبهشت تا آبان ماه ۱۳۹۹ ، ۱۰۰ ایزوله از خون، ادرار، تراشه، خلط، چرک و زخم بیماران بستری در بیمارستان‌های مختلف با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد و میزان خطای ۵ درصد جمع‌آوری گردید. در آزمایشگاه هر ایزوله روی محیط های مک کانکی آگار و بلاد آگار کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. سپس، با آزمایش مستقیم (رنگ‌آمیزی گرم) وجود کوکوباسیل های گرم منفی اسینتوباکتر به روش میکروسکوپی تأیید شد. برای تشخیص گونه‌های مختلف اسینتوباکتر تست‌های بیو شیمیایی کاتالاز و اکسیداز، SIM، VP، OF، TSI، اوره‌آز و رشد در ۳۷ و ۴۲ درجه سانتیگراد انجام شد. ایزوله هایی که غیر متحرک، اکسیداز منفی، کاتالاز مثبت، اندول منفی، پیگمان منفی، اوره‌آز منفی، سیترات مثبت، S2Hمنفی وVP منفی بودند به عنوان اسینتوباکتر بومانی جداسازی شدند. همچنین برای تأیید نهایی ایزوله ها، ژن ۱۶ SrRNA که به صورت ذاتی دراسینتوباکتر بومانی وجود دارد توسط پرایمر اختصاصی به روش واکنش زنجیره پلیمراز در تمامی ایزوله‌ها شناسایی گردید(جدول شماره ۱).

سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای تعیین فنوتیپ MDR: تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله های جمع‌آوری شده با آزمون آنتی‌بیوگرام و با روش دیسک دیفیوژن با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی ساخت شرکت (Padtanteb, Iran) (بر روی محیط مولر هینتون آگار (Merck Germany) و بر طبق دستورالعمل CLSI2019 انجام گردید. در این تست ایزوله هایی که به بیش از ۳ کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاوم باشند به عنوان فنوتیپ MDR شناخته می‌شوند (۱۵). آنتی‌بیوتیک‌های آزمون شده شامل: توبرامایسین (۱۰ میکروگرم)، سفپیم (۳۰ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم) بودند. این روش مطابق با دستورالعمل CLSI2019 (https://clsi.org/media/3062/clsi-update-2019_21819_final_fullsizedhandouts.pdf)انجام شد.

ارزیابی ژنوتیپی حضور ژنCsuA :

الف) استخراج DNA به روشBoiling

برای استخراجDNA ، مقدار ۱ میلی‌لیتر از باکتری کشت شده در محیط براث به میکروتیوپ منتقل شده و

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

به مدت ۱ دقیقه با دور 12000 rpm سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت دور ریخته شده و رسوب حاصل از باکتری در ۱۰۰ میکرولیتر آب استریل حل شده و به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده شد (۱۶). پس از انجام مراحل استخراج DNA، نمونه ها تا زمان انجام PCR در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. تعیین کمیت DNA استخراج شده توسط دستگاه نانودراپ (Thermo-2000c) بررسی شدند.

ب) واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مولتیپلکس (Multiplex-PCR)

به منظور بررسی حضور ژن CsuA و SrRNA۱۶ از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز استفاده شد. بدین منظور از توالی‌های اولیگونوکلئوتیدی پرایمر اختصاصی برای ژن های مذکور استفاده شد (جدول شماره ۱). پرایمرهای اختصاصی توسط برنامه primer3 و نرم افزار Oligo7 طراحی شدند و در نهایت پرایمرهایی که دمای اتصال مشابه داشتند به عنوان پرایمرهای هدف مورد استفاده قرار گرفتند. در این پژوهش از مخلوط واکنش (Master mix_ YTA) استفاده گردید که شامل ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر (CinnaGen)، 12 میکرولیتر مخلوط واکنش، ۸ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر و ۳ میکرولیتر از DNA الگو اضافه و حجم نهایی ترکیبات به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد و مخلوط در دستگاه ترموسایکلر (Techne, United Kingdom; 5PRIMEG /0.2) قرار گرفت. برنامه اجرایی سیکل‌های PCR ژن CsuA به ترتیب زیر بود: واسرشتگی اولیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۰ سیکل حرارتی شامل واسرشتگی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمر به DNA الگو در ۵۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، طویل شدن رشته الگو در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ ثانیه و دمای طویل شدن نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. الکتروفورز محصولات PCR توسط ژل ۱ درصد حاوی رنگ گرین-ویوور [CinnaGen] در ولتاژ ۱۲۰ ولت به مدت ۳۰ دقیقه تنظیم شده و پس از گذشت این زمان باندها توسط دستگاه ژل ترنس لومیناتور (E-BOX_VX5) عکس برداری شدند. برای کنترل مثبت از (A. baumannii ATCC19606) و برای کنترل منفی از میکروتیوب حاوی مواد واکنش بدون DNA الگو استفاده گردید.

جدول شماره ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در PCR

ژن هدف	کد دسترسی	توالی‌ها	محصول(bp)	دمای اتصال
CsuA	AY241696.1	F: 5'- TCAAGCAACCCATGATGGTA -3' R: 5'- AAATACCCGAATTTGCACCA -3'	809	57
CsuA/RT-PCR	AY241696.1	F: 5'- ATTAAAGCAGGCGAGAAGCA -3' R: 5'- CTGCCAATTCCTTTCCCATA -3'	198	57
16S rRNA	LN611374.1	F:5'- CAGCTCGTGTCGTGAGATGT -3' R:5'- GCCTTCCTCCAGTTTGTCAC -3'	118	57

به منظور بررسی توانایی تشکیل بیوفیلم سویه‌ها از روش کمّی صفحهٔ کشت بافت (TCP) استفاده شد. سوسپانسیون باکتری معادل نیم مک فارلند در محیط نوترینت براث آماده شد و مقدار ۲۰۰ میکرولیتر در هر چاهک ریخته شد. میکروتیتر پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرماگذاری شدند. پس از طی دوره گرماگذاری، محتوای هر چاهک آسپیره شد و چاهک‌ها ۵ بار با بافر فسفات سالین استریل شستشو داده شدند تا همه سلول‌های پلانکتونیک خارج شوند. پس از خشک شدن چاهک ها، در مرحله بعد ۲۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله ۲ درصد به چاهک‌ها اضافه شد و پس از ۵ دقیقه از

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

چاهک‌ها آسپیره شده و توسط آب شسته شدند. پس از خشک شدن چاهک‌ها، به منظور رنگ بری به مقدار ۱۶۰ میکرولیتر استیک اسید ۳۳٪ به چاهک‌ها اضافه شد. در نهایت توسط دستگاه ELISA plate reader در طول موج ۵۷۰ نانومترخوانده شد. سپس طبق جدول شماره ۲ جذب نوری (OD) جدایه‌ها با جذب نوری کنترل مقایسه و به صورت بیوفیلم‌های قوی، متوسط، ضعیف و منفی گزارش شد. Pseudomonas aeruginosaPA01 به عنوان کنترل مثبت در آزمایش‌های بررسی تشکیل بیوفیلم استفاده شد (۲، ۴ و۲۸).

جدول شماره ۲. طبقه‌بندی باکتری‌ها براساس توانایی تشکیل بیوفیلم

نتایج	نتایج این مطالعه	فرمول محاسبه کلاس بیوفیلمی
بیوفیلم قوی	نمونه OD > 0.2	OD > 4×ODc
بیوفیلم متوسط	0.1< نمونه OD ≤ 0.2	2×ODc < OD ≤ 4×ODc
بیوفیلم ضعیف	0.05 < نمونه OD ≤ 0.1	ODc < OD ≤ 2×ODc
بیوفیلم منفی	نمونه OD ≤ 0.05	OD ≤ ODc
4×ODc= 0.2	2×ODc= 0.1	ODc= 0.05

محلول‌سازی نانوذرات کیتوسان:

نانوذرات کیتوسان با اندازه ۵۰ نانومتر و خلوص ۹۹/۹۹٪ از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان تهیه شد. جهت محلول‌سازی پودر نانوذرات کیتوسان، ابتدا محلول استیک اسید ۱٪ تهیه شد. به این ترتیب که در یک فالکون ۱۰۰ میلی لیتر، ۹۹ میلی لیتر آب مقطر و ۱ میلی لیتر استیک اسید خالص اضافه شد. سپس جهت تهیه غلظت بالای نانوذرات کیتوسان، مقدار ۴۰۰ میلی گرم از پودر نانوذره کیتوسان به محلول استیک اسید اضافه شد. به این ترتیب غلظت ۱:۴۰ کیتوسان آماده شده و برای بررسی‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت (۲و ۴).

آزمون میکرودایلوشن براث برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) کیتوسان:

برای تعیین MIC از روش رقت‌گیری سریالی به صورت سه تکرار در محیط کشت انجام شد. بدین صورت که رقت‌های مختلف ۱۰۰ ٪ (۴ میلی گرم بر میلی لیتر) تا ۶/۲۵ ٪ (۰/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر) از نانوذرات کیتوسان به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای اضافه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی به هر چاهک اضافه شد و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت یک شب در گرمخانه جایگذاری شدند. یک چاهک بعنوان بلانک (محیط کشت خالی) استفاده شد. در نهایت کدورت تمام چاهک‌ها با استفاده از دستگاه قرائت‌گر الایزا در طول موج ۶۳۰ نانومتر خوانش شد.

بررسی کمی اثرات ضد بیوفیلمی نانوذره کیتوسان:

اثرات کمی ضد بیوفیلمی نانوذرات کیتوسان با استفاده از روش میکروتیترپلیت و با غلظت subMIC نانوذره استفاده شد. محیط کشت نوترینت براث به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر در هر چاهک ریخته شد. سوسپانسیون باکتری معادل نیم مک فارلند در محیط نوترینت براث آماده شد و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به میکروتیوپ ۱/۵ اضافه شد. ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت MIC نانوذره کیتوسان به میکروتیوپ اضافه شده و پی‌پتاژ شد. ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروتیوپ در هر چاهک ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرماگذاری شدند. پس از طی دوره گرماگذاری، محتوای هر چاهک آسپیره شد و چاهک‌ها ۵ بار با بافر فسفات سالین استریل شستشو داده شدند تا همه سلول‌های پلانکتونیک خارج شوند. پس از خشک‌شدن چاهک‌ها، در مرحله بعد ۲۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله ۲ درصد به چاهک‌ها اضافه و پس از ۵ دقیقه از چاهک‌ها آسپیره‌شده و توسط آب شسته شدند. پس از خشک‌شدن چاهک‌ها، به منظور رنگ‌بری به مقدار ۱۶۰ میکرولیتر استیک اسید ۳۳٪ به چاهک‌ها اضافه شد. در نهایت توسط دستگاه ELISA plate reader در طول

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

موج ۵۷۰ نانومترخوانده‌شد. سپس طبق جدول شماره ۲ جذب نوری (OD) جدایه‌ها با جذب نوری کنترل مقایسه و قدرت تشکیل بیوفیلم هر سویه تیمارشده با نانوذره کیتوسان نسبت به سویه‌های تیمارنشده مقایسه شد .

بررسی بیان ژنCsuA به کمکReal-Time PCR :

استخراج RNA از باکتری اسینتوباکتر بومانی بـه منظـور بررسـی بیـان ژن‌های AB-16S-rRNA و CsuA پس از تیمار با غلظت subMIC نانوذرات کیتوسان صورت گرفت. استخراج RNA توسط کیت RNX plus تهیه شده از شرکت سیناژن انجام گرفت. ساخت cDNA از روی RNAاستخراج‌شده، پس از تعیین مقدار و غلظت RNA حاصل از سلول‌های بیوفیلم مثبت اسینتوباکتربومانی تیمار شده توسط دستگاه نانودراپ، مطابق با کیت فرمنتاز (YTA cDNA Synthesis Kit, IRAN)انجام گرفت .

در این پژوهش برای انجام تست RealTime PCR از کیت SYBER green شرکت یکتاتجهیز آزما (YTA) استفاده شد و نرمالیزاسیون داده‌ها با ژن۱۶ rRNA sبه عنوان ژن مرجع [کنترل داخلی] انجام شد که جهت بررسی بیان ژن CsuA در باکتری-های تیمار شده با نانوذرات کیتوسان بررسی شد. بر طبق پروتکـل مسترمیکس، پرایمرهـا و cDNAسنتز شده در حجم مناسـبی مخلـوط شـده و واکنش توسـط دسـتگاه Corbet Real-time PCR انجام گردید. حجم واکنش ۱۵ میکرولیتر و شامل cDNA ، پرایمر جلوبر و برگشتی برای هر دو ژن CsuA و ۱۶ s rRNA، مسترمیکس و آب مقطر دوبار تقطیـر اسـتریل بود.

چرخه دمایی شامل دناتوراسیون اولیه در ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه و به دنبال آن ۴۰ سیکل در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، ۵۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه بود. همچنین از سویه ATCC19606 اسینتوباکتر بومانی به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید .

آنالیز آماری:

در این پژوهش محاسبه آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام گردید و نتایج با آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) مورد بررسی قرار گرفت. تفاوت بیان ژن‌های هدف، بین نمونه‌های کنترل و تیمار شده با روش آماری Tukey's HSD post-hoc test محاسبه گردید. اطلاعات به صورت mean±standard deviation (M±SD) نمایش داده شده و مرز معنی‌داری روی $P<0.05$ و $P<0.01$ قرار گرفته شد.

یافته ها

ایزوله‌های انتخاب‌شده:

از ۱۰۰ نمونه جمع آوری شده با توجه به تست‌های میکروسکوپی، بیوشیمیایی و شناسایی مولکولی ژن SrRNA۱۶ تعداد ۲۹ نمونه اسینتوباکتر بومانی از بیماران بستری به دست آمد که براساس نوع نمونه انتخاب شدکه مشخصات جدایه‌ها با توجه به نوع نمونه در جدول شماره ۳ ارایه شده است.

جدول شماره۳. مشخصات مربوط به تعداد و پراکنش نوع نمونه در بین ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی

محل جداسازی نمونه	تعداد ایزوله‌های جدا شده از بیماران	تعداد ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی
خون	۳۱	۹
ادرار	۱۹	۷
خلط	۱۷	۵
زخم	۱۳	۴
چرک	۱۱	۲
تراشه	۹	۲

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

ارزیابی فنوتیپی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی:

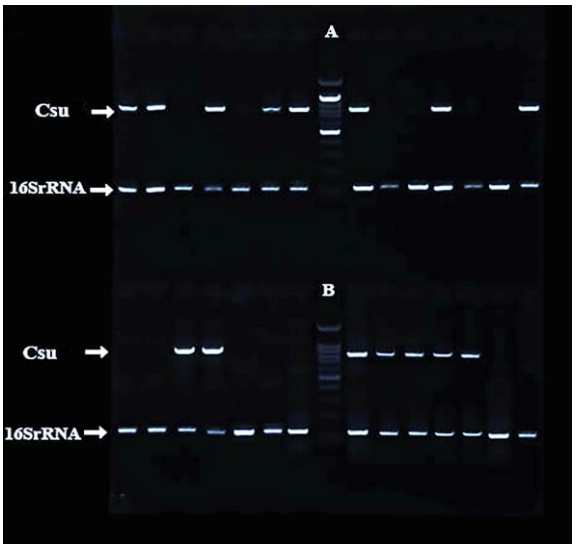
ارزیابی فنوتیپی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* نشان داد که بیشترین مقاومت مربوط به آنتی بیوتیک‌های سفتازیدیم (۷۵/۸۶٪) و ایمی‌پنم (۷۲/۴۱٪) و کمترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک آمیکاسین (۳۴/۴۸٪) بود. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله اسینتوباکتر بومانی در جدول شماره ۴ نشان می‌دهد تمام سویه‌ها حداقل به ۳ کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاوم بوده و فنوتیپ MDR را نشان می‌دهند.

جدول شماره ٤. الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی

آنتی‌بیوتیک	فراوانی/درصد سویه‌های حساس (S)	فراوانی/درصد سویه‌های حد واسط (I)	فراوانی/درصد سویه‌های مقاوم (R)
سفپیم	۸ (۲۷٪/۵۸)	۱ (۳٪/۴۶)	۲۰ (۶۸٪/۹۶)
توبرامایسین	۱۱ (۳۷٪/۹۴)	۲ (۶٪/۸۹)	۱۶ (۵۵٪/۱۷)
مروپنم	۱۰ (۳۴٪/۴۸)	۲ (۶٪/۸۹)	۱۷ (۵۸٪/۶۳)
ایمی‌پنم	۳ (۱۰٪/۳۵)	۵ (۱۷٪/۲۴)	۲۱ (۷۲٪/۴۱)
آمیکاسین	۸ (۲۷٪/۵۸)	۱۱ (۳۷٪/۹۴)	۱۰ (۳۴٪/۴۸)
جنتامایسین	۵ (۱۷٪/۲۴)	۴ (۱۳٪/۷۹)	۱۹ (۶۵٪/۵۱)
سفوتاکسیم	۹ (۳۱٪/۰۲)	۳ (۱۰٪/۳۵)	۱۷ (۵۸٪/۶۳)
سیپروفلوکساسین	۱۱ (۳۷٪/۹۴)	۳ (۱۰٪/۳۵)	۱۵ (۵۱٪/۷۲)
سفتازیدیم	۴ (۱۳٪/۷۹)	۳ (۱۰٪/۳۵)	۲۲ (۷۵٪/۸۶)
فنوتیپ	---	---	MDR

نتایج آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای ژن‌های CsuA و 16SrRNA:

نتایج واکنش زنجیره‌ای پلیمراز نشان داد که فراوانی ژن 16SrRNA در تمامی ۲۹ نمونه (۱۰۰ درصد) ردیابی شد. این نمونه‌ها به عنوان ایزوله اسینتوباکتر بومانی شناسایی شدند. همچنین فراوانی ژن CsuA برابر با ۱۵ ایزوله (۵۱/۷۲٪) بود (شکل شماره ۱)



شکل شماره ۱. نتایج Multiplex-PCR نشان دهنده حضور ژن CsuA در ۵۱/۷۲٪ ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی بود. (A و B) نشان دهنده DNA Ladder 100bp است.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

بررسی رابطه‌ی بین حضور ژن CsuA و توانایی تولید بیوفیلم:

رابطه‌ی بین حضور ژن CsuA و توانایی تولید بیوفیلم بررسی شد. در این بررسی از بین ۲۹ ایزوله بررسی شده، ۸ ایزوله با مقاومت چندگانه دارویی توانایی تشکیل بیوفیلم قوی، ۵ نمونه توانایی تشکیل بیوفیلم متوسط و ۲ نمونه توانایی تشکیل بیوفیلم ضعیف را داشتند. ۱۴ ایزوله بیوفیلم منفی بوده و توانایی تشکیل بیوفیلم نداشتند. مطابق با روش PCR، ۱۰۰٪ ایزوله‌های تشکیل دهنده بیوفیلم (۱۵ ایزوله)، دارای ژن CsuA بودند (جدول شماره ۵).

جدول شماره ۵. رابطه‌ی بین حضور ژن CsuA و توانایی و قدرت تولید بیوفیلم

مشخصه فنوتیپی	دامنه جذب نوری ایزوله‌ها پس از آزمون TCP	تعداد ایزوله	حضور ژن CsuA
بیوفیلم منفی	$OD \leq 0.05$	۱۴	منفی
بیوفیلم ضعیف	$0.05 < OD \leq 0.1$	۲	مثبت
بیوفیلم متوسط	$0.1 < OD \leq 0.2$	۵	مثبت
بیوفیلم قوی	$0.2 < OD$	۸	مثبت

نتایج تعیین MIC نانوذرات کیتوسان علیه سویه‌های بیوفیلم مثبت:

سویه‌های بیوفیلم مثبت تحت تاثیر غلظت‌های ۶/۲۵ تا ۱۰۰ درصد از نانوذرات کیتوسان در مدت زمان ۲۴ ساعت قرار گرفتند. نتایج نشان داد که سویه‌های مختلف دارای محدوده‌ای از MIC بودند (جدول شماره ۶).

جدول شماره ٦. نتایج تعیین MIC نانوذرات کیتوسان علیه سویه‌های بیوفیلم مثبت

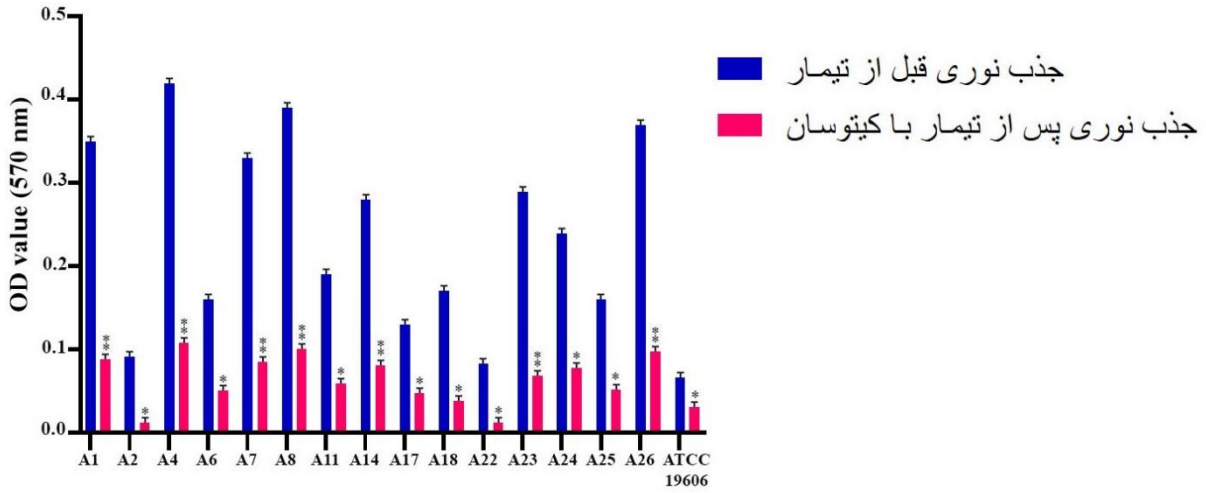
شماره سویه	غلظت MIC (میلی گرم بر میلی لیتر)	درصد MIC	قدرت تشکیل بیوفیلم
A1	۴:۱	۱۰۰٪	قوی
A2	۱:۱	۲۵٪	ضعیف
A4	۴:۱	۱۰۰٪	قوی
A6	۲:۱	٪۵۰	متوسط
A7	۴:۱	۱۰۰٪	قوی
A8	۴:۱	۱۰۰٪	قوی
A11	۲:۱	٪۵۰	متوسط
A14	۴:۱	۱۰۰٪	قوی
A17	۲:۱	٪۵۰	متوسط
A18	۲:۱	٪۵۰	متوسط
A22	۱:۱	۲۵٪	ضعیف
A23	۴:۱	۱۰۰٪	قوی
A24	۴:۱	۱۰۰٪	قوی
A25	۲:۱	٪۵۰	متوسط
A26	۴:۱	۱۰۰٪	قوی
ATCC19606	۱:۱	٪۲۵	ضعیف

بررسی کمی اثرات ضد بیوفیلمی نانوذره کیتوسان با روش تست میکروتیترپلیت :

ارزیابی کمی اثرات ضد بیوفیلمی نانوذرات کیتوسان با کمک روش میکروتیترپلیت انجام گرفت. نتایج این

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

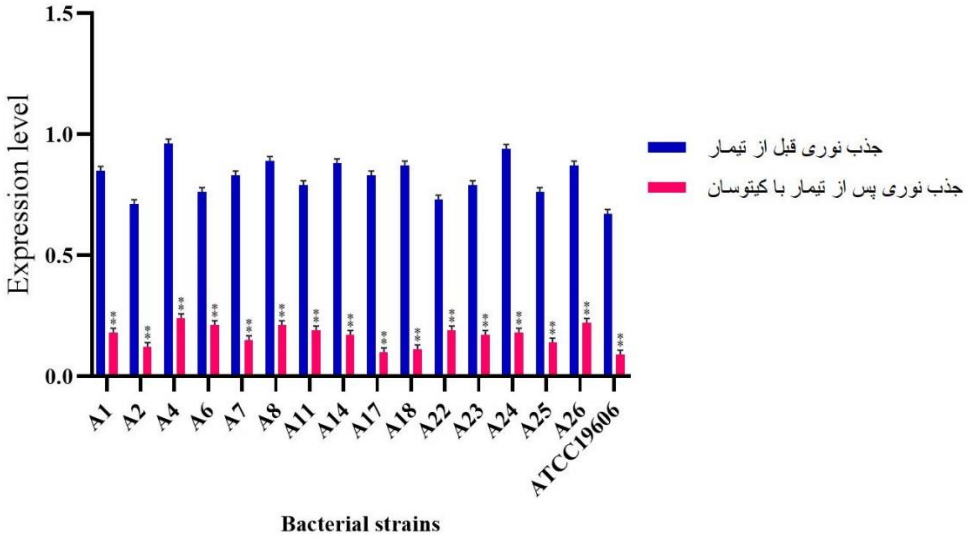
روش نشان داد که توانایی تشکیل بیوفیلم در تمامی سویه‌ها پس از تیمار با غلظت SubMIC نانوذرات کیتوسان کاهش یافته است که در شکل شماره ۲ مشخص شده است. همان‌طور که نشان داده شده است، میزان جذب در تمامی سویه‌ها بعد از تیمار با نانوذرات کیتوسان کاهش زیادی داشته است که این نشان‌دهنده کاهش توانایی تشکیل بیوفیلم سلول‌های باکتریایی و کاهش جذب نوری در نتیجه توانایی کم اتصال به کف میکروپلیت بوده است.



شکل شماره ۲. بررسی کمی تولید بیوفیلم در سویه‌های اسینتوباکتر بومانی پس از تیمار با نانوذرات کیتوسان نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار توانایی تشکیل بیوفیلم و قدرت بیوفیلم شد. $P<0.05$*، $P<0.01$**.

نتایج بررسی بیان ژنCsuA در سویه‌های تیمارشده با نانوذره با استفاده از روش qReal-Time PCR:

نتایج نشان داد که سویه های متفاوت با دارا بودن MIC های مختلف، تحت تاثیر نانوذرات کیتوسان تغییر بیان مختلفی داشتند و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه تیمارنشده داشتند ($P<0.01$). نتایج حاصل از تغییر بیان ژن CsuA در سویه‌های بیوفیلم مثبت در شکل شماره ۳ نشان داده شده است.



شکل شماره ۳. میزان بیان ژن CsuA در سویه‌های تیمارشده با نانوذرات کیتوسان. همانطور که مشاهده می‌شود بیان ژن CsuA در سویه‌های تیمار شده با نانوذرات کیتوسان در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشته‌اند ($P<0.01$**). از ژن ۱۶SrRNA به عنوان رفرنس برای نرمالیزاسیون استفاده شد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

بحث و نتیجه‌گیری

به علت افزایش روزافزون مقاومت دارویی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در سال‌های اخیر، شاهد حضور ایزوله‌هایی از اسینتوباکتر بومانی با الگوی مقاومت دارویی چندگانه (MDR) هستیم که از نقاط مختلف جهان گزارش می‌شوند (۱۷). افزایش مقاومت نسبت به عوامل ضدمیکروبی و محدود بودن گزینه‌های درمانی، مشکلات جدی در مراکز درمانی به ویژه در بخش مراقبت‌های ویژه است که سلامت و اقتصاد کشور را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۸). توانایی چسبیدن و تشکیل بیوفیلم روی مخاط و وسایل پزشکی یکی از فاکتورهای اصلی ویرولانس و مقاومت دارویی در گونه‌های اسینتوباکتر است. بیوفیلم باکتریایی باعث می‌شود تا باکتری در برابر عواملی چون حضور آنتی بیوتیک‌ها، پاسخ ایمنی میزبان، عوامل فاگوسیت کننده و استرس‌های محیطی مقاومت کند (۱۹). مطالعه توانایی تشکیل بیوفیلم و مشخص کردن ژن‌های دخیل در آن در ایزوله‌های مختلف اسینتوباکتر می‌تواند به فهم بهتر فرایند تشکیل بیوفیلم کمک کند. بنابراین از اهداف مهم این تحقیق، بررسی میزان تشکیل بیوفیلم در سویه‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی مقام به آنتی‌بیوتیک بوده است. مطالعه حاضر نشان داد که اکثریت ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی الگوی مقاومت دارویی چندگانه دارند. به‌طوری که بیشترین مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم (۷۵/۸۶٪) و ایمی‌پنم (۷۲/۴۱٪) و کمترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک آمیکاسین (۳۴/۴۸٪) ارزیابی شد. حضور ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی با الگوی مقاومت دارویی چندگانه در دیگر مطالعات انجام شده در ایران نیز گزارش شده است. به‌طوری که در مطالعه حاتمی و همکاران در سال ۲۰۱۸، ۸۴ درصد از ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی مقاومت دارویی چندگانه را نشان دادند (۲۰)؛ و در مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۱۸ فراوانی اسینتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو ۷۶ درصد بود (۱۴). در مطالعه‌ای که گودرزی و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام دادند مقاومت به سفتازیدم و مروپنم ۹۹ درصد و ایمی پنم ۹۱/۵ درصد (۲۱) و در مطالعه‌کوتی و همکاران در سال ۲۰۱۵ مقاومت به سفتازیدم و مروپنم ۹۹/۵ درصد و ایمی-پنم ۹۸/۵ درصد گزارش شد (۲۲). تمام این مطالعات نشان دهنده مقاومت بسیار بالای این باکتری نسبت به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف است که با مطالعه ما همسو می‌باشد. به‌طورکلی میزان مقاومت نسبت به آنتی-بیوتیک‌ها در کشورهای آسیایی و اروپایی به نسبت ایالت متحده آمریکا و کشورهای آمریکای لاتین در سطح بالاتری است که این میزان مقاومت دارویی در ایران بسیار نگران‌کننده است (۲۱). بسیاری از مطالعات نشانگر قدرت بقای اسینتوباکتر بومانی در شرایط محیطی سخت و مقاومت بسیار بالا در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مختلف ناشی از تشکیل بیوفیلم هستند (۱۴، ۲۳). ژن CsuA از جمله مهم-ترین ژن‌های ایجاد کننده و تقویت کننده‌ی بیوفیلم در اسینتوباکتر بومانی است. این پروتئین با وزن مولکولی بالا در سطح خارجی باکتری‌ها قرار دارد و شامل هسته مرکزی متشکل از تکرارهای متوالی از توالی‌های مشابه است. CsuA یک پروتئین در سطح خارجی A. baumannii می-باشد که شامل هسته‌ی مرکزی در ارتباط با انواع پروتئین-های دخیل در مقاومت می‌باشد. این پروتئین به باکتری قابلیت تشکیل بیوفیلم و اتصال به سطوح را می‌دهد و به این ترتیب نقش مهمی در عفونت‌زایی پاتوژن‌ها دارند (۶). در سال‌های اخیر محققان بسیاری به بررسی ارتباط بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی اسینتوباکتر بومانی و ژن‌های دخیل در تولید بیوفیلم این باکتری پرداختندالکیو و همکاران در سال ۲۰۱۶ مطالعه‌ای مبنی بر ارتباط بین مقاومت آنتی-بیوتیکی، تشکیل بیوفیلم و مقاومت ویژه بیوفیلم در اسینتوباکتر بومانی انجام دادند. در مطالعه آنها ارتباط بین مقاومت آنتی بیوتیکی، تشکیل بیوفیلم و مقاومت ویژه بیوفیلم در ایزوله‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی بررسی گردید (۲۴). در مطالعه حاضر فراوانی ژن CsuA ، ۵۱/۷۲درصد بود در حالی که در مطالعات خارج از ایران فراوانی این ژن درصد گزارش شده است. وجود عدم هم خوانی شیوع این ژن در مطالعات خارج از ایران با مطالعه

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

حاضر می‌تواند به دلیل شرایط جغرافیایی متفاوت، تعداد و یا تنوع نمونه‌ها باشد. همچنین در این مطالعه به منظور بررسی توانایی تشکیل بیوفیلم از روش میکروتیتر پلیت استفاده شد. روش میکروتیتر پلیت علاوه بر اینکه توانایی تشکیل بیوفیلم ایزوله‌ها را تشخیص می‌دهد، می‌تواند میزان تشکیل بیوفیلم را به صورت کمّی اندازه گیری کند. با استفاده از این روش، در مطالعه حاضر،۵۱/۷۲ درصد از ایزوله‌ها بیوفیلم تشکیل دادند و ۱۰۰درصد از ایزوله‌های بیوفیلم مثبت دارای ژن CsuA بودند. این نتایج مشابه با یافته‌های مطالعه خیر و همکاران بود. در این مطالعه که درسال ۲۰۱۵ انجام شد،۵۱/۳ درصد ایزوله‌های بیوفیلم مثبت، و ۴۸/۷ درصد ایزوله‌های بیوفیلم منفی گزارش شدند (۲۵). توانایی فوق العاده‌ی کیتوسان به عنوان عامل زیست تخریب‌پذیر، محققان زیادی را به فکر استفاده از این ماده به عنوان عامل ضد میکروبی واداشته است. تحقیقات مختلفی نشان دادند که نانوذرات توانایی چشمگیری در مهار بیماری‌های عفونی باکتریایی دارند. طبق تحقیقات القطانی و همکاران در سال ۲۰۲۰ درخصوص سنتز نانوذرات کیتوسان و بررسی اثرات آنتی-باکتریال آن، مشخص شد که نانوذرات کیتوسان پتانسیل استفاده به عنوان داروی آنتی‌باکتریال را دارد (۲۶). نتایج این مطالعه همسو با مطالعه القطانی بیانگر این است که نانوذرات کیتوسان پتانسیل آنتی‌باکتریال دارد. بیان ژن CsuA در اسنیتوباکتر بومانی پس از تیمار با نانوذره کیتوسان کاهش قابل تاثیری داشت. کاهش بیان ژن باعث عملکرد ضعیف بیوفیلم شده و از میزان مقاومت زیاد آنتی-بیوتیک‌ها و سایر مواد ضدعفونی کننده و دارویی جلوگیری گردید. بنابراین پیشنهاد می‌شود نانوذرات کیتوسان به عنوان داروی مناسب آنتی‌باکتریال استفاده شده و به عنوان نگهدارنده مواد غذایی جایگزین مواد شیمیایی و مضر گردد. به طور کلی در این مطالعه تمامی ایزوله‌های تولیدکننده بیوفیلم قوی، متوسط و ضعیف حاوی ژن CsuAبودند. با توجه به فراوانی بالای توانایی تشکیل بیوفیلم قوی در ایزوله‌های مورد بررسی، این احتمال وجود دارد که ساختار بیوفیلم از دلایل اصلی ایجاد این میزان از مقاومت و بروز فنوتیپ MDR باشد.

به طور خلاصه، کیتوسان به عنوان یک سیستم دارویی مبتنی بر پلیمر استیله شده از کیتین خوراکی که از پوسته سخت میگو جدا می‌شود ، نتایج امیدوار کننده‌ای برای استفاده به عنوان عامل ضد باکتری طبیعی در برابر سویه-های MDR نشان داد. بنابراین، پیشنهاد می شود که جهت استفاده از نانوذرات کیتوسان به عنوان یک استراتژی جدید فازهای کلینیکی و بالینی در صنعت داروسازی مطالعات بیشتری انجام گردد. همچنین بررسی نانوذرات کیتوسان در ترکیب با عصاره‌های گیاهی می‌تواند به عنوان رویکردهای آنتی‌باکتریال آینده پیشنهاد گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از تمامی افرادی که همکاری صمیمانه در این پژوهش داشتند، کمال امتنان را دارند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی ندارند.

کد اخلاق:

این پژوهش مطابق با کمیته اخلاقی و معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد به شماره IR.IAU.SHK.REC.1399.057 انجام شد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

References

1. Lemiech-Mirowska E, Kiersnowska ZM, Michałkiewicz M, Depta A, Marczak M. Nosocomial infections as one of the most important problems of healthcare system. Ann Agric Environ Med 2021;28. doi: 10.26444/aaem/122629.
2. Piri Gharaghie T, Sadat Shandiz SA, Beiranvand S. Evaluation of silver nanoparticles effects on bla-per1 gene expression for biofilm formation in isolates of antibiotic-resistant Acientobacter Bumanni by real time PCR method. JCMR 2022; 35:349-66.
3. Nocera FP, Attili AR, De Martino L. Acinetobacter baumannii: its clinical significance in human and veterinary medicine. Pathogens 2021; 10:127. doi: 10.3390/pathogens10020127.
4. Piri Gharaghie T, Sadat Shandiz SA. The inhibitory effects of silver nanoparticles on bap gene expression in antibiotic-resistant acientobacter bumanni isolates using real-time PCR. J Ilam Uni Med Sci 2018;26: 175-85.doi: 10.29252/sjimu.26.4.175.
5. Bowler P, Murphy C, Wolcott R. Biofilm exacerbates antibiotic resistance: Is this a current oversight in antimicrobial stewardship? Antimicrob Resist Infect Control 2020; 9:1-5. doi: 10.1186/s13756-020-00830-6.
6. Piri-Gharaghie T, Doosti A, Mirzaei SA. Identification of antigenic properties of Acinetobacter baumannii proteins as novel putative vaccine candidates using reverse vaccinology approach. Appl Biochem Biotechnol 2022; 194:4892-914. doi: 10.1007/s12010-022-03995-5.
7. Pakharukova N, Garnett JA, Tuittila M, Paavilainen S, Diallo M, Xu Y, et al. Structural insight into archaic and alternative chaperone-usher pathways reveals a novel mechanism of pilus biogenesis. PLoS Pathog 2015;11: e1005269. doi: 10.1371/journal.ppat.1005269.
8. Gaddy JA, Actis LA. Regulation of Acinetobacter baumannii biofilm formation. Future Microbiol 2009;4: 273-8. doi: 10.2217/fmb.09.5.
9. Piri-Gharaghie T, Beiranvand S, Riahi A, Shirin NJ, Badmasti F, Mirzaie A, et al. Fabrication and characterization of thymol-loaded chitosan nanogels: improved antibacterial and anti-biofilm activities with negligible cytotoxicity. Chem Biodivers 2022;19: e202100426. doi: 10.1002/cbdv.202100426.
10. Piri-Gharaghie T, Doosti A, Mirzaei SA. Fabrication and characterization of pcDNA3. 1 (+) location within chitosan/nanoparticles complexes for enhanced gene delivery. Iran J Biotechnol 2022; 20:88-100. doi: 10.30498/ijb.2022.297534.3110.
11. Donsì F, Annunziata M, Sessa M, Ferrari G. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. LWT-Food Sci Technol 2011; 44:1908-14. doi:10.1016/j.lwt.2011.03.003.
12. Chou SF, Gunaseelan S, Kiellani MH, Thottempudi VV, Neuenschwander P, Nie H. A review of injectable and implantable biomaterials for treatment and repair of soft tissues in wound healing. J Nanotechnol 2017;2017. doi:10.1155/2017/6341710.
13. Van Vuuren SF, du Toit LC, Parry A, Pillay V, Choonara YE. Encapsulation of essential oils within a polymeric liposomal formulation for enhancement of antimicrobial efficacy. Nat Prod Commun 2010; 5:1934578X1000500912.
14. Kabiri-Samani S, Sanatgaran M, Shojaei-Barjoei N, Moosavi R, Shaqaqi P, Kabiri H. Alternatives to Antibiotics GOAL: ELEVATING Antibiotic Resistance During the Post-COVID Period. J Pers Med 2022; 7:36-42. doi:10.22034/pmj.2022.253553
15. Piri-Gharaghie T, Ghajari G, Hassanpoor M, Jegargoshe-Shirin N, Soosanirad M, Khayati S, et al. Investigation of antibacterial and anticancer effects of novel niosomal formulated Persian Gulf Sea cucumber extracts. Heliyon 2023;9. doi: 10.1016/j.heliyon. 2023.e14149.
16. Asadipour E, Asgari M, Mousavi P, piri gharaghie T, Ghajari G, Mirzaei A. Nano-Biotechnology and challenges of drug delivery system in cancer treatment pathway. Chem Biodiver 2023:e202201072. doi: 10.1002/cbdv.202201072.
17. Taghiloo S, Ghajari G, Zand Z, Kabiri-Samani S, Kabiri H, Rajaei N, et al. Designing Alginate/Chitosan Nanoparticles Containing Echinacea angustifolia: A Novel Candidate For Combating Multidrug-resistant Staphylococcus aureus. Chem Biodivers 2023: e202201008. doi: 10.1002/cbdv.202201008.
18. Zarinnezhad A, Shahhoseini MH, Piri Gharaghie T. Evaluating the relative frequency of fungal infections in the serum of patients with multiple sclerosis and healthy subjects using PCR. Biolo J Microorganism 2021; 10:37-50. doi:10.22108/bjm.2020.122265.1288.
19. Piri-Gharaghie T, Doosti A, Mirzaei SA. Novel adjuvant nano-vaccine induced immune response against Acinetobacter baumannii. AMB Express 2023; 13:1-6. doi:10.1186/s13568-023-01531-0.
20. Hatami R. The frequency of multidrug-resistance and extensively drug-resistant

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

Acinetobacter baumannii in west of Iran. J Clin Microbiol Infect Dis 2018; 1:4-8.
21. Goudarzi H, Douraghi M, Ghalavand Z, Goudarzi M. Assessment of antibiotic resistance pattern in Acinetobacter bumannii carrying bla oxA type genes isolated from hospitalized patients. Nov Biomed 2013; 1:54-61. doi:10.22037/nbm.v1i2.5093.
22. Kooti S, Motamedifar M, Sarvari J. Antibiotic resistance profile and distribution of oxacillinase genes among clinical isolates of Acinetobacter baumannii in Shiraz teaching hospitals, 2012-2013. Jundishapur J Microbiol 2015;8. doi: 10.5812/jjm.20215v2.
23. Longo F, Vuotto C, Donelli G. Biofilm formation in Acinetobacter baumannii. New Microbiol 2014; 37:119-27.
24. Qi L, Li H, Zhang C, Liang B, Li J, Wang L, et al. Relationship between antibiotic resistance, biofilm formation, and biofilm-specific resistance in Acinetobacter baumannii. Front Microbiol 2016; 7:483. 10.3389/fmicb.2016.00483/full.
25. Dadgar T, Vahedi Z, Yazdansetad S, Kiaei E, Asaadi H. Phenotypic Investigation of Biofilm Formation and the Prevalence of icaA and icaD Genes in Staphylococcus epidermidis Isolates. Iran J Med Microbiol 2019;12: 371-81.doi: 10.30699/ijmm.12.6.371.
26. Alqahtani F, Aleanizy F, El Tahir E, Alhabib H, Alsaif R, Shazly G, et al. Antibacterial activity of chitosan nanoparticles against pathogenic N. gonorrhoea. Int J Nanomedicine 2020:7877-87. doi/full/10.2147/IJN.S272736.
27. Gharaghie TP, Beiranvand S, Abbas Doosti AH, Ghadiri SH. A review of the epidemiology and clinical signs of SARS-COV-2. NCMB J. 2020; 11:103-20.
28. Piri-Gharaghie T, Jegargoshe-Shirin N, Saremi-Nouri S, Khademhosseini SH, Hoseinnezhad-Lazarjani E, Mousavi A, et al. Effects of Imipenem-containing Niosome nanoparticles against high prevalence methicillin-resistant Staphylococcus Epidermidis biofilm formed. Sci Rep 2022; 12:5140. doi: 10.1038/s41598-022-09195-9.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]