

مقاله پژوهشی

ارزیابی پتانسیل ضد سودوموناسی لاکتوباسیلوس های عسل بر سویه های مقاوم به داروی سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بخش سوختگی

بنت الهدی برزگر^۱، لیل افزونی^{۱*}، تینا دادگر^۱^۱ گروه میکروبیولوژی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

*نویسنده مسئول: گروه میکروبیولوژی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران. ایمیل: lili_kia@yahoo.com

دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۰۱ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۱۷

چکیده

مقدمه: سودوموناس آئروژینوزا یکی از شایع ترین باکتری های گرم منفی عامل عفونت های بیمارستانی و بعد از سوختگی است. استفاده بیش از حد و سوء استفاده از آنتی بیوتیک ها منجر به ایجاد باکتری های مقاوم به چند دارو و افزایش مرگ و میر در بیماران می شود.

اهداف: این مطالعه با دو هدف تعیین شیوع سویه های سودوموناس آئروژینوزا با فنوتیپ های مقاومت چندگانه و گسترده، و همچنین بررسی اثرات مهار لاکتوباسیل های عسل روی این جدایه ها انجام شد.

مواد و روش ها: سویه های سودوموناس آئروژینوزا از ۲۲۰ نمونه زخم بعد سوختگی از بیماران بستری طی سال های ۱۴۰۲ - ۱۴۰۰ با استفاده از آزمایشات میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی شناسایی شدند. تست کربی - بائر برای تعیین فنوتیپ های مقاومت مطابق با دستورالعمل CLSI-۲۰۲۱ انجام شد. پس از جداسازی پروبیوتیک های سیزده نوع عسل به روش های فنوتیپی و مولکولی، خواص آنتاگونیستی آن ها به روش انتشار دیسک ارزیابی شد.

نتایج: در مجموع ۶۳ (۲۸/۶۴ درصد) جدایه سودوموناس آئروژینوزا شناسایی شد. اکثر نمونه های سودوموناس آئروژینوزا از بیماران با درجه سوختگی نوع ۴ (۳۸/۰۹ درصد) جدا شدند. نتایج نشان داد که به ترتیب ۵۵/۵۶ درصد و ۲۳/۸۱ درصد دارای مقاومت چندگانه و مقاومت گسترده بودند و بیشترین حساسیت آنتی بیوتیکی نسبت به آمیکاسین (۶۰/۳۲ درصد) مشاهده شد. نتایج انتشار دیسک نشان داد میانگین قطر هاله عدم رشد ناشی از لاکتوباسیلوس پلانتاروم (۲۵ میلی متر) روی تمامی جدایه های سودوموناس آئروژینوزا با مقاومت چندگانه به مراتب بیشتر (۱/۳ برابر) از اثر پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس برویس و ۱/۶ برابر اثر پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بود.

نتیجه گیری: لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از عسل مرکبات در مقایسه با سایر گونه های لاکتوباسیلوس و انواع دیگر عسل دارای پتانسیل ضد باکتریایی بالاتری روی جدایه های سودوموناس آئروژینوزا با مقاومت چندگانه بوده است. تحقیقات بیشتری برای تایید کارایی لاکتوباسیل های عسل برای ضد عفونی پوست بیماران مبتلا به سوختگی در شرایط بیمارستان مورد نیاز است.

کلمات کلیدی: مقاومت دارویی، سودوموناس آئروژینوزا، عسل، پروبیوتیک، سوختگی

۱. مقدمه

سراسر جهان رو به افزایش است (۲). همانطور که توسط Magiorakos و همکاران در سال ۲۰۱۲ توصیف شده است، سویه هایی از سودوموناس آئروژینوزا با مقاومت چندگانه تعریف می شوند که به یک یا بیشتر از یک آنتی بیوتیک در سه کلاس دارویی حساسیت نشان ندهند در حالی که سویه های غیر حساس به یک یا چند عامل ضد میکروبی در همه کلاس های آنتی بیوتیکی به جز دو کلاس، سویه های با مقاومت گسترده در نظر گرفته می شوند (۳). بیماری زایی سودوموناس آئروژینوزا به فاکتورهای بیماری زایی ترشحی و سلولی وابسته است که

سودوموناس آئروژینوزا یک باکتری فرصت طلب و یکی از مهمترین عوامل ایجاد کننده عفونت های بیمارستانی به خصوص در افراد دچار نقص سیستم ایمنی و بیماران مبتلا به سوختگی ها است. زخم های ناشی از سوختگی محیط مناسبی برای رشد باکتری های مختلف از جمله سودوموناس آئروژینوزا هستند. سپسیس ناشی از این باکتری یک عارضه جدی متعاقب عفونت سوختگی است (۱). در حال حاضر شیوع عفونت های بیمارستانی به دلیل گسترش باکتری های با مقاومت چندگانه (MDR) و با مقاومت گسترده (XDR) در

۳. مواد و روش‌ها

۱.۳. جداسازی باکتری‌ها

در این مطالعه مقطعی آینده‌نگر، نمونه‌برداری از ۲۲۰ بیمار (شامل ۱۰۵ زن/۱۱۵ مرد، محدوده سنی ۹ تا ۷۸ سال میانگین $\pm$ انحراف معیار $7/1 \pm 43$) بستری در بخش سوانح و سوختگی شش بیمارستان دولتی و خصوصی تحت پوشش دانشگاه‌های علوم پزشکی گلستان و مازندران در شهرهای خان به بین، قائم شهر، چالوس، تنکابن، آمل و ساری واقع در شمال ایران طی سال‌های ۱۴۰۲ - ۱۴۰۰ انجام شد. مبنای نمونه‌گیری براساس نمونه‌گیری آسان و در دسترس توسط پزشکان متخصص و پرستاران مجرب پایه‌ریزی گردید. رعایت استانداردهای اخلاقی و مجوز از کمیته اخلاق بیمارستان‌ها، پرسشنامه‌ای مبنی بر جنسیت، سن بیمار، درجه سوختگی و مدت زمان بستری تهیه شد. ۱۲۹ بیمار به دلیل سوختگی با آتش (۱۷ نفر آن‌ها به دلیل خودسوزی) و ۹۱ بیمار در اثر تماس با مایعات یا بخار داغ دچار سوختگی شده بودند. این مطالعه با در نظر گرفتن اصول اخلاق پژوهش، در دانشگاه آزاد اسلامی - مازندران بررسی و با شناسه اخلاق (IR.IAU.CHALUS.REC.1401.023) مصوب گردید. بیماران دارای علائمی مانند تب، ضعف، بی‌حالی، راش‌های پوستی، چرک ناحیه عفونت زخم سوختگی بودند. معیار ورود بیماران به مطالعه، داشتن علائم سوختگی با گذشت حداقل ۷۲ ساعت از زمان بستری بود. بیماران مبتلا به بیماری‌های خودایمنی، دیابت، سن کمتر از ۷ سال (اعم از زن و مرد)، دریافت کنندگان پیوند پوست و در حال فوت از این مطالعه حذف شدند. پس از نمونه‌گیری با سواب استریل از زخم، بیوپسی بافت در اتاق عمل از عمق ضایعه با سایز ۱ سانتی‌متر مکعب و نمونه‌گیری از خون در هنگامی که بیمار تب داشت، نمونه‌ها جهت ردیابی سویه‌های سودوموناس /*اثرورینوزا* پس از کشت اولیه در محیط‌های BHI برات و ستریماید آگار (مرک، آلمان) و انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، با استفاده از رنگ آمیزی گرم، تست اکسیداز، واکنش در محیط TSI، تست OF، بررسی تحرک، رشد در ۴۲ درجه سانتی‌گراد و تولید پیوسیانین در محیط مولر هینتون آگار شناسایی و جداسازی شدند.

۲.۳. تعیین حساسیت دارویی

در تعیین حساسیت دارویی به روش انتشار دیسک (کربی - بائر)، ابتدا از جدایه‌های کشت ۲۴ ساعته سودوموناس /*اثرورینوزا*، غلظت برابر نیم مک فارلند تهیه و روی محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) کشت و دیسک‌گذاری برای انجام با استفاده از دیسک‌های آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، سفپیم (۳۰ میکروگرم)،

امکان کلونیزاسیون و افزایش چسبندگی به سلول‌های میزبان، آسیب به بافت میزبان، ایجاد التهاب و اختلال در مکانیسم‌های دفاعی را موجب می‌شود. مقاومت ذاتی به آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد ضد عفونی‌کننده مهمترین عاملی است که این باکتری را به‌عنوان بیماری‌زای خطرناک معرفی می‌کند. استفاده نادرست از آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به ایجاد سویه‌های سودوموناس /*اثرورینوزا* با مقاومت چندگانه شده است که روند درمان را پیچیده کرده است (۴، ۵). با توجه به روند افزایشی مقاومت در چنین باکتری‌هایی نظر دانشمندان به استفاده از ترکیبات ضد میکروبی جایگزین مانند پروبیوتیک‌ها جلب شده است (۶).

ویژگی مهم باکتری‌های پروبیوتیک از جمله لاکتوباسیل‌ها، توانایی آن‌ها در کنترل تعداد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و نیز مهار قدرت بیماری‌زایی آن‌ها است. باکتری‌های پروبیوتیک با توانایی تجمع سلولی، با میکروب‌های بیماری‌زا مجتمع می‌شوند و مانع از رسیدن و اتصال باکتری‌ها به سلول هدف در میزبان می‌شوند. مشخص شده است که پروبیوتیک‌ها می‌توانند رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا را از طریق مکانیسم‌های متعدد، از جمله مهار رقابتی اتصال پاتوژن، تقویت سیستم ایمنی میزبان و تولید ترکیبات بازدارنده رشد پاتوژن مانند اسیدهای آلی، باکتریوسین‌ها و پراکسید هیدروژن، مهار کنند. اسیدهای آلی می‌توانند به غشای سلولی نفوذ کنند و در نتیجه با اسیدی کردن سیتوپلاسم و مهار فعالیت آنزیم‌های حساس به اسید، عملکرد سلول را تحت تأثیر قرار دهند (۷). عسل به‌عنوان یک ماده اسیدی به دلیل اسمولاریته، محتوای پراکسید هیدروژن، pH پایین، سطح اسیدفنولیک و فلاونوئیدها دارای اثر باکتریواستاتیک و باکتری‌کشی است. اثرات ضدباکتریایی عسل علیه بسیاری از پاتوژن‌ها از جمله /*استافیلوکوکوس اورئوس* و /*سالمونلا* تایید شده است. بیشتر باکتری‌ها نمی‌توانند در عسل رشد کنند و ظرفیت رشد یا بقای کمی دارند. میکروبیوتای اسیدلاکتیک عسل برای سلامت کلنی‌های زنبور عسل بسیار مهم است و علاوه بر محافظت در برابر عوامل بیماری‌زا منجر به خواص ضد میکروبی عسل شده است (۸).

۲. اهداف

با توجه به غنی بودن اقلیم ایران در تولیدات عسل، اخطار جهانی مبنی بر مقاومت‌های دارویی، اهمیت انتشار سویه‌های سودوموناس /*اثرورینوزا* از محیط به بالین (۵) و تدوین یک پروتکل درمانی بهینه برای کنترل موثر این عوامل بیماری‌زا به‌خصوص در بخش‌های سوانح و سوختگی، این مطالعه با هدف بررسی اثرات بازدارندگی لاکتوباسیل‌های انواع عسل به‌عنوان یک پروبیوتیک مطرح روی سویه‌های سودوموناس /*اثرورینوزا* مقاوم به چند دارو جداسوده از فنوتیپ‌های مختلف سوختگی انجام شد.

انکوبه شدند. در ادامه ۱ سی سی از هر نمونه رشد یافته از MRS برات، در MRS آگار کشت مجدد شد و ۴۸ ساعت در شرایط بی‌هوای در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. کلنی‌های مشکوک به لاکتوباسیلوس مورد آزمایشات فنوتیپی پروفایل تخمیر قندها (آرابینوز، سلویوز، گالاکتوز، گلوکونات، لاکتوز، مالتوز، مانیتول، دی-مانوز، ملیبیوز، رافینوز، سالیسین، سوربیتول، ساکاروز، تری‌هالوز، گزیلوز، ملی‌زیتوز، ریبوز، اسکولین) و تولید NH_3 قرار گرفتند و نتایج بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در ۳۷ درجه سانتی‌گراد ثبت شد. جهت تایید نهایی لاکتوباسیل‌های غالب شناسایی شده، پس از استخراج ژنوم باکتری با استفاده از روش جوشاندن، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) با استفاده از پرایمرهای پیش‌رونده و پس‌رونده (جدول ۱) واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱ میکرولیتر از نمونه DNA، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای پیش‌رونده و پس‌رونده، ۱۲ میکرولیتر 2x master mix (حاوی ۲۰ میکرومولار dNTP و ۱/۵ میکرومولار کلرید منیزیم) ساخت کمپانی آمپلیکون، کشور دانمارک و ۱۱ میکرولیتر آب مقطر انجام شد. برنامه زمانی واکنش زنجیره پلی‌مرز در دستگاه ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) با شرایط دمایی دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، در ۴۰ چرخه شامل دناتوراسیون در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۵ ثانیه، واسرشت پرایمرها در ۶۳-۵۹ درجه سانتی‌گراد به ۳۰ ثانیه و سپس طویل‌سازی ثانویه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه صورت گرفت و محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد.

سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، تیکارسیلین-کلاوونیک‌اسید (۸۵ میکروگرم)، مروینم (۱۰ میکروگرم)، سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم)، نورفلوکساسین (۵ میکروگرم)، پپراسیلین-تازوباکتام (۱۱۰ میکروگرم)، کلیستین (۱۰ میکروگرم) و آزترونم (۳۰ میکروگرم) خریداری شده از شرکت پادتن طب، ایران انجام شد. پس از انکوباسیون محیط کشت‌ها به مدت ۱۸-۱۶ ساعت در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد، هاله عدم رشد اطراف هر یک از دیسک‌ها اندازه‌گیری شد و با توجه به جدول استاندارد CLSI-۲۰۲۱ به سه دسته مقاوم، نیمه‌حساس و حساس دسته‌بندی شدند (۹). از سودوموناس اثرورینوزا/ATCC ۲۷۸۵۳، سودوموناس اثرورینوزا/CTP ۱۰۷۴ و اشرشیاکولی/ATCC ۲۵۹۲۲ به‌عنوان سویه‌های کنترل در تعیین حساسیت دارویی استفاده شد.

۳.۳. شناسایی لاکتوباسیل‌های عسل

به‌منظور جداسازی پروبیوتیک‌های سیزده نمونه عسل از مناطق مختلف ایران (شامل: عسل مرکبات، عسل کوهی فاروج، عسل فیروزکوه، عسل طبیعی موم‌دار، کنارک، عسل آویشن، عسل اردبیل، عسل خارشتر، عسل اکالیپتوس، عسل گون یزد، عسل افاقا، عسل آفتابگردان، عسل گشنیز) ۴۵ گرم از هر نمونه به‌طور جداگانه با ۱۸۰ سی سی از پیپتون‌واتر (۱/۰ وزن/حجم) در یک ارلن تلقیح و در دور ۱۸۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس رسوب حاصله در ۱۰ سی سی MRS برات (مرک، آلمان) مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد

جدول ۱. مشخصات عمومی پرایمرهای مطالعه (۱۰-۱۲)

نام پرایمر	(۵' - ۳') توالی	سایز (جفت‌باز)
Lplan		۲۱۰
F	AAAATCATGCGTGCGGGTAC	
R	ATGTTGCGTTGGCTTCGTCT	
Lacido		۱۵۲
F	GTAATCGTGTTCTACATATACATAG	
R	GGTTATAAAGTTAACAGCATTGTTC	
Lbrevis		۶۴
F	GCAGTTGCCGAGGTCCAA	
R	CCAACGCATTTTCAGCATCA	

(با استفاده از اسید کلریدریک ۱ نرمال) تلقیح شده و پس از کشت در محیط MRS آگار و یک شبانه روز گرمخانه گذاری در ۳۷ درجه سانتی‌گراد چنانچه تعداد کلنی‌های رشد یافته بیشتر از 10^6 واحد تشکیل‌دهنده کلنی/میلی‌لیتر بودند مقاوم به اسید در نظر گرفته شدند.

۴.۳. تعیین خواص پروبیوتیک

برای ارزیابی مقاومت به اسید ترکیب ضد میکروبی پروبیوتیکی، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون لاکتوباسیل‌ها با غلظت نیم مک‌فارلند در ۱۰ سی سی MRS برات در pH = ۴

۵.۳. تعیین اثر ضدباکتریایی لاکتوباسیل ها به روش انتشار دیسک

جهت بررسی اثر مهارى باکتری‌های پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس) روی سوبه‌های سودوموناس آئروژینوزا جداشده از عفونت‌های زخم از روش انتشار دیسک استفاده شد. به‌طوری‌که ابتدا کلنی جدایه‌های لاکتوباسیلوس در محیط MRS برات تلقیح شد و بعد از اضافه کردن پارافین روی محیط‌ها به مدت ۴ روز (فراهم آوردن زمان لازم برای تولید مواد ضد میکروبی) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در داخل جار شمعدار گرمخانه‌گذاری شدند. بعد از گذشت ۴ روز و خروج پارافین از محیط، محتویات لوله‌ها بعد از مخلوط کردن به داخل لوله‌های شیشه‌ای استریل انتقال داده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۲۸۰۰ سانتریفیوژ شد. رسوبات در شرایط استریل حذف و محلول رویی برای ادامه مطالعه نگهداری شد. در ادامه دیسک‌های خالی استریل (قطر = ۶ میلی‌متر) با مایع رویی باکتری‌های پروبیوتیک به مدت ۵ دقیقه آغشته شدند. برای خشک کردن آن‌ها، تمام دیسک‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. پس از کشت سوسپانسیون ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا با غلظت معادل 10^8 واحد تشکیل دهنده کلنی/میلی لیتر روی پلیت‌های حاوی محیط مولر هینتون آگار (مرک، آلمان)، دیسک‌های آغشته به مایع رویی جاگذاری شدند. تمامی پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شده و پس از ۲۴ ساعت، ناحیه مهار رشد پروبیوتیک‌ها علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا اندازه‌گیری شد. قطر هاله عدم رشد کوچکتر از ۷ میلی‌متر مقاوم، قطر هاله عدم رشد ۸ تا ۹ میلی‌متر حساسیت متوسط و قطر هاله عدم رشد بزرگتر از ۱۰ میلی‌متر حساس به پروبیوتیک در نظر گرفته شد (۵) این

بررسی از دیسک‌های کاغذی بلانک به‌عنوان کنترل منفی و از دیسک آنتی‌بیوتیک سفتارولین (ماست، انگلیس) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

۶.۳. روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

پس از جمع‌آوری داده‌ها یافته‌ها در قالب جداول فراوانی نمودار و شاخص‌های عددی ارائه گردید. کلیه اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار SPSS و پیراست ۲۳ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه تعداد بین گروه‌ها با تست مربع کای و واریانس یک‌طرفه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج در سطح معنی‌دار $P < 0.05$ بررسی شد.

۴. نتایج

۱.۴. نتایج مطالعات دموگرافیک

در مجموع از ۲۲۰ نمونه بالینی اخذ شده از انواع سوختگی، کشت مثبت ۵۵ درصدی مشاهده شد که در زمره پاتوژن‌های شناسایی شده، ۲۸/۶۴ درصد جدایه‌ها متعلق به سودوموناس آئروژینوزا بود. مابقی کشت‌های مثبت باکتریایی شامل آسینتوباکتر بومانی (۱۹/۱۲ درصد)، استافیلوکوکوس اورئوس (۸/۳۱ درصد) و استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی (۵ درصد) بود. از ۶۳ جدایه سودوموناس آئروژینوزا، ۲۹ جدایه (۴۶ درصد) از زنان و ۳۴ جدایه (۵۴ درصد) از مردان جدا شد. بیشترین نرخ فراوانی جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا در سنین بالای ۵۰ سال (۵۰/۸۰ درصد)، با درجه سوختگی نوع ۴ (۳۸/۰۹ درصد) با مدت زمان بستری سه هفته (۴۶/۰۳ درصد) دیده شد (جدول ۲). در بررسی آماری هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های سنی و جنسیت دیده نشد ($P = 0.06$).

جدول ۲. مشخصات جمعیت مطالعه و فراوانی جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا^{الف}

متغیرها	گروه‌های سنی	۹ - ۲۵	۲۵ - ۵۰	۵۰ - ۷۸	جمع	X ²	P-Value
جنسیت	زن	۵ (۱۷/۲۴)	۱۰ (۳۴/۴۸)	۱۴ (۴۸/۲۸)	۲۹ (۴۶)	۰/۱۹	۰/۰۶
	مرد	۷ (۲۰/۵۹)	۷ (۲۰/۵۹)	۲۰ (۵۸/۸۲)	۳۴ (۵۴)	۰/۲۴	
درصد سوختگی	درجه دو	۲ (۹/۰۹)	۹ (۴۰/۹۰)	۱۱ (۵۰)	۲۲ (۳۴/۹۲)	۰/۱۷	۰/۰۲
	درجه سه	۰ (۰)	۷ (۴۱/۱۸)	۱۰ (۵۸/۸۲)	۱۷ (۲۶/۹۸)	۰/۱۵	
	درجه چهار	۰ (۰)	۸ (۳۳/۳۳)	۱۶ (۶۶/۶۷)	۲۴ (۳۸/۰۹)	۰/۲۱	
	یک هفته	۵ (۶۲/۵)	۳ (۳۷/۵)	۰ (۰)	۸ (۱۲/۷)	۰/۱۱	
مدت زمان بستری	دو هفته	۵ (۱۹/۲۳)	۷ (۲۶/۹۲)	۶۴ (۵۳/۸۵)	۲۶ (۴۱/۲۷)	۰/۳۰	۰/۰۳
	سه هفته	۲ (۶/۹۰)	۹ (۳۱/۰۳)	۱۸ (۶۲/۰۷)	۲۹ (۴۶/۰۳)	۰/۲۷	

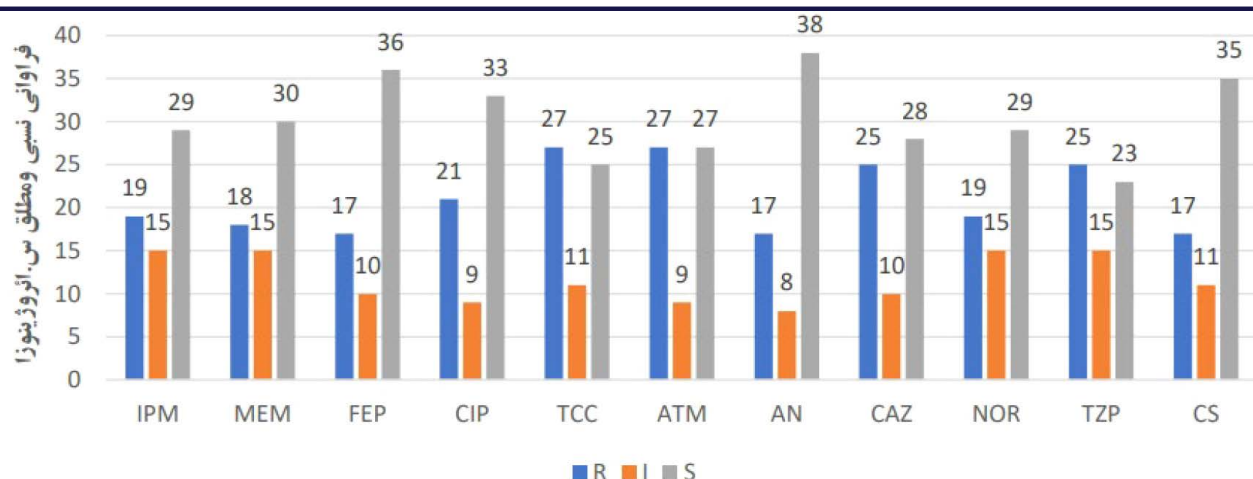
^{الف} مقادیر به صورت تعداد (درصد) بیان می‌شوند.

^ب معنی‌دار بین متغیرهای مطالعه براساس آزمون مربع کای.

۲.۴. نتایج تعیین حساسیت دارویی

در تعیین حساسیت میکروبی در بین ۶۳ جدایه سودوموناس اثرزینوزا نسبت به یازده آنتی‌بیوتیک در هشت کلاس مختلف، بیشترین مقاومت جدایه در برابر آنتی‌بیوتیک‌های

تیکارسیلین-کلاوونیک اسید و آزترونام (۴۲/۸۶ درصد) و بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آمیکاسین (۶۰/۳۲ درصد) مشاهده شد (تصویر ۱). نتایج نشان داد که به ترتیب ۵۵/۵۶ درصد و ۲۳/۸۱ درصد دارای مقاومت چندگانه و مقاومت گسترده بودند.



تصویر ۱. تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در بین جدایه‌های سودوموناس اثرزینوزا. IPM: ایمپی پنم، MEM: مروپنم، FEP: سفپیم، CIP: سیپروفلوکساسین، TCC: تیکارسیلین-کلاوونیک اسید، ATM: آزترونام، AN: آمیکاسین، CAZ: سفنازیدیم، NOR: نورفلوکساسین، TZP: پیپراسیلین-تازوباکتام، CS: کلیستین. R: مقاومت، I: حدواسط، S: حساسیت.

۳.۴. نتایج خواص پروبیوتیک‌ها و عملکرد ضد سودومونایی آن‌ها

در بین سیزده نوع عسل، عسل‌های فیروزکوه و افاقا فاقد هرگونه پروبیوتیکی بودند. در زمره ایزوله‌های پروبیوتیکی، لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و لاکتو باسیلوس پلانتاروم با درصد

یکسان ۶۹/۳۲ درصدی بیشترین فراوانی را نشان دادند. لاکتو باسیلوس برویس با فراوانی ۵۳/۸۵ درصد در رتبه بعدی قرار گرفت (جدول ۳). در تعیین خواص مقاومت به اسید ۸۸/۹۸ درصد سویه‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، ۵۵/۵۶ درصد سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم و ۴۲/۸۶ درصد سویه‌های لاکتوباسیلوس برویس در pH = ۴ مقاومت نشان دادند.

جدول ۳. پراکنش و فراوانی گونه‌های لاکتوباسیل از سیزده نوع عسل

متغیرها	عسل	پروبیوتیک											
مرکبات	کوهی فاروج	آفتابگردان	فیروزکوه	مومدار	کنارک	آویشن	اردبیل	خارشتر	اکالیپتوس	گون	افاقا	گشنیز	
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	
لاکتوباسیلوس گاسری	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	
لاکتوباسیلوس پرویس	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	
لاکتوباسیلوس گالیناروم	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
لاکتوباسیلوس پلانتاروم	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	
لاکتوباسیلوس اینستالیس	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

نتایج انتشار دیسک نشان داد روی تمامی جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزای با مقاومت چندگانه، لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از غسل مرکبات با ایجاد هاله عدم رشد (میانگین ۲۵ میلی‌متر) بهترین خاصیت ضدباکتریایی را دارد. در حالی که صرفاً هفت جدایه از ۱۵ جدایه با مقاومت گسترده (۴۶/۶۷ درصد) را از بین برد. لاکتوباسیلوس برویس با میانگین قطر هاله عدم رشد ۱۹ میلی‌متر و لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس با میانگین قطر هاله عدم رشد ۱۶ میلی‌متر در رتبه‌های بعدی از جهت مهار سویه‌های با مقاومت چندگانه سودوموناس آئروژینوزا قرار گرفتند در صورتی که

قادر به مهار هیچ سویه با مقاومت گسترده نبودند. همانطور که در **جدول ۴** مشاهده می‌شود میانگین قطر هاله عدم رشد ناشی از لاکتوباسیلوس پلانتاروم به مراتب بیشتر (۱/۳ برابر) از اثر پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس برویس و ۱/۶ برابر اثر پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس روی سویه‌های با مقاومت چندگانه سودوموناس آئروژینوزا بود. طوری که ۶۴ درصد جدایه‌های مقاوم به دارو نسبت به مایع رویی لاکتوباسیلوس پلانتاروم حساسیت نشان دادند ($P = 0.029$).

جدول ۴. هاله عدم رشد ناشی از سه پروبیوتیک بر رشد سویه‌های با مقاومت چندگانه سودوموناس آئروژینوزا

پروبیوتیک	انحراف معیار + میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) الف	P-value
لاکتوباسیلوس پلانتاروم	18.2 ± 4.01	0.029
لاکتوباسیلوس پلانتاروم برویس	12.2 ± 3.80	
لاکتوباسیلوس پلانتاروم اسیدوفیلوس	10.1 ± 0.00	

الف مقایسه تعداد بین گروه‌ها به صورت انحراف معیار $\pm$ میانگین با آنالیز واریانس یک طرفه.

۵. بحث

روند بهبود زخم می‌تواند توسط عوامل بی‌شماری از جمله دیابت، عفونت‌های پوستی، تروما و سوختگی به تاخیر بیفتد یا متوقف شود. تعداد بیماران مبتلا به زخم‌های حاصل از سوختگی به دلیل تغییر سبک زندگی و مشکلات پیری به سرعت در حال افزایش است. سوختگی یکی از مخرب‌ترین شرایط پزشکی است که آثار جسمی و روحی آن، تا مدت‌ها برای بیمار باقی می‌ماند. کلونیزاسیون محل زخم توسط پاتوژن‌ها و باکتری‌های فرصت طلب به طور قابل توجهی به مزمن شدن زخم کمک می‌کند. جراحات ناشی از سوختگی در کشور ما بسیار زیاد است که این مطالعه قبلی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و آسینتوباکتر بومانی را به عنوان شایع‌ترین باکتری‌ها در زخم‌های حاصل از سوختگی شناسایی کرده‌اند (۱۳، ۱۴). در این مطالعه فراوانی ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا از زخم‌های سوختگی حدود ۲۹ درصد گزارش شد که بیشتر از فراوانی گزارش شده در منطقه یکسان در سال ۲۰۱۷ است (۱۵).

مطالعات انجام‌شده در همدان در سال ۱۳۸۸ (۱۶)، در سال ۱۳۹۲ اصفهان (۱۷) و در سال ۱۳۹۶ سنندج (۱۸) به ترتیب سویه‌های غالب جدا شده از زخم‌های سوختگی را سودوموناس آئروژینوزا (۷۲/۷ درصد)، سودوموناس آئروژینوزا (۴۴/۶۹ درصد) و استافیلوکوک اورئوس (۵۸ درصد) گزارش کردند.

محققین در مازندران در سال ۱۴۰۲، آسینتوباکتر بومانی با نرخ فراوانی ۳۹/۳ درصد را شایع‌ترین جدایه بیماری‌زای زخم سوختگی ذکر کردند (۱۹). درصد شیوع عوامل باکتریایی ایجادکننده عفونت بعد از سوختگی با توجه به محل عفونت می‌تواند

متفاوت باشد اما آنچه به وضوح قابل مشاهده است این است که در اکثر مطالعات همچون نتایج مطالعه حاضر، سودوموناس آئروژینوزا با فراوانی بیشتری در بروز عفونت‌های سوختگی ظاهر می‌شود که می‌تواند به دلیل کم‌نیاز بودن این باکتری و حضور گسترده‌تر آن به دلیل مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج و ترکیبات ضد عفونی‌کننده باشد (۱، ۵، ۸). گرچه الگوهای مقاومت ضد میکروبی می‌تواند در منطقه و حتی در بیمارستان‌های مختلف در یک جامعه متفاوت باشد. مطالعه حاضر به تعیین فراوانی فوتیپ‌های مقاومت چندگانه و گسترده جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا حاصل از زخم سوختگی در دو استان شمالی کمک کرد. در مقایسه با مطالعاتی در تهران در سال ۱۳۹۴ میزان حساسیت جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا به آمیکاسین با حدود ۶۰ درصد همخوانی داشت (۲۰). در مطالعه دیگر در سال ۱۳۹۵ بیشترین حساسیت نسبت به تیکارسیلین-کلاوونیک اسید (۹۰ درصد) گزارش شد (۲۱). در حالی که در مطالعه حاضر جدایه‌ها نسبت به این آنتی‌بیوتیک مقاومت نسبتاً بالایی (۴۲/۸۶ درصد) نشان دادند. در مطالعه انجام‌شده در اتیوپی نرخ مقاومت به سفنازیدیم (۹۲ درصد) تقریباً دو برابر میزان این مطالعه (۳۹ درصد) بود (۲۲).

در مطالعه حاضر ۵۵/۵۶ درصد و ۲۳/۸۱ درصد دارای مقاومت چندگانه و مقاومت گسترده بودند که در راستای نتایج محققین ایرانی در سال ۱۳۹۴ است (۱۷). در دو مطالعه دیگر در ایران فراوانی سویه‌های با مقاومت چندگانه به ترتیب ۶۰ و ۴۵ درصد گزارش شد (۲۰، ۲۱) که در مقایسه با مطالعات در اسپانیا و ایتالیا کمتر است (۲۳، ۲۴). دلیل اختلاف نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر با دیگر مطالعات می‌تواند دلالی چون اختلاف

استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، اشرشیا کولای و سودوموناس آئروژینوزا شده است (۳۱). در مطالعه‌ای دیگر در فنلاند، عسل‌های ارگانیک موجود در بازار دارای فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی علیه چندین پاتوژن باکتریایی از جمله سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا پنومونیه، سالمونلا تایفی و باسیلوس بوده‌اند (۳۲).

۱.۵. محدودیت‌های پژوهش

پژوهش حاضر با محدودیت‌هایی همراه بود. محدودیت‌های این مطالعه، تعداد کم جدایه‌ها براساس نوع عفونت (لازم به ذکر است بخشی از فرایند نمونه‌گیری در زمان پاندمی کووید-۱۹ بوده است)، سوگیری‌های بالقوه و عدم قابلیت تعمیم به سایر جمعیت‌ها بود. لیکن نقطه قوت مطالعه حاضر پایش و اندازه‌گیری میزان مقاومت دارویی جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا از بخش سوختگی چند بیمارستان در شمال کشور در سال‌های اخیر و تایید پتانسیل آنتی سودوموناسی عسل مرکبات در شرایط آزمایشگاهی است.

۲.۵. نتیجه‌گیری

با توجه به نرخ بالای مقاومت‌های سودوموناس‌ها در بخش‌های مختلف بیمارستانی در دهه اخیر ایران (۳۳، ۳۴) و نتایج مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که تشخیص و نظارت مداوم سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا با مقاومت دارویی بالا برای کاهش تهدید مقاومت ضد میکروبی در ایران لازم است. گرچه در این تحقیق برون‌تنی، به آنالیز بیوشیمیایی عسل پرداخته نشده است لیکن با توجه به خواص ضد سودومونایی مطلوب لاکتوباسیل‌های برخی از عسل‌های بومی ایران و با توجه به عدم سمیت و عوارض جانبی این فراورده طبیعی، می‌توان با تنظیم پروتکل‌های دارویی مناسب به شکل موضعی، عفونت‌های بعد از سوختگی را کنترل نمود. لذا بررسی خواص فیزیکیوشیمیایی و اثرات غیرموضعی عسل‌های با خواص پروبیوتیکی نیز امیدوارکننده به نظر می‌رسد.

مشارکت نویسندگان:

ف.ل. در تدوین مفهوم مطالعه و ویرایش نسخه نهایی مقاله مشارکت داشت. ب.ب. الف. بررسی‌های آزمایشگاهی را انجام داد و داده‌ها را تفسیر کرد. همه نویسندگان نتایج و پیامدها را مورد بحث قرار دادند و نظرات خود را در تمام مراحل ارائه کردند.

تضاد منافع:

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ تضاد منافی وجود ندارد.

بازایی داده‌ها:

مجموعه داده‌های ارائه شده در این مطالعه بنا به درخواست

نقاط جغرافیایی، نوع نمونه بالینی، سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک در بیمار، شرکت سازنده آنتی‌بیوتیک و... داشته باشد. با توجه به این معضل فراگیر ارائه دستورالعمل‌هایی برای استفاده منطقی از ضد میکروبی‌های سیستمیک و جایگزین‌های ضد میکروبی در مدیریت بیماران مبتلا به عفونت سوختگی و زخم منطقی به نظر می‌رسد.

عسل به دلیل قدرت باکتری‌کشی و باکتریواستاتیکی اش روی طیف وسیعی از باکتری‌ها اعم از هوازی و بی‌هوازی، گرم منفی و مثبت تاثیر دارد. ترکیبات موجود در عسل مانند فلاونوئیدها و اسیدهای آروماتیک با حمله به سیتوپلاسم باکتری منجر به از دست دادن یون‌های پتاسیم و آسیب‌های ناشی از تحریک اتولیز سلولی و افزایش نفوذپذیری غشاء باکتری منجر به از دست دادن ظرفیت باکتری برای سنتز ATP می‌شود و همین امر موجب مهار باکتری می‌گردد (۲۵). در این مطالعه، لاکتوباسیلوس پلاتاروم جدا شده از عسل مرکبات بهترین خاصیت ضد باکتریایی علیه جدایه‌های با مقاومت چندگانه سودوموناس آئروژینوزا را نشان داد. به نظر می‌رسد دلیل پتانسیل ضد باکتریایی کمتر این پروبیوتیک روی سودوموناس‌های با مقاومت گسترده، تنوع و ظرفیت بالای مقاومتی چنین سویه‌هایی باشد.

مطالعه صورت گرفته توسط لی و همکارانش در سال ۲۰۲۳ نشان داد پروبیوتیک‌های عسل نه تنها عفونت‌های باکتریایی را کنترل می‌کنند بلکه باعث بهبود زخم نیز می‌شوند (۲۶). در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۶ در تمامی آزمون‌های میکروبی به کاررفته اثر ضد میکروبی و اثر ضد اتصال لاکتوباسیلوس‌ها بر باکتری‌های اشریشیاکلی یوروپاتونیک تایید شد (۲۷). همین محققین در سال ۲۰۲۱ نشان دادند ترکیبات عسل در کنترل عفونت‌های ناشی از جراحی و زخم‌ها، سوختگی‌ها، بیماری‌های چشمی، بیماری‌های پوستی، مشکلات مخاط دهان و نواحی نکروزه موثر است (۲۸). محققین ایرانی در سال ۱۳۹۶ با کمک لاکتوباسیلوس‌های جدا شده از عسل، رشد جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس را مهار کردند (۲۹). مطالعه‌ای دیگر در ایران در سال ۱۳۹۷، اجزای پراکسیدی (هیدروژن پراکسید) و همچنین غیر پراکسیدی (آنتی‌اکسیدان‌ها) موجود در عسل را دلیل ممانعت از رشد شیگلا سونه‌ای، لیستریا منو سیتیوزنز، استافیلوکوکوس اورئوس و با سیلوس سرئوس ذکر کردند (۳۰). همچنین محققین با بررسی اثرات ضد باکتریایی عسل، ارتباط مستقیم بین غلظت عسل و زمان نگهداری با اثرات ضد میکروبی آن (میزان منطقه عدم رشد) را تایید کردند (۲۸). گرچه بسته به نوع عسل این ویژگی می‌تواند متغیر باشد کما اینکه در مطالعه حاضر پروبیوتیک‌های جدا شده از عسل مرکبات بیشترین اثر ضد سودومونایی را نشان دادند. مطالعه انجام شده توسط ماتزن و همکارانش در سال ۲۰۱۸ نشان داد عسل مشتق شده از گل دانمارکی دارای اثر ضد باکتریایی بیشتری هستند به طوری که در همه موارد مانع از رشد استافیلوکوکوس اورئوس،

References

- Mirzaei B, Bazgir ZN, Goli HR, Iranpour F, Mohammadi F, Babaei R. Prevalence of multi-drug resistant (MDR) and extensively drug-resistant (XDR) phenotypes of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated in clinical samples from North-east of Iran. *BMC Res Notes*. 2020;**13**(1):380. [PubMed ID:32778154]. [PubMed Central ID:PMC7418330]. <https://doi.org/10.1186/s13104-020-05224-w>.
- Mei H, Yang T, Wang J, Wang R, Cai Y. Efficacy and safety of tigecycline in treatment of pneumonia caused by MDR *Acinetobacter baumannii*: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2019;**74**(12):3423-31. [PubMed ID:3137765]. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz337>.
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012;**18**(3):268-81. [PubMed ID:21793988]. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>.
- Pachori P, Gothwal R, Gandhi P. Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. *Genes Dis*. 2019;**6**(2):109-19. [PubMed ID:31194018]. [PubMed Central ID:PMC6545445]. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2019.04.001>.
- Hashempour E, Fozouni L, Ahani Azari A. Evaluating Susceptibility of Environmental Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* to Chlorhexidine Gluconate and Aqueous Extract of *Peganum harmala*. *Jorjani Biomed J*. 2021;**9**(3):42-8. <https://doi.org/10.52547/jorjani-biomedj.9.3.42>.
- Lin CF, Lin MY, Lin CN, Chiou MT, Chen JW, Yang KC, et al. Potential probiotic of *Lactobacillus* strains isolated from the intestinal tracts of pigs and feces of dogs with antibacterial activity against multidrug-resistant pathogenic bacteria. *Arch Microbiol*. 2020;**202**(7):1849-60. [PubMed ID:32447432]. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01908-w>.
- Iqbal Z, Ahmed S, Tabassum N, Bhattacharya R, Bose D. Role of probiotics in prevention and treatment of enteric infections: a comprehensive review. *3 Biotech*. 2021;**11**(5):242. [PubMed ID:33968585]. [PubMed Central ID:PMC8079594]. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02796-7>.
- Vit P, Vargas O, Lopez T, Valle F. Meliponini biodiversity and medicinal uses of pot-honey from El Oro province in Ecuador. *Emirates J Food Agriculture*. 2015;**27**(6). <https://doi.org/10.9755/ejfa.2015.04.079>.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. M100: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 31st informational supplement, 31 ed. Illinois, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2021. Available from: <https://clsi.org/shop/standards/m100/>.
- نویسنده مسئول در حین ارسال یا پس از انتشار آن در دسترس است. داده‌ها به دلیل اصول اخلاقی در دسترس عموم قرار ندارند.
- کد اخلاق:
- این مطالعه تحت کد تایید اخلاقی IR.IAU.CHALUS. REC.1401.023 تأیید شده است.
- حمایت مالی و معنوی:
- نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ بودجه‌ای دریافت نکرده‌اند.
- فرم رضایت آگاهانه:
- رضایت آگاهانه از شرکت کنندگان دریافت شده است.
- Yu J, Wang HM, Zha MS, Qing YT, Bai N, Ren Y, et al. Molecular identification and quantification of lactic acid bacteria in traditional fermented dairy foods of Russia. *J Dairy Sci*. 2015;**98**(8):5143-54. [PubMed ID:26004836]. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9460>.
- Xu Y, Xie M, Xue J, Xiang L, Li Y, Xiao J, et al. EGCG ameliorates neuronal and behavioral defects by remodeling gut microbiota and TotM expression in *Drosophila* models of Parkinson's disease. *FASEB J*. 2020;**34**(4):5931-50. [PubMed ID:32157731]. <https://doi.org/10.1096/fj.201903125RR>.
- Ramiah K, van Reenen CA, Dicks LM. Expression of the Mucus Adhesion Gene Mub, Surface Layer Protein Slp and Adhesion-Like Factor EF-TU of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 Under Digestive Stress Conditions, as Monitored with Real-Time PCR. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2009;**1**(1):91. [PubMed ID:26783135]. <https://doi.org/10.1007/s12602-009-9009-8>.
- Fozouni L, Yaghoobpour M, Ahani Azari A. Probiotics in Goat Milk: A Promising Solution for Management of Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Jorjani Biomed J*. 2019;**7**(2):31-8. <https://doi.org/10.29252/jorjani-biomedj.7.2.31>.
- Poudineh F, Ahani Azari A, Fozouni L. Antibacterial Activity of Ethanolic Extract of *Matricaria chamomilla*, *Malva sylvestris*, and *Capsella bursa-pastoris* against Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Strains. *Avicenna J Clin Microbiol Infection*. 2021;**8**(1):23-6. <https://doi.org/10.34172/ajcmi.2021.05>.
- Abasgholizade M, Fozouni L. Antagonistic Effect of Probiotics on Drug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolated From Burn Wound Infection. *Int J Hospital Res*. 2017;**6**(2):104-10. <https://doi.org/10.15171/ijhr.2017.16>.
- Mamani M, Derakhshanfar A, Niayesh A, Hashemi SH, Yousefi MR, Zavar S. [Frequency of bacterial burn wounds infection and antimicrobial resistance in burn center of Bessat hospital of Hamedan]. *Iran J Surg*. 2009;**17**(1). Persian.
- Jafari R, Karbasizade V, Moghim S. [Frequency and resistance patterns of bacterial isolates from burn

- wounds infections in Isfahan, Iran]. *J Isfahan Med Sch*. 2013;**31**(246):1134-40. Persian.
18. Servatyari K, Hamzehpour H, Rasouli MA. [The Prevalence and Types of Burn Wound Infection in the Burn Ward of Tohid Hospital in Sanandaj in 2015: A Short Report]. *J Rafsanjan Univ Med Sci*. 2018;**16**(9):883-90. Persian.
19. Sotudeh M, Gholami M, Goli HR. [Prevalence and Antibiotic Resistance Pattern of Bacteria Causing Burn Wound Infection in Zare Hospital-2019-2020]. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2023;**33**(2):348-53. Persian.
20. Sadari H, Owlia P. Detection of Multidrug Resistant (MDR) and Extremely Drug Resistant (XDR) *P. Aeruginosa* Isolated from Patients in Tehran, Iran. *Iran J Pathol*. 2015;**10**(4):265-71. [PubMed ID:26351496]. [PubMed Central ID:PMC4539747].
21. Shokri D, Rabbani Khorasgani M, Zaghian S, Fatemi SM, Mohkam M, Ghasemi Y, et al. Determination of Acquired Resistance Profiles of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates and Characterization of an Effective Bacteriocin-Like Inhibitory Substance (BLIS) Against These Isolates. *Jundishapur J Microbiol*. 2016;**9**(8). <https://doi.org/10.5812/jjm.32795>.
22. Bitew A. High Prevalence of Multi-Drug Resistance and Extended Spectrum Beta Lactamase Production in Non-Fermenting Gram-Negative Bacilli in Ethiopia. *Infect Dis (Auckl)*. 2019;**12**:1178633719884951. [PubMed ID:31723320]. [PubMed Central ID:PMC6836305]. <https://doi.org/10.1177/1178633719884951>.
23. Morales E, Cots F, Sala M, Comas M, Belvis F, Riu M, et al. Hospital costs of nosocomial multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* acquisition. *BMC Health Serv Res*. 2012;**12**:122. [PubMed ID:22621745]. [PubMed Central ID:PMC3412693]. <https://doi.org/10.1186/1472-6963-12-122>.
24. De Francesco MA, Ravizzola G, Peroni L, Bonfanti C, Manca N. Prevalence of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in an Italian hospital. *J Infect Public Health*. 2013;**6**(3):179-85. [PubMed ID:23668462]. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2012.11.006>.
25. Neveling DP, Endo A, Dicks LM. Fructophilic *Lactobacillus kunkeei* and *Lactobacillus curvi* isolated from fresh flowers, bees and bee-hives. *Curr Microbiol*. 2012;**65**(5):507-15. [PubMed ID:22797888]. <https://doi.org/10.1007/s00284-012-0186-4>.
26. Li M, Xiao H, Su Y, Cheng D, Jia Y, Li Y, et al. Synergistic Inhibitory Effect of Honey and *Lactobacillus plantarum* on Pathogenic Bacteria and Their Promotion of Healing in Infected Wounds. *Pathogens*. 2023;**12**(3). [PubMed ID:36986423]. [PubMed Central ID:PMC10053434]. <https://doi.org/10.3390/pathogens12030501>.
27. Almasaudi SB, Al-Nahari AAM, Abd El-Ghany ESM, Barbour E, Al Muhayawi SM, Al-Jaouni S, et al. Antimicrobial effect of different types of honey on *Staphylococcus aureus*. *Saudi J Biol Sci*. 2017;**24**(6):1255-61. [PubMed ID:28855819]. [PubMed Central ID:PMC5562472]. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.08.007>.
28. Almasaudi S. The antibacterial activities of honey. *Saudi J Biol Sci*. 2021;**28**(4):2188-96. [PubMed ID:33911935]. [PubMed Central ID:PMC8071826]. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.017>.
29. Lashani E, Davoodabadi A, Soltan Dallal MM. [Antimicrobial effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus paracasei* isolated from honey against *Staphylococcus aureus*]. *J Babol Univ Med Sci*. 2018;**20**(3):44-9. Persian.
30. Yavarpour V, Zarabi M, Esmaeili D, Mohamadnejad J. [In vitro evaluation of antibacterial efficacy of natural honeys in comparison with antibiotics on *Pseudomonas aeruginosa*]. *Iran J Med Microbiol*. 2014;**8**(1). Persian.
31. Matzen RD, Zinck Leth-Espensen J, Jansson T, Nielsen DS, Lund MN, Matzen S. The Antibacterial Effect In Vitro of Honey Derived from Various Danish Flora. *Dermatol Res Pract*. 2018;**2018**:7021713. [PubMed ID:30018636]. [PubMed Central ID:PMC6029468]. <https://doi.org/10.1155/2018/7021713>.
32. Obey JK, Ngeiywa MM, Lehesvaara M, Kauhanen J, von Wright A, Tikkanen-Kaukanen C. Antimicrobial activity of commercial organic honeys against clinical isolates of human pathogenic bacteria. *Organic Agriculture*. 2022;**12**(2):267-77. <https://doi.org/10.1007/s13165-022-00389-z>.
33. Mirhoseini SH, Nikaeen M, Shamsizadeh Z, Aali R. [Prevalence and molecular identification of antibiotic resistant airborne bacteria at intensive care units]. *Koomesh*. 2018;**20**(4):772-8. Persian.
34. Havasian MR, Panahi J, Mahdieh N. [Cystic fibrosis and distribution and mutation analysis of CFTR gene in Iranian patients]. *Koomesh*. 2014;**15**(4):431-40. Persian.

Research Article

Assessment of Anti-Pseudomonal Potency of Honey Lactobacilli on the Drug-resistant Strains of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from the Burn Ward

Bent-Alhoda Barzegar¹, Leila Fozouni^{1,*}, Teena Dadgar¹

¹Department of Microbiology, Go.C., Islamic Azad University, Gorgan, Iran

*Corresponding Author: Department of Microbiology, Go.C., Islamic Azad University, Gorgan, Iran. Email: lili_kia@yahoo.com

Received 22/09/2024; Accepted 07/11/2024

Abstract

Background: *Pseudomonas aeruginosa* is one of the most common gram-negative bacteria causing nosocomial and post-burn infections. Excessive use and abuse of antibiotics have led to the creation of multidrug-resistant bacteria and increased mortality in patients.

Objectives: This study was conducted to determine the prevalence of *Ps. aeruginosa* strains with multi-drug-resistant (MDR)/extensively drug-resistant (XDR) phenotypes and to investigate the inhibitory effects of honey lactobacilli on these isolates.

Methods: Using microbiological and biochemical tests, the *Ps. aeruginosa* strains were identified from 220 post-burn wound samples from hospitalized patients. The Kirby-Bauer test was performed to determine resistance phenotypes according to CLSI2021-guidelines. After isolating thirteen types of honey probiotics by phenotypic and molecular methods, their antagonistic properties were evaluated by the disk diffusion method.

Results: A total of 63 (%28.64) isolates of *Ps. aeruginosa* were identified. Most positive samples of *Ps. aeruginosa* were isolated from patients with type 4 burns (38.09%). The results showed that 55.56% and %23.81 had MDR and XDR phenotypes, respectively. The highest sensitivity was observed to amikacin (60.32%). The results of disk diffusion showed that the average diameter of the non-growth zone caused by *Lactobacillus plantarum* (25 mm) on all isolates of MDR *Ps. aeruginosa* was 1.3-fold more than the probiotic effect of *Lactobacillus brevis* and 1.6 times more than the probiotic effect of *L. acidophilus*.

Discussion: *Lactobacillus plantarum* isolated from citrus fruits' honey has a higher antibacterial potential on MDR *Ps. aeruginosa* isolates compared to other *Lactobacillus* species and other types of honey. More research is needed to confirm the effectiveness of honey lactobacilli for skin disinfection of hospitalized patients with burn infections.

Keywords: Drug Resistance, *Pseudomonas aeruginosa*, Honey, Probiotics, Burns