JEHE Journal of Environmental Health Engineering , 2026; 14(2):240-256 Systematic Review Article
Alborz University of Medical Sciences

An Analytical Review of Laboratory Methods for Evaluating Antibacterial Activity: Principles, Limitations, and Applications

Received: 06 July 2026, Accepted: 05 September 2026

Hadis Tavafi[1,2*], Narges Tork[3]

[1] *Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of science, Malayer University, Malayer, Iran*
[2] *Assistant Professor, Department of Biothechnology, Faculty of Interdisciplinary science and Technology, Malayer University, Malayer, Iran*
[3] *Master's degree, Industrial Microbiology, Razi University of Kermanshah, Iran*

***Corresponding Author:**
h.tavafi@malayeru.ac.ir

How to Cite This Article:
Tavafi H, Tork N. An Analytical Review of Laboratory Methods for Evaluating Antibacterial Activity: Principles, Limitations, and Applications. Journal of Environmental Health Engineering. 2026;14(2):240-56.

DOI:

ABSTRACT

Background: One of the most important global health crises is the increase in antimicrobial resistance, especially among multidrug-resistant bacteria, which further highlights the need for accurate and reproducible laboratory methods to assess the efficacy of antimicrobial agents.

Materials and Methods: This review was conducted to compare standard laboratory methods used to evaluate antimicrobial activity, including disk diffusion (Kirby-Bauer) and broth microdilution, focusing on their applications, advantages, and limitations.

Results: Due to its high accuracy and quantitative results, the broth microdilution method is considered one of the most important reference methods and a recognized standard for determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC). Disk diffusion offers simplicity and cost-effectiveness for routine clinical laboratories, while agar dilution is suitable for testing large numbers of isolates. Emerging challenges such as biofilm formation require specialized assays, which are briefly discussed.

Conclusion: The selection of an appropriate method for antimicrobial susceptibility testing depends on laboratory resources and the need for quantitative versus qualitative data. These advanced approaches are expected to play a pivotal role in the future of antimicrobial therapy. Each method has its own strengths and limitations, and their complementary use is essential to advance our understanding of antibiotic resistance, improve clinical outcomes, and provide appropriate laboratory methods to prevent antimicrobial resistance.

Keywords: Antimicrobial susceptibility testing, Disk diffusion, Multidrug resistance, Microdilution broth

[Downloaded from jehe.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

Copyright © 2026 The Authors.
Published by Alborz University of Medical Sciences
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International License. (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).Non-commercial uses of the work are permitted,provided the original work is properly cited.

JEHE Alborz University of Medical Sciences مجله مهندسی بهداشت محیط، دوره ۱۴، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۵، صفحات ۲۴۰ تا ۲۵۶

مقاله مرور ساختاریافته

مروری تحلیلی بر روش‌های آزمایشگاهی ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی: اصول، محدودیت‌ها و کاربردها

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۵/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۱۴

حدیث طوافی[۲،۱*]، نرگس ترک[۳]

[۱] استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران

[۲] استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های میان‌رشته‌ای، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران

[۳] کارشناسی ارشد، میکروبیولوژی صنعتی، دانشگاه رازی کرمانشاه، ایران

***پست الکترونیکی نویسنده مسئول:**
h.tavafi@malayeru.ac.ir

نحوه استناد به این مقاله:
Tavafi H, Tork N. An Analytical Review of Laboratory Methods for Evaluating Antibacterial Activity: Principles, Limitations, and Applications. Journal of Environmental Health Engineering. 2026;14(2):240-56.

DOI:

چکیده

زمینه و هدف: یکی از مهمترین بحران‌های سلامت جهانی، افزایش مقاومت ضدمیکروبی، به ویژه در میان باکتری‌های مقاوم به چند دارو است که نیاز به روش‌های آزمایشگاهی دقیق و تکرارپذیر برای ارزیابی اثربخشی عوامل ضدمیکروبی را بیش از پیش برجسته می‌کند.

مواد و روش ها: این بررسی با هدف مقایسه روش‌های آزمایشگاهی استاندارد مورد استفاده برای ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی، از جمله انتشار دیسک (کربی-بائر) و روش‌های میکرودایلوشن براث، با تمرکز بر کاربردها، مزایا و محدودیت‌های آنها انجام شد.

یافته ها: روش میکرودایلوشن براث به دلیل دقت بالا و نتایج کمی، یکی از مهمترین روش‌های مرجع و استاندار معتبر برای تعیین حداقل غلظت مهاری Minimum Inhibitory Concentration (MIC) در نظر گرفته می‌شود. انتشار دیسک، سادگی و مقرون به صرفه بودن را برای آزمایشگاه‌های بالینی معمول ارائه می‌دهد، در حالی که رقت در آگار برای آزمون تعداد زیادی از جدایه‌ها مناسب است. چالش‌های نوظهور مانند تشکیل بیوفیلم نیاز به سنجش‌های تخصصی دارد که به طور خلاصه مورد بحث قرار می‌گیرند.

نتیجه گیری: انتخاب یک روش مناسب برای آزمون حساسیت ضدمیکروبی به منابع آزمایشگاهی و نیاز به داده‌های کمی در مقابل داده‌های کیفی بستگی دارد. انتظار می‌رود این رویکردهای پیشرفته نقش محوری در آینده درمان ضدمیکروبی ایفا کنند. هر روش نقاط قوت و محدودیت‌های خاص خود را دارد و استفاده مکمل از آنها برای پیشبرد درک ما از مقاومت آنتی‌بیوتیکی، بهبود نتایج بالینی و ارائه روش‌های آزمایشگاهی مناسب برای جلوگیری از مقاومت ضدمیکروبی، ضروری است.

واژه های کلیدی: آزمون حساسیت ضدمیکروبی، انتشار دیسک، مقاومت چند دارویی، میکرودایلوشن براث

[Downloaded from jehe.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

مقدمه

باکتری‌های بیماری‌زا در محیط زیست فراگیر هستند و می‌توانند به سرعت گسترش یافته و عواقب شدیدی برای سلامتی، از جمله اثرات طولانی‌مدت یا حتی مرگ و میر، ایجاد کنند[1]. یکی از چالش‌های مهم در سلامت عمومی، ظهور سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک است که تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار دارند. جهش‌های ژنتیکی یکی از دلایل اصلی در نظر گرفته می‌شوند، زیرا باکتری‌ها به طور طبیعی در ژنوم خود دچار جهش می‌شوند که می‌تواند منجر به مقاومت آنتی‌بیوتیکی شود. علاوه بر این، انتقال افقی ژن‌های مقاومت نیز در گسترش سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در بین باکتری‌ها بسیار مهم است. تولید آنزیم‌هایی مانند بتالاکتامازها، که می‌توانند ساختار آنتی‌بیوتیک‌ها را تجزیه کنند، یکی دیگر از استراتژی‌های بیولوژیکی است که توسط باکتری‌ها برای مقاومت در برابر درمان به کار گرفته می‌شود[2، 3]. مقاومت در چندین گونه باکتریایی علاوه بر این از طریق تشکیل بیوفیلم، یک مانع فیزیکی که در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها محافظت می‌کند، بیشتر می‌شود[4]. به طور قابل توجهی، استفاده بیش از حد یا سوء استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های انسانی به عنوان یک فشار انتخابی بر باکتری‌ها عمل می‌کند و به طور قابل توجهی در گسترش مقاومت نقش دارد[5]. با توجه به نگرانی جهانی در مورد مقاومت آنتی‌بیوتیکی، روش‌های آزمایشگاهی دقیق که قادر به شناسایی سریع و دقیق عوامل بیماری‌زا و الگوهای مقاومت آنها باشند، برای تشخیص ضروری هستند و باید استراتژی‌های درمانی با دقت تنظیم شده تجویز شوند. ظهور ایزوله‌های مقاوم به چند دارو multidrug-resistant (MDR) در عفونت‌های انسانی، این چالش را پیچیده‌تر می‌کند و توانایی پزشکان را در تجویز درمان‌های ضدمیکروبی مؤثر به طور قابل توجهی محدود می‌کند. با این وجود، استراتژی‌های درمانی جایگزین به شدت مورد نیاز هستند[6].

به منظور سنجش فعالیت ضدمیکروبی، تکنیک‌های آزمایشگاهی برای ارزیابی اثربخشی مواد در مهار یا کشتن میکروارگانیسم‌هایی مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها و انگل‌ها ضروری هستند. این سنجش‌ها به تعیین اینکه ترکیبات مختلف، از جمله داروها، محصولات طبیعی و سایر عوامل شیمیایی، چقدر می‌توانند با عفونت‌های ناشی از میکروارگانیسم‌های مضر مبارزه کنند، کمک می‌کنند. این فرآیند معمولاً شامل قرار دادن میکروارگانیسم‌ها در معرض غلظت‌های مختلف ماده مورد نظر و مشاهده اثرات آن بر رشد میکروبی است. مهار معمولاً با عدم رشد یا با کمی کردن کاهش تعداد میکروارگانیسم‌های زنده، اندازه‌گیری می‌شود. توانایی یک ماده در کشتن میکروارگانیسم‌ها را می‌توان با ارزیابی کاهش تعداد میکروبی در طول زمان نیز ارزیابی کرد. علاوه بر ارزیابی اثربخشی ضدمیکروبی، این سنجش‌ها به تعیین غلظت مؤثر یک ماده و همچنین زمان لازم برای اعمال اثرات آن کمک می‌کنند[7، 8]. بدین منظور، مفاهیمی در خصوص ارزیابی‌های درمانی وجود دارند که فهم آنها لازم است. از جمله این مفاهیم، آزمون حساسیت ضدمیکروبی Antimicrobial Susceptibility Testing (AST) است که به آزمون حساسیت ایزوله‌های بالینی به آنتی‌بیوتیک‌های مشخص گفته می‌شود و هدف آن هدایت درمان است. اصطلاح فعالیت ضد میکروب Antimicrobial activity ، مفهومی گسترده‌تر است و شامل ارزیابی هر ماده (آنتی‌بیوتیک، عصاره، نانوذره) علیه هر میکروارگانیسم (باکتری، قارچ، ویروس) است و فعالیت ضد باکتریایی Antibacterial activity، صرفاً به اثر ضدباکتریایی محدود می‌شود.

یک رویکرد بالقوه، ترکیب هم‌افزایی عوامل ضدمیکروبی است که می‌تواند اثربخشی آنها را افزایش داده و عوارض جانبی را کاهش دهد. مطالعات نشان داده‌اند که ترکیب آنتی‌بیوتیک‌ها با ترکیبات طبیعی مانند روغن‌های ضروری و عصاره‌های گیاهی ممکن است با هدف قرار دادن

[Downloaded from jehe.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

باکتری‌ها از طریق مکانیسم‌های متعدد، نتایج درمانی را بهبود بخشد. علاوه بر این، فناوری نانو با ارائه راه‌حل‌های نوآورانه برای غلبه بر مکانیسم‌های مقاومت سنتی، مرز امیدبخشی را در درمان ضدمیکروبی ارائه می‌دهد. این استراتژی‌ها ممکن است نقش مهمی در پرداختن به چالش رو به رشد عفونت‌های باکتریایی داشته باشند. به طور کلی، سنجش‌های فعالیت ضدمیکروبی ابزارهای حیاتی در توسعه داروها و درمان‌های جدید برای مقابله با عفونت‌ها و مقاومت میکروبی هستند[1، 9].

دو سازمان بزرگ، موسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) در ایالات متحده و کمیته اروپایی آزمون حساسیت ضدمیکروبی European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) در اروپا، برای استانداردسازی روش‌های AST و ارائه پروتکل‌های استاندارد برای اطمینان از تکرارپذیری بین آزمایشگاهی اقدام کرده‌اند[10، 11]. با این حال، روش‌های مرسوم AST اغلب محدودیت‌هایی در تشخیص مقاومت دارند که می‌تواند منجر به شکست درمان، علیرغم حساسیت ظاهری در آزمایش‌های معمول شود[12]. علاوه بر این، شیوع فزاینده پاتوژن‌های MDR، نیاز به روش‌های سریع AST را تشدید کرده است که می‌توانند نتایج را در عرض چند ساعت به جای چند روز ارائه دهند[13]. در این بررسی، روش‌های آزمایشگاهی موجود برای ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عوامل ضدمیکروبی را بررسی شد. روش‌های آزمایشگاهی رایج برای بررسی فعالیت ضدبیوفیلم عوامل ضدمیکروبی نیز به طور خلاصه شرح داده شده‌اند.

روش جستجو

این مطالعه، یک مطالعه ی مروری است. جستجوی منابع در پایگاه‌هایPubMed، Scopus، Web of Scienceو Google Scholar با کلیدواژه‌های آزمون حساسیت ضد میکروبی (antimicrobial susceptibility testing)، انتشار دیسک (disk diffusion)، میکرودایلوشن مایع (broth microdilution)، E-test، آزمون زمان مرگ (time-kill assay)، آزمون بیوفیلم (biofilm assay) و معادل‌های فارسی آنها انجام شد. همچنین محدوده زمانی از سال ۲۰۰۰ تا ۲۰۲۶ در نظر گرفته شد. معیارهای ورود شامل: مطالعات بنیادی، مرورهای نظام‌مند و دستورالعمل‌های CLSI/EUCAST بود و معیارهای خروج شامل: مطالعات فاقد داده روش‌شناختی کافی و مقالات بدون دسترسی به متن کامل بود و در نهایت ۸۱ منبع وارد مطالعه شد.

سنجش فعالیت ضدمیکروبی

سنجش‌های فعالیت ضدمیکروبی نقش مهمی در شناسایی و ارزیابی پتانسیل درمانی داروها و عوامل ضدمیکروبی ایفا می‌کنند. آزمون حساسیت ضدمیکروبی، به نظارت بر مقاومت ضدمیکروبی کمک می‌کند و همچنین مقاومت ایزوله‌های بالینی را در بیمار در طول درمان تعیین می‌کند[14]. روش‌های مختلفی برای اندازه‌گیری فعالیت ضدمیکروبی استفاده می‌شود، از جمله انتشار در آگار و سنجش‌های میکروپلیت. این سنجش‌ها نه تنها برای ارزیابی فعالیت ترکیبات ضدمیکروبی جدید، بلکه برای تشخیص الگوهای مقاومت ضدمیکروبی و درک تغییرات در حساسیت باکتریایی نیز استفاده می‌شوند. با توجه به پیچیدگی و تنوع عوامل میکروبی، سنجش‌های فعالیت ضدمیکروبی باید با دقت طراحی شوند تا نتایج معتبر و تکرارپذیر تضمین شوند[15، 16]. روش‌های مختلف AST وجود دارد که برای تعیین حساسیت باکتری‌ها با مشاهده رشد باکتری‌ها روی صفحات آگار جامد یا در محیط‌های مایع حاوی آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده می‌شوند. در ادامه، این روش‌ها توضیح داده شده و مقایسه می‌شوند.

روش‌های تعیین MIC و MBC

در این بخش روش‌های اصلی تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی Minimum Inhibitory (MIC) Concentration و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC)

[Downloaded from jehe.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

Minimum Bacteriocidal Concentration به ترتیب از ساده‌ترین به دقیق‌ترین روش معرفی و مقایسه می‌شوند.

انتشار دیسک Disk diffusion

یکی از این روش‌های میکروبی برمبنای آگار، آزمون انتشار دیسک یا آزمون کربی-بائر است که یک تکنیک رایج مورد استفاده در آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی بالینی است، زیرا نمایش خوبی از رشد باکتری‌ها در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) ارائه می‌دهد. این روش امکان شناسایی الگوهای رشد و تعامل بین آنتی‌بیوتیک‌ها را فراهم می‌کند[17]. در این روش، دیسک‌های کاغذی آغشته به غلظت‌های خاصی از آنتی‌بیوتیک‌ها روی یک صفحه آگار که از قبل با سوسپانسیون باکتریایی استاندارد تلقیح شده است، قرار می‌گیرند. پس از انکوباسیون (۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتیگراد)، هاله‌های عدم رشد اطراف هر دیسک بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری می‌شوند و به عنوان نشان دهنده حساسیت، حساسیت متوسط یا مقاومت سویه به آنتی‌بیوتیک طبق استانداردهای ارائه شده توسط CLSI یا EUCAST[12، 18] تفسیر می‌شوند.

با وجود استفاده گسترده، روش انتشار دیسک محدودیت‌های متعددی دارد. این روش فقط نتایج کیفی یا نیمه کمی (قطر هاله) را به جای مقدار دقیق MIC ارائه می‌دهد. علاوه بر این، این روش برای ارگانیسم‌های کند رشد یا سخت رشد مناسب نیست و نتایج می‌تواند تحت تأثیر تغییرات در عمق آگار، pH و محتوای کاتیون قرار گیرد[19]. همچنین عواملی مؤثر بر قطر هاله عدم رشد تاثیر گذار هستند که می توان به غلظت تلقیح، محیط کشت، ضخامت آگار، قدرت انتشار ماده، اندازه دیسک، شرایط و زمان انکوباسیون و ویژگی‌های ذاتی ماده ضدمیکروبی اشاره کرد. در مورد مقاومت آنتی‌بیوتیکی، شواهد اخیر نشان می‌دهد که انتشار دیسک ممکن است در تشخیص زیرجمعیت‌های مقاوم با فراوانی پایین ناموفق باشد و بنابراین روش‌های مولکولی یا پروفایل تجزیه و تحلیل جمعیت Population Analysis Profiling (PAP) همچنان استاندارد طلایی برای تشخیص مقاومت ناهمگن هستند[20]. با این حال، انتشار دیسک برای تشخیص فنوتیپ‌های مقاوم رایج مانند استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Methicillin، انتروکوک‌های مقاوم به ونکومایسین Vancomycin Resistant *Enterococci* (VRE) و تولیدکنندگان بتالاکتاماز طیف گسترده Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) در صورت استفاده طبق توصیه‌های EUCAST[21، 22] قابل اعتماد است.

E-Test

E-Test (Epsilometer Test) یک روش گرادیان نمایی انتشار (gradient diffusion) برای تعیین مقاومت ضدمیکروبی و حساسیت میکروارگانیسم‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها است. این روش به نواری با گرادیان غلظت آنتی‌بیوتیک نیاز دارد که روی محیط آگار تلقیح شده با جدایه‌های باکتریایی مقاوم قرار داده شده است. با پخش شدن داروها از نوار، یک گرادیان در آگار تشکیل می‌شود که یک هاله مهاری ایجاد می‌کند که پس از انکوباسیون به مدت یک شب، قابل اندازه‌گیری است. هاله مهاری به شکل بیضوی ظاهر می‌شود و لبه نقطه تقاطع پایینی با نوار، مقدار MIC آن آنتی‌بیوتیک را نشان می‌دهد. از این رو، این آزمون هم ارزیابی کمی و هم کیفی از اثر آنتی‌بیوتیک علیه باکتری‌های خاص را دارد[23]. E-Test یکی از محبوب‌ترین ابزارها برای آزمایشگاه‌های درگیر در تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی است. این روش مزیت ارائه MIC دقیق را در عین حفظ سادگی روش‌های مبتنی بر آگار ارائه می‌دهد[24].

میکرودایلوشن براث

MIC و MBC پارامترهای اساسی در آزمون حساسیت ضدمیکروبی هستند و بینش‌های مهمی در مورد اثربخشی آنتی‌بیوتیک‌ها در برابر باکتری‌ها ارائه می‌دهند[25]. MIC به عنوان کمترین غلظت یک عامل ضدمیکروبی مورد نیاز برای

[Downloaded from jehe.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

مهار رشد قابل مشاهده باکتری پس از یک دوره انکوباسیون مشخص تعریف می‌شود. این مقدار با استفاده از تکنیک میکرودایلوشن در محیط کشت براث تعیین می‌شود، همانطور که توسط دستورالعمل‌هایی مانند CLSI توصیه شده است. این روش شامل رقیق‌سازی‌های متوالی عامل ضدمیکروبی در یک محیط مایع و به دنبال آن تلقیح باکتری و انکوباسیون است. آزمون میکرودایلوشن به دلیل سادگی، سرعت و قابلیت اطمینان آن، به ویژه هنگامی که مهار باکتریایی برای درمان کافی است، به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد. از نظر بالینی، تعیین MIC با شناسایی دوز مؤثر مورد نیاز برای سرکوب رشد باکتری بدون ایجاد سمیت، در بهینه‌سازی درمان آنتی‌بیوتیکی بسیار مهم است. همچنین یک نقطه مرجع حیاتی در مطالعات فارماکوکینتیک/فارماکودینامیک (PK/PD) pharmacokinetic/pharmacodynamic، به ویژه برای آنتی‌بیوتیک‌های وابسته به زمان مانند بتالاکتام‌ها است، که در آن‌ها حفظ غلظت دارو بالاتر از MIC برای مدت زمان کافی برای موفقیت درمانی ضروری است[۲۵، ۲۶].

MBC نشان دهنده کمترین غلظت یک عامل ضد میکروبی مورد نیاز برای دستیابی به کاهش ۹۹/۹ درصدی تعداد باکتری‌ها است. این مقدار با کشت مجدد باکتری‌ها از چاهک‌های سنجش MIC روی آگار بدون آنتی‌بیوتیک تعیین می‌شود. آزمونMBC به ویژه در مدیریت عفونت‌های شدید مانند اندوکاردیت، منتژیت و استئومیلیت، که در آن‌ها ریشه‌کنی کامل باکتری‌ها بسیار مهم است، ارزشمند است. اگرچه آزمونMBC بینش عمیق‌تری در مورد فعالیت باکتری‌کشی ارائه می‌دهد، اما تفسیر آن پیچیده‌تر، زمان‌برتر و چالش‌برانگیزتر است، به ویژه برای آنتی‌بیوتیک‌هایی که بسته به غلظت، خواص دوگانه باکتریواستاتیک و باکتری‌کشی دارند. نسبت MIC به MBC، یک شاخص تقریبی است و عوامل روش شناختی متعددی بر آن اثر می گذارند. تفسیر نسبت MIC به MBC، به وابستگی MBC به شرایط آزمون (مانند نوع محیط کشت، حجم نمونه برداری از چاهک‌ها، زمان و دمای گرماگذاری، چگالی نهایی تلقیح و روش‌های شمارش)، پدیده ی تحمل (در برخی جدایه‌ها، MBC بسیار بالاتر از MIC است بدون اینکه مقاومت به آنتی‌بیوتیک وجود داشته باشد) و محدودیت در ترکیبات نوین مربوط است. علاوه بر این، تحقیقات نشان می‌دهد که غلظت‌های زیر MIC آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توانند به طور قابل توجهی بر رفتار باکتری‌ها تأثیر بگذارند. در سطوح زیر MIC، آنتی‌بیوتیک‌ها ممکن است بیان ژن را تغییر دهند، حدت را افزایش دهند و تشکیل بیوفیلم را تقویت کنند. برای مثال، مشاهده شده است که سطوح زیر MIC سیپروفلوکساسین، تولید بیوفیلم را در سودوموناس آئروژینوزا تحریک می‌کند و چالش‌هایی را در درمان عفونت‌های مرتبط با بیوفیلم ایجاد می‌کند[۲۷]. تعیین دقیق MIC و MBC نیز در زمینه MDR بسیار مهم است. ردیابی تغییرات در مقادیر MIC در طول زمان می‌تواند نشان‌دهنده ظهور مقاومت باشد، در حالی که داده‌های MBC بینش‌هایی در مورد امکان دستیابی به ریشه‌کنی باکتری‌ها با وجود مکانیسم‌های مقاومت ارائه می‌دهند[۲۸، ۲۹]. جمع‌آوری داده‌های MIC در سطح جهانی، امکان استانداردسازی نقاط شکست بالینی و مقادیر حد آستانه اپیدمیولوژیک Epidemiological Cut Off values (ECOFFs) را فراهم می‌کند و ثبات و قابلیت اطمینان آزمایش‌های ضدمیکروبی را افزایش می‌دهد. سیستم‌هایی که توسط EUCAST توسعه یافته‌اند، روش‌های MIC را برای همسو شدن با استانداردهای بین‌المللی هماهنگ می‌کنند و تصمیم‌گیری درمانی و فرآیندهای نظارتی را در سراسر جهان بهبود می‌بخشند[۲۱]. بنابراین، MIC و MBC ابزارهای ضروری در تحقیقات ضدمیکروبی و بالینی هستند و استراتژی‌های درمانی مؤثر را تضمین می‌کنند و در عین حال خطرات توسعه مقاومت را کاهش می‌دهند. ادغام آنها در رویکردهای درمانی برای پرداختن به چالش جهانی رو به رشد مقاومت به آنتی‌بیوتیک

[Downloaded from jehe.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

(AMR) Antimicrobial Resistance بسیار مهم است[30].

روش‌های تعیین MIC/MBC صرفاً اثر ضدباکتریایی را نشان می‌دهند. برای درک دینامیک اثر در طول زمان، از سنجش‌های مکمل مانند سنجش زمان مرگ (time-kill assay) استفاده می‌شود.

سنجش زمان مرگ

روش زمان مرگ یک تکنیک آزمایشگاهی است که برای ارزیابی فعالیت باکتری‌کشی عوامل ضدمیکروبی در برابر یک یا چند سویه باکتریایی استفاده می‌شود. در این روش، زنده‌مانی باکتری در فواصل زمانی مختلف (معمولاً از ۰ تا ۲۴ ساعت) اندازه‌گیری می‌شود و داده‌ها به صورت منحنی زمان مرگ روی یک نمودار نیمه لگاریتمی رسم می‌شوند. این آزمون معمولاً با استفاده از صفحات میکروتیتر ۹۶ چاهکی انجام می‌شود و داده‌های کمی و کیفی دقیقی در مورد اثرات ضدمیکروبی و پتانسیل مقاومت باکتریایی ارائه می‌دهد[31]. آزمایش‌های زمان مرگ، یک روش ضروری و کاربردی برای ارزیابی اثرات ضدمیکروبی داروها بر رشد باکتری در طول زمان است. این روش‌ها امکان مطالعه جامع دوره زمانی PK و PD، از جمله ارزیابی نرخ رشد خالص باکتری، اثرات باکتری‌کشی عوامل ضدمیکروبی و ایجاد مقاومت باکتریایی را فراهم می‌کنند. آزمایش‌های زمان مرگ، داده‌های کمی و کیفی حیاتی را ارائه می‌دهند که فراتر از MIC هستند و شرح مفصلی از اثرات وابسته به غلظت دارو ارائه می‌دهند. این روش‌ها برای شرایط آزمایشگاهی (in vitro) بسیار مناسب هستند و امکان مطالعه طیف وسیعی از غلظت‌های ضدمیکروبی و ارزیابی سویه‌های مقاوم یا حساس مختلف، مانند نایسریا گونوره‌آ، را فراهم می‌کنند. در سویه‌های مقاوم، جهش‌های ژنتیکی در ژن‌های خاص ممکن است اثربخشی دارو را حتی در دوزهای بالا کاهش دهند. علاوه بر این، می‌توان از منحنی‌های زمان مرگ، برای بررسی پدیده‌هایی مانند تشکیل سلول‌های پایدار یا سازگاری فیزیولوژیکی باکتری‌ها استفاده کرد[32، 33]. یکی از مزایای کلیدی روش زمان مرگ نسبت به تعیین MIC مرسوم، توانایی آن در تشخیص اثرات سینرژیک یا آنتاگونیستی دو یا چند عامل ضدمیکروبی است[8].

مقایسه و ارزیابی مزایا و محدودیت روش‌ها

ارزیابی حساسیت باکتریایی به آنتی‌بیوتیک‌ها جنبه‌ای حیاتی از میکروبیولوژی بالینی است و روش‌هایی مانند انتشار دیسک به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند. این روش‌ها از نظر دقت، هزینه، پیچیدگی و کاربرد تفاوت قابل توجهی دارند. روش انتشار دیسک یک تکنیک کیفی یا نیمه کمی است که حساسیت آنتی‌بیوتیکی را با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های آغشته به آنتی‌بیوتیک ارزیابی می‌کند. این روش ساده، مقرون به صرفه و مناسب برای آزمون‌های معمول است. با این حال، دقت آن کمتر از آزمونMIC است و نتایج آن ممکن است همیشه با مقادیر MIC کاملاً مطابقت نداشته باشد. علاوه بر این، چالش‌های خاصی، مانند لبه‌های دو ناحیه‌ای مشاهده شده در برخی از گونه‌های بی‌هوازی، می‌تواند تفسیر نتایج را پیچیده کند. در حالی که روش MIC برای آزمون دقیق حساسیت ترجیح داده می‌شود، روش انتشار دیسک برای استفاده معمول و نظارت در مقیاس بزرگ بر مقاومت آنتی‌بیوتیکی مناسب‌تر است. به طور کلی، هر دو روش نقش‌های متمایزی دارند و باید بر اساس الزامات آزمایشگاهی، محدودیت‌های بودجه و سطح دقت مورد نظر انتخاب شوند. از سوی دیگر، آزمونMIC یک رویکرد بسیار کمی و دقیق است که غلظت دقیق آنتی‌بیوتیک مورد نیاز برای مهار رشد باکتری را تعیین می‌کند. این روش به ویژه برای شناسایی مکانیسم‌های مقاومت جدید یا ارزیابی آنتی‌بیوتیک‌های جدید مفید است. با این حال، هزینه بالا و ماهیت منابع‌بر آن، کاربرد معمول آن را محدود می‌کند[20].

مطالعات اخیر محدودیت‌های این روش‌ها را در ارزیابی آنتی‌بیوتیک‌های خاص برجسته کرده‌اند. به عنوان مثال، یک مطالعه در سال ۲۰۲۲ نشان داد که هر دو روش نوار MIC و انتشار دیسک در تعیین حساسیت به سفیدروکل، به ویژه

[Downloaded from jehe.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

در انتروباکتریاسه، فاقد دقت کافی هستند. روش نوار MIC به طور قابل توجهی مقادیر MIC را کمتر از مقدار واقعی تخمین می‌زند و میزان بالایی از خطاهای بسیار بزرگ (۲۳/۳٪) و خطاهای بزرگ (۴/۹٪) را نشان می‌دهد که با استانداردهای ISO مطابقت ندارد[۳۴]. همچنین، در مورد کلیستین، آخرین آنتی‌بیوتیک علیه انتروباکتریاسه مقاوم به کاربپانم، به دلیل انتشار ضعیف آن در آگار، روش‌های مبتنی بر آگار در مقایسه با میکرودایلوشن براث قابل استفاده نیستند و میکرودایلوشن براث تنها روش قابل اعتماد برای کلیستین است[۳۵، ۳۶]. EUCAST و CLSI در حال حاضر استفاده از نوارهای انتشار دیسک یا انتشار گرادیان را برای آزمون حساسیت به کلیستین توصیه نمی‌کنند[۳۷]. در مقابل، روش میکرودایلوشن براث به عنوان دقیق‌ترین تکنیک برای آنتی‌بیوتیک‌های حیاتی مانند سفیدروکول و کولیستین شناسایی شد، اگرچه برای تفسیر نتایج به تخصص قابل توجهی نیاز دارد[۳۸].

محدودیت‌های انتشار دیسک همچنین باعث توسعه تکنیک‌های مبتنی بر MIC مانند E-test شده است که به دلیل دقت و قابلیت اطمینان آن در آزمایشگاه‌ها مورد توجه قرار گرفته است. علیرغم مزایای آن، E-test با چالش‌هایی از جمله هزینه‌های بالا، دسترسی محدود در کشورهای در حال توسعه و مشکلات مربوط به بی‌هوازی‌های نادر یا با رشد آهسته مواجه است. نگرانی‌های دیگر شامل همبستگی ضعیف با روش‌های مرجع مانند رقیق‌سازی در آگار، دقت کمتر برای برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها (مانند پنی‌سیلین، مترونیدازول و موکسی‌فلوکساسین) و نقاط شکست نامشخص برای چندین آنتی‌بیوتیک است که تفسیر را پیچیده می‌کند. این محدودیت‌ها، همراه با مشکلات در آزمون باکتری‌هایی با رشد مبهم یا کند، کاربرد آن را محدود می‌کند. با این وجود، E-test برای آزمایش‌های معمول در سناریوهایی که روش‌های دقیق‌تر غیرعملی هستند، ارزشمند باقی می‌ماند. مطالعات بیشتر برای تعیین نقاط شکست و رفع این اشکالات مورد نیاز است[۳۸، ۳۹، ۴۰].

یکی دیگر از ملاحظات مهم در آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی، اثر سریع عوامل ضدمیکروبی است که می‌تواند محاسبات دقیق نرخ رشد را در طول آزمایش‌های زمان مرگ، پیچیده کند. در غلظت‌های بسیار بالا، داروها ممکن است تقریباً بلافاصله باکتری‌ها را از بین ببرند و باعث ایجاد انحراف در مدل‌سازی شوند. در حالی که این روش‌ها در درجه اول برای ارزیابی‌های in vitro مناسب هستند، اما پر کردن شکاف به سمت محیط‌های بالینی اغلب نیاز به مدل‌های PK/PD دارد. این مدل‌ها داده‌های حاصل از آزمایش‌های زمان-کشتن (هم در شرایط in vitro و هم در داخل بدن (in vivo)) را برای شبیه‌سازی سناریوهای آزمون نشده و طراحی استراتژی‌های دوز بهینه ادغام می‌کنند. به ویژه برای آنتی‌بیوتیک‌های جدید، مدل‌های PK/PD می‌توانند خطرات را در توسعه دارو کاهش داده و روند کار را تسریع کنند. با ترکیب آزمایش‌های زمان-کشتن با مدل‌های پیشرفته PK/PD، محققان می‌توانند درمان‌های ضدمیکروبی را بهینه کنند، از مقاومت جلوگیری کنند و استراتژی‌های درمانی متناسب با عفونت‌های خاص و شرایط بالینی طراحی کنند[۳۲].

ویژگی‌هایی مانند نیازهای خاص آزمایشگاه، نوع آنتی‌بیوتیک مورد آزمون و تعادل بین دقت، هزینه و کاربردی بودن روش، برای انتخاب یک روش مناسب برای ارزیابی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ضروری هستند. روش انتشار دیسک، اگرچه ساده، مقرون‌به‌صرفه و مناسب برای استفاده معمول است، اما دقت کمتری دارد و ممکن است چالش‌هایی را در تفسیر نتایج برای باکتری‌های خاص ایجاد کند. در حالی که میکرودایلوشن براث به دلیل دقت و تکرارپذیری آن، روش مرجع باقی می‌ماند، انتشار دیسک یک جایگزین مقرون‌به‌صرفه برای آزمون حساسیت غربالگری معمول است. آزمونE داده‌های کمی MIC را بدون تجهیزات تخصصی ارائه می‌دهد، البته با هزینه بالاتر برای هر آزمون[۴۱]. برای آزمایشگاه‌های بالینی روتین، آزمونE هنگام آزمون تعداد محدودی از آنتی‌بیوتیک‌ها یا

[Downloaded from jehe.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

زمانی که MIC سریع و دقیق بدون دسترسی به سیستم‌های خودکار مورد نیاز است، ارزشمندترین است[۴۲]. علاوه بر این، آزمایش‌های دوره زمانی، همراه با مدل‌های PK/PD، بینش‌های ارزشمندی را برای بهینه‌سازی درمان‌های ضدمیکروبی و طراحی استراتژی‌های درمانی مؤثرتر ارائه می‌دهند. آزمایشگاه‌های بالینی باید روش AST اولیه خود را بر اساس عواملی از جمله جمعیت بیمار، شیوع ارگانیسم‌های MDR، منابع موجود و الزامات زمان چرخش انتخاب کنند[۱۷]. جدول (۱)، مقایسه جامعی از روش‌های اصلی ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی با هم را ارائه می‌دهد.

جدول ۱. مقایسه روش‌های آزمایشگاهی ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی

روش‌های ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی	Time-Kill Assay	Disk Diffusion	E-test	Broth Microdilution
نوع نتیجه	کمی	کیفی/نیمه‌کمی	کمی	کمی
قابلیت تعیین MIC	خیر	خیر	بله	بله
قابلیت تعیین MBC	بله	خیر	خیر	بله (با کشت مجدد)
دقت	بالا	متوسط	بالا	بالا
تکرارپذیری	بالا	متوسط	بالا	بالا
محدودیت‌های کلیدی	زمان‌بر، نیاز به مواد زیاد؛ مشکل در باکتری‌های قابل کشت غیرقابل رشد	فقط کیفی/نیمه‌کمی؛ تحت تأثیر عمق آگار، pHو کاتیون‌ها	تفسیر ذهنی، هزینه بالا برای هر آزمون	ممکن است آلودگی، زنده‌مانی تلقیح و اثر حلال‌ها را تشخیص ندهد
مزایا	ارزیابی PK/PD کامل، تشخیص سینرژی/آنتاگونیسم	ساده، مقرون‌به‌صرفه، مناسب آزمایشگاه‌های معمول	MIC دقیق با سادگی روش‌های آگار	دقت بالا، قابل خودکارسازی، استاندارد طلایی برای اکثر ارگانیسم‌ها
کاربرد بالینی	برای عفونت‌های شدید و ارزیابی سینرژی	مناسب برای آزمون‌های معمول حساسیت	مناسب برای ارگانیسم‌های سخت‌رشد	ضروری برای تصمیمات دقیق دوز
کاربرد تحقیقاتی	مدل‌سازی PK/PD، ارزیابی ترکیبات جدید	نظارت بر مقاومت در مقیاس بزرگ	مطالعات بالینی	استاندارد برای آنتی‌بیوتیک‌های جدید
جایگاه در CLSI/EUCAST	روش مکمل (غیر استاندارد برای تفسیر بالینی)	روش استاندارد برای آزمون‌های معمول	روش پذیرفته‌شده برای برخی آنتی‌بیوتیک‌ها	روش مرجع برای اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها

[Downloaded from jehe.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

سنجش فعالیت ضد بیوفیلم

روش‌های AST برای سلول‌های پلانکتونیک طراحی شده‌اند. با این حال، بخش قابل توجهی از عفونت‌ها ناشی از بیوفیلم است که، رفتار متفاوتی دارد. بنابراین، سنجش‌های اختصاصی ضدبیوفیلم به‌عنوان یک کاربرد خاص از روش‌های ارزیابی مطرح می‌شوند. تشکیل بیوفیلم مهمترین عامل بیماری‌زایی است که نقش مهمی در ایجاد مقاومت در برابر عوامل ضد میکروبی ایفا می‌کند. بیوفیلم‌ها به عنوان موانع فیزیکی عمل می‌کنند که باکتری‌ها را از آنتی‌بیوتیک‌ها و پاسخ‌های ایمنی میزبان محافظت می‌کنند[۴۳]. بنابراین، ارزیابی فعالیت ضد بیوفیلم عوامل ضد میکروبی هم در تحقیقات و هم در محیط‌های بالینی ضروری است. همانطور که توضیح داده شده است، MIC حداقل غلظت یک عامل ضدمیکروبی است که رشد سلول‌های پلانکتونیک (باکتری‌های آزاد و شناور) را در محیط مایع مهار می‌کند و در شرایطی اندازه‌گیری می‌شود که باکتری‌ها به‌صورت تک‌سلولی و پراکنده در محیط کشت قرار دارند و هیچ ساختار بیوفیلمی تشکیل نداده‌اند. حال اینکه دو اصطلاح دیگر: حداقل غلظت مهاری تشکیل بیوفیلم یک عامل ضدمیکروبی Minimum Biofilm Inhibitory Concentration (MBIC) و حداقل غلظت یک عامل ضدمیکروبی که بیوفیلم بالغ و از قبل تشکیل‌شده را ریشه‌کن می‌کند Minimum Biofilm Eradication Concentration (MBEC) در ارتباط با بیوفیلم حائز اهمیت هستند. در آزمون MBIC، عامل ضدمیکروبی همزمان با تلقیح باکتری به محیط اضافه می‌شود و پس از انکوباسیون، میزان بیوفیلم تشکیل‌شده، معمولاً با کریستال ویوله یا MTT اندازه‌گیری می‌شود. در آزمون MBEC، ابتدا بیوفیلم بالغ (معمولاً ۲۴ تا ۴۸ ساعت) تشکیل می‌شود، سپس در معرض غلظت‌های مختلف ماده ضدمیکروبی قرار می‌گیرد و پس از شستشو، سلول‌های باقی‌مانده شمارش یا ارزیابی می‌شوند. نشان می‌دهد که ماده می‌تواند بیوفیلم بالغ را از بین ببرد، که بسیار دشوارتر از مهار تشکیل آن است. چندین روش آزمایشگاهی برای ارزیابی توانایی ترکیبات در مهار تشکیل بیوفیلم یا ریشه‌کن کردن بیوفیلم‌ها توسعه داده شده است[۴۴].

روش قرمز کنگو آگار Congo Red Agar (CRA)

روش قرمز کنگو آگار، یک ابزار غربالگری ساده و ارزان برای تشخیص باکتری‌های تولیدکننده بیوفیلم است. در این روش، باکتری‌ها روی صفحات آگار حاوی رنگ قرمز کنگو و ساکارز یا گلوکز کشت داده می‌شوند. کلنی‌های تولیدکننده بیوفیلم سیاه یا تیره با قوام خشک و کریستالی به نظر می‌رسند، در حالی که کلنی‌های تولیدکننده غیر بیوفیلمی، صورتی یا قرمز باقی می‌مانند. اگرچه برای غربالگری اولیه مفید است، اما روش CRA داده‌های کمی در مورد زیست توده بیوفیلم یا فعالیت متابولیکی ارائه نمی‌دهد[۴۵، ۴۶].

سنجش کریستال ویولت Crystal Violet (CV)

سنجش کریستال ویولت روشی است که به طور گسترده برای تعیین کمیت زیست توده کل بیوفیلم استفاده می‌شود. در این روش، بیوفیلم‌ها در پلیت‌های میکروتیتر ۹۶ خلنه‌ای رشد داده می‌شوند، سلول‌های غیر چسبنده شسته می‌شوند، سلول‌های چسبنده با متانول یا گرما تثبیت می‌شوند و با محلول کریستال ویولت ۰/۱ تا ۰/۵ درصد رنگ‌آمیزی می‌شوند. پس از شستشو، رنگ با استفاده از اسید استیک یا اتانول حذف می‌شود و جذب در طول موج ۵۴۰ تا ۵۹۵ نانومتر با استفاده از یک میکروپلیت ریدر اندازه‌گیری می‌شود[۴۷]. این روش ساده و ارزان است و برای غربالگری با توان عملیاتی بالا مناسب است. با این حال، محدودیت‌هایی دارد، از جمله اینکه بین سلول‌های زنده و مرده تمایز قائل نمی‌شود؛ هم سلول‌های باکتریایی و هم مواد پلیمری خارج سلولی Extracellular Polymeric Substances (EPS) را رنگ‌آمیزی می‌کند؛ و ممکن

[Downloaded from jehe.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

است به دلیل رنگ‌آمیزی غیر اختصاصی، زیست توده را بیش از حد تخمین بزند[۴۸، ۴۹].

سنجش‌های کاهش MTT و XTT

سنجش‌های 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) MTT و XTT (2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carbocanilide) بر پایه احیای نمک‌های تترازولیوم توسط سیستم‌های آنزیمی سلول‌های فعال متابولیکی استوارند. این نمک‌های تترازولیوم توسط سلول‌های فعال متابولیکی احیا می‌شوند تا محصولات فورمازان رنگی (بنفش برای MTT، نارنجی برای XTT) تشکیل دهند که می‌توانند به وسیله ی اسپکتروفتومتری شناسایی شوند. برای توصیف بیوفیلم‌ها، سنجش XTT ترجیح داده می‌شود زیرا فورمازان محلول در آب تولید می‌کند و نیازی به مرحله حل شدن ندارد[۵۰، ۵۱]. این روش مزایایی دارد، از جمله اینکه فقط سلول‌های زنده را تشخیص می‌دهد و همچنین اطلاعاتی در مورد فعالیت متابولیکی ارائه می‌دهد. با این حال، محدودیت‌هایی نیز دارد، از جمله: نتایج می‌تواند تحت تأثیر برهمکنش‌های بین ترکیبات آزمایش‌شده (مثلاً بره موم، عصاره‌های گیاهی) و نمک‌های تترازولیوم قرار گیرد؛ شرایط محیطی (pH، غلظت گلوکز) ممکن است بر دقت شناسایی تأثیر بگذارد[۵۲، ۵۳]. سنجش‌های MTT/XTT ابزارهای ارزشمندی برای ارزیابی فعالیت متابولیک سلول‌های بیوفیلم هستند، اما نباید به‌عنوان معیار مستقیم زیست‌توده یا زنده‌مانی سلول‌ها تفسیر شوند. عوامل متعددی مانند فاز رشد، دسترسی به مواد مغذی، pH، اکسیژن، حضور سلول‌های چسبنده و تداخل ترکیبات آزمایشی می‌توانند بر نتایج اثر بگذارند بدون اینکه تغییری در زیست‌توده رخ دهد. بنابراین، تفسیر دقیق نیازمند ترکیب با روش‌های مکمل و در نظر گرفتن محدودیت‌های روش‌شناختی است. جدول (۲)، مقایسه ای از روش‌های گفته شده به منظورسنجش فعالیت ضد بیوفیلم تولیدی توسط باکتری‌ها را ارائه می‌دهد.

جدول ۲. مقایسه روش‌های سنجش فعالیت ضد بیوفیلم

روش‌های سنجش ضد بیوفیلمی	MTT/XTT Assay	Crystal Violet (CV)	Congo Red Agar (CRA)
پارامتر اندازه‌گیری‌شده	فعالیت متابولیک سلول‌های زنده (کمی)	زیست‌توده کل (نیمه‌کمی)	**تولید بیوفیلم (کیفی)**
نوع نتیجه	کمی	نیمه‌کمی	**کیفی**
تشخیص سلول زنده/مرده	بله	خیر	**خیر**
دقت	بالا	متوسط	**پایین (غربالگری)**
تکرارپذیری	بالا	متوسط	**متوسط**
محدودیت‌های کلیدی	تداخل با ترکیبات آزمایشی؛ تأثیر شرایط محیطی	تمایز سلول زنده/مرده؛ رنگ‌آمیزی غیراختصاصی؛ تخمین بیش از حد زیست‌توده	**داده کمی ارائه نمی‌دهد**
کاربرد اصلی	ارزیابی زنده‌مانی سلول‌های بیوفیلم	تعیین کمیت زیست‌توده کل	**غربالگری اولیه تولید بیوفیلم**

چالش‌های روش شناختی در ارزیابی ترکیبات نوین روش‌های استاندارد AST برای آنتی‌بیوتیک‌های بالینی طراحی شده‌اند. ارزیابی ترکیبات نوین مانند نانوذرات و عصاره‌های گیاهی چالش‌های روش‌شناختی متفاوتی ایجاد می‌کند که در این بخش بررسی می‌شود. طیف گسترده‌ای از عوامل ضدمیکروبی در مطالعات مقایسه‌ای برای ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی استفاده می‌شوند. تعدادی از عوامل ضدمیکروبی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها، عصاره‌ها و ترکیبات

[Downloaded from jehe.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

گیاهی و نانوذرات به طور خلاصه در این بخش ذکر شده‌اند.

دسته‌های اصلی آنتی‌بیوتیک‌ها شامل بتالاکتام‌ها (مانند پنی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، سفتریاکسون، مروپنم)، آمینوگلیکوزیدها (مانند جنتامایسین، آمیکاسین)، فلوروکینولون‌ها (مانند سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین)، ماکرولیدها (مانند اریترومایسین، آزیترومایسین)، تتراسایکلین‌ها (مانند تتراسایکلین، داکسی سایکلین)، گلیکوپپتیدها (مانند وانکومایسین) و اکسازولیدینون‌ها (مانند لینزولید) هستند[۵۴، ۵۵]. هر دسته از داروها بخش‌های خاصی از سلول باکتریایی را هدف قرار می‌دهند: بتالاکتام‌ها با اتصال به پروتئین‌های متصل شونده به پنی‌سیلین (penicillin-binding proteins (PBPs سنتز دیواره سلولی را مهار می‌کنند، آمینوگلیکوزیدها با اتصال به زیر واحد ریبوزومی ۳۰S سنتز پروتئین را مختل می‌کنند، فلوروکینولون‌ها با DNA ژیراز و توپوایزومراز IV تداخل می‌کنند، ماکرولیدها سنتز پروتئین را در زیر واحد ۵۰S مسدود می‌کنند و گلیکوپپتیدها با اتصال به انتهای D-Ala-D-Ala پیش‌سازهای پپتیدوگلیکان از پلیمریزاسیون دیواره سلولی جلوگیری می‌کنند[۵۶، ۵۷].

مقایسه فعالیت ضدباکتریایی معمولاً شامل تعیین MIC و MBC است. MIC به عنوان کمترین غلظت یک آنتی‌بیوتیک که به طور قابل مشاهده رشد باکتری را مهار می‌کند، تعریف می‌شود، در حالی که MBC غلظتی است که ≤۹۹/۹٪ از تلقیح باکتریایی را از بین می‌برد[۵۸، ۵۹]. عوامل باکتری‌کش مانند بتالاکتام‌ها، آمینوگلیکوزیدها و فلوروکینولون‌ها برای عفونت‌های جدی (مانند اندوکاردیت، منتژیت، سپسیس) ترجیح داده می‌شوند، در حالی که عوامل باکتریواستاتیک مانند تتراسایکلین‌ها و ماکرولیدها اغلب برای عفونت‌های خفیف تا متوسط یا به عنوان درمان ترکیبی استفاده می‌شوند[۶۰، ۶۱].

در مطالعات تطبیقی اخیر، آنتی‌بیوتیک‌های جدیدی مانند سفتازیدیم-آویباکتام، سفتولوزان-تازوباکتام و پلازومایسین برای مقابله با سویه‌های MDR گنجانده شده‌اند. ترکیب این عوامل در کنار آنتی‌بیوتیک‌های سنتی به محققان این امکان را می‌دهد تا چشم‌انداز مقاومت در حال تکامل را ارزیابی کرده و درمان تجربی را هدایت کنند[۶۲، ۶۳].

اسید کافئیک (۳،۴-دی هیدروکسی سینامیک اسید) یک ترکیب فنلی مهم است که عموماً توسط همه گونه‌های گیاهی تولید می‌شود. این پلی فنول در منابع غذایی متعددی یافت می‌شود [۶۴]؛ و طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیکی و دارویی، از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد میکروبی و ضد سرطانی دارد[۶۵، ۶۶]. مشتقات اسید کافئیک، نمونه‌ای از ترکیبات طبیعی هستند که فعالیت ضدباکتریایی آنها عمدتاً با روش‌های broth microdilution و time-kill ارزیابی شده است. مطالعات نشان داده‌اند که مشتقات اسید کافئیک می‌توانند MIC و MBC قابل مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های رایج داشته باشند و در سنجش‌های زمان-کشتن اثر سریع نشان دهند. با این حال، تفسیر این نتایج با معیارهای بالینی آنتی‌بیوتیک‌ها امکان‌پذیر نیست، زیرا نقاط شکست بالینی برای این ترکیبات تعریف نشده است. این مثال نشان می‌دهد که انتخاب روش ارزیابی باید با نوع ماده و هدف مطالعه هماهنگ باشد[۶۷، ۶۸].

بره موم نیز نمونه‌ای از ترکیبات طبیعی با فعالیت ضدباکتریایی و ضدبیوفیلم گسترده است. بره موم، یک ماده رزینی است که توسط زنبورها از رزین‌های گیاهی جمع‌آوری شده و با موم و ترشحات غددی مخلوط می‌شود[۶۹]. این ترکیب که سرشار از ترکیبات زیست فعال، از جمله پلی فنول‌ها، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و مشتقات اسید سینامیک است، دارای مشخصات شیمیایی پیچیده‌ای است که تحت تأثیر منابع گیاهی آن قرار دارد[۷۰]. گزارش شده است که بره موم اثرات ضد باکتری، ضد قارچ، ضد سرطان، آنتی‌اکسیدان و ضد بیوفیلم را در شرایط آزمایشگاهی [۷۱، ۷۲، ۷۳] نشان می‌دهد. در تحقیقات متعدد، ارزیابی اثر ضدبیوفیلم بره موم معمولاً با روش‌های CV و

[Downloaded from jehe.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

MTTانجام شـده اسـت و پارامترهای اندازه گیری‌های حـداقـل غلظـت مهـارکننـدگی بیوفیلم Minimum Biofilm Inhibitory Concentration (MBIC) و حداقل غلظت ریشه‌کنی بیوفیلم Minimum Biofilm Eradication Concentration (MBEC)بـرای توصیف اثر آن به کار می‌روند. با این حال، محدودیت‌های این روش‌ها مانند عدم تفکیک سلول زنده از مرده در CV و تداخل ترکیبات در روش MTT باید در تفسیر نتایج در نظر گرفته شـود. این مثال اهمیت انتخاب روش مناسـب برای هر نوع ماده را برجسته می‌کند[۷۴، ۷۵].

از دیگر ترکیبات، می توان به نانوذرات اشاره کرد. نانوذرات بـه دلیـل خواص منحصـر بـه فرد خود، بـه‌عنوان عوامـل ضـدباکتریایی نوین مورد توجه می باشـند[۷۶]. با این حال، ارزیابی فعالیت ضـدباکتریایی آنها با روش‌های اسـتاندارد AST با چالش‌های روش‌شـناختی متعددی مواجه می باشـد. از جمله این چالش‌ها، محدودیت اسـتفاده در روش‌های انتشـار در آگارمی باشـد. انتشـار، تجمع، اندازه ذرات، پوشش سطحی و بار سطحی نانوذرات می‌تواند قطر هاله عدم رشـد را تحت تأثیر قرار دهد. بنابراین، قطر هاله لزوماً شـاخص مسـتقیم فعالیت ضـدباکتریایی نیسـت و روش‌هـای مبـتـنـی بـر مـحـیـط مـایـع (broth microdilution) ارجحیت دارنـد. از دیگر چـالش‌هـا، تنوع در روش‌های سنتز نانوذرات است. دو روش سنتز به صـورت شـیمیایی و سـبز می‌توانند خواص نانوذرات و در نتیجه نتایج AST را تغییر دهند. مطالعات متعددی فعالیت ضـدباکتریایی نـانوذرات نقره، تیتانیوم، آهن و طلا را بـا روش‌هـای MIC/MBC و disk diffusion ارزیـابی کرده‌اند[۷۷، ۷۸، ۷۹، ۸۰، ۸۱]. این مطالعات نشـان می‌دهند که انتخـاب روش ارزیـابی بـایـد بـا در نظر گرفتن خواص فیزیکوشیمیایی نانوذره و مکانیسم اثر آن انجام شود.

نتیجه‌گیری

مرور انجام شده نشان داد که انتخاب روش ارزیابی فعالیت ضـدباکتریایی یک تصـمیم چندمتغیره اسـت که باید بر اسـاس هـدف مطالعـه (بـالینی یـا تحقیقـاتی)، نوع مـاده (آنتی‌بیوتیـک یـا ترکیـب نوین)، نوع میکروارگـانیسـم (پلانکتونیک یا بیوفیلم)، منابع آزمایشـگاهی و سـطح دقت مورد نیاز انجام شـود. اسـتفاده مکمل از روش‌ها، نه انتخاب یک روش واحد، رویکرد بهینه برای ارزیابی جامع و دقیق فعالیت ضدباکتریایی است.

در این بررسی، روش‌های اصلی آزمایشگاهی برای ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی مقایسه شد. هر یک از روش‌ها مزایا و محدودیت‌های خاص خود را دارند. روش انتشـار دیسـک بـه دلیـل هزینـه کم و سـادگی، عملی‌ترین انتخاب برای آزمایشـگاه‌های بالینی مرسـوم و پایش مقاومت در مقیاس بزرگ اسـت. روش E-test داده‌های کمی MIC را بدون تجهیزات تخصـصـی ارائه می‌دهد، اما محدودیت‌های آن شـامل هزینه بالای هر آزمون اسـت. روش میکرودایلوشـن براث، روش مرجع برای تعیین دقیق MIC اسـت و برای ارزیـابی فعـالیـت آنتی‌بیوتیـک‌هـای جـدیـد و پـاتوژن‌هـای چالش‌برانگیز ضـروری اسـت. سـنجش‌های زمان مرگ نیز برای مطالعات سـینرژیسـم، تشـخیص سـلول‌های پایدار و مدل‌سازی PK/PD ضروری هستند و منابع زیادی مصرف می‌کنند. به طور خلاصـه، اسـتفاده مکمل از این روش‌ها برای تعیین دقیق پروفایل‌های حساسیت بسیار مهم است.

در میان روش‌های سـریع AST، سـنتز نانوذرات سـبز و درمان‌هـای ترکیبی، می‌تواننـد رویکردهـای درمـانی مفید و کارآمدی را در برابر پاتوژن‌های مقاوم به چند دارو ارائه دهند. اسـتانداردسـازی طبق دسـتورالعمل‌های CLSI و EUCAST برای نتایج تکرارپذیر همچنان ضروری است. در نتیجه، پرداختن به مقاومت ضـدمیکروبی نیازمند یک رویکرد یکپارچه است که آزمون دقیق حساسیت، توسعه عوامـل ضـدمیکروبی جـدیـد و مـدیریـت محتـاطـانـه آنتی‌بیوتیک‌ها را ترکیب کند.

[Downloaded from jehe.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از تمامی افرادی که با حمایت های فکری و راهنمایی های مفید خود در انجام و تکمیل مقاله یاری رسانده‌اند، قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله اعلام می دارند که هیچ تعارض منافعی مالی، علمی و ... با انجام این مطالعه وجود ندارد.

حمایت مالی

این مقاله حمایت مالی از هیچ ارگانی نداشته است.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه از نوع مروری می باشد و تمام داده ها و اطلاعات این مقاله، معتبر بوده و براساس بررسی و تحلیل مطالعات و منابع علمی معتبر منتشر شده، انجام شده است. نویسندگان تمام نکات اخلاقی شامل سرقت ادبی، تحریف داده ها و داده سازی را در این مقاله رعایت نموده‌اند.

مشارکت نویسندگان

طراحی مطالعه: حدیث طوافی

گردآوری و استخراج داده ها: حدیث طوافی، نرگس ترک

تحلیل و تفسیر یافته ها: حدیث طوافی، نرگس ترک

نگارش مقاله: حدیث طوافی، نرگس ترک

ویرایش علمی و نگارش نهایی مقاله: حدیث طوافی

[Downloaded from jehe.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

References

1. Basavegowda N, Baek K-H. Multimetallic nanoparticles as alternative antimicrobial agents: challenges and perspectives. Molecules. 2021;26(4):912.
2. Bischoff S, Walter T, Gerigk M, Ebert M, Vogelmann R. Empiric antibiotic therapy in urinary tract infection in patients with risk factors for antibiotic resistance in a German emergency department. BMC infectious diseases. 2018;18(1):56.
3. Lin Z, Yuan T, Zhou L, Cheng S, Qu X, Lu P, et al. Impact factors of the accumulation, migration and spread of antibiotic resistance in the environment. Environmental geochemistry and health. 2021;43(5):1741–58.
4. Yue C, Shen W, Hu L, Liu Y, Zheng Y, Ye Y, et al. Effects of tigecycline combined with azithromycin against biofilms of multidrug-resistant Stenotrophomonas maltophilia isolates from a patient in China. Infection and Drug Resistance. 2021:775–86.
5. Chokshi A, Sifri Z, Cennimo D, Horng H. Global contributors to antibiotic resistance. Journal of global infectious diseases. 2019;11(1):36.
6. Senobar Tahaei SA, Stájer A, Barrak I, Ostorházi E, Szabó D, Gajdács M. Correlation between biofilm-formation and the antibiotic resistant phenotype in Staphylococcus aureus isolates: a laboratory-based study in Hungary and a review of the literature. Infection and drug resistance. 2021:1155–68.
7. Gonzalez-Pastor R, Carrera-Pacheco SE, Zúñiga-Miranda J, Rodríguez-Pólit C, Mayorga-Ramos A, Guamán LP, et al. Current landscape of methods to evaluate antimicrobial activity of natural extracts. Molecules. 2023;28(3):1068.
8. Hossain TJ. Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols, advantages, and limitations. European journal of microbiology and immunology. 2024;14(2):97–115.
9. Alsamahi A, Alhmoudi HAA, Mirza SB, Ridouane FL. Comprehensive analysis of nutritional composition, mineral content, antimicrobial activity, and theoretical evaluation of phytochemicals in Henna (Lawsonia inermis) from the fujairah, united Arab Emirates. Int J Biol Chem Sci. 2023;17(7):2614–30.
10. Schuetz AN, Ferrell A, Hindler JA, Humphries R, Bobenchik AM. Overview of changes in the clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M100 32nd and 33rd editions. Journal of clinical microbiology. 2025;63(9):e01623–23.
11. Dematheis F, Manzulli V, Grass G, Matuschek E, Jacob D, Melzer F, et al. European multi-centre study to establish MIC and zone diameter epidemiological cut-off values for Bacillus anthracis. Clinical Microbiology and Infection. 2024;30(9):1170–5.
12. El-Halfawy OM, Valvano MA. Antimicrobial heteroresistance: an emerging field in need of clarity. Clinical microbiology reviews. 2015;28(1):191–207.
13. van Belkum A, Burnham C-AD, Rossen JW, Mallard F, Rochas O, Dunne Jr WM. Innovative and rapid antimicrobial susceptibility testing systems. Nature Reviews Microbiology. 2020;18(5):299–311.
14. Gaur P, Hada V, Rath RS, Mohanty A, Singh P, Rukadikar A. Interpretation of antimicrobial susceptibility testing using European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) breakpoints: analysis of agreement. Cureus. 2023;15.(۳)
15. Marcelo GA, Galhano J, Duarte MP, Capelo-Martínez JL, Lodeiro C, Oliveira E. Validation of a standard luminescence method for the fast determination of the antimicrobial activity of nanoparticles in Escherichia coli. Nanomaterials. 2022;12(13):2164.
16. Chiu C-T, Lai C-H, Huang Y-H, Yang C-H, Lin J-N. Comparative analysis of gradient diffusion and disk diffusion with agar dilution for susceptibility testing of Elizabethkingia anophelis. Antibiotics. 2021;10(4):450.
17. Gajic I, Kabic J, Kekic D, Jovicevic M, Milenkovic M, Mitic Culafic D, et al. Antimicrobial susceptibility testing: a comprehensive review of currently used methods. Antibiotics. 2022;11(4):427.
18. Wayne P. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 27th informational supplement M. 2011;100:2017.
19. Tavafi H. An investigation of antibacterial resistance patterns in isolated bacteria from contaminated water samples in poultry slaughterhouses. Biosis Biol Syst. 2020;1:85–90.
20. Bavelaar H, Justesen US, Morris TE, Anderson B, Copsey-Mawer S, Stubhaug TT, et al. Development of a EUCAST disk diffusion method for the susceptibility testing of rapidly growing anaerobic bacteria using Fastidious Anaerobe Agar (FAA): a development study using Bacteroides species. Clinical Microbiology and Infection. 2021;27(11):1695. e1–. e6.
21. Giske CG, Turnidge J, Cantón R, Kahlmeter G. Update from the European committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). Journal of clinical microbiology. 2022;60(3):e00276–21.
22. Callebaut K, Stoefs A, Emmerechts K, Vandoorslaer K, Wybo I, De Geyter D, et al. Evaluation of automated disk diffusion antimicrobial susceptibility testing using Radian® in-line carousel. Current microbiology. 2024;81(7):196.
23. Atmanto Y, Adi K, Abd Kadir N, Rusli B. Extended spectrum beta lactamase (ESBL) confirmation test using E-Test. Int J Recent Adv Multidiscipl Topics. 2022;5:125–30.
24. Hiflan F, Abeygoonawardena H, Karawgoda R, Chandrasiri N, Balasuriya A, Senanayake N. Comparison of broth microdilution and E-test for susceptibility of MRSA to vancomycin. Sri Lankan Journal of Infectious Diseases. 2024;14.(۱)
25. Conrads G, KLOMP T, DENG D. The antimicrobial susceptibility of Porphyromonas gingivalis: genetic repertoire, global phenotype, and review of the literature. Antibiotics (Basel). 2021: 10: 1438.
26. Rodríguez-Melcón C, Alonso-Calleja C, García-Fernández C, Carballo J, Capita R. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) for twelve antimicrobials (biocides and antibiotics) in eight strains of Listeria monocytogenes. Biology. 2021;11(1):46.
27. Oliveira M, Cunha E, Tavares L, Serrano I. P. aeruginosa interactions with other microbes in biofilms during co-infection. AIMS microbiology. 2023;9(4):612.
28. Elawady R, Aboulela AG, Gaballah A, Ghazal AA, Amer AN. Antimicrobial Sub-MIC induces Staphylococcus aureus biofilm formation without affecting the bacterial count. BMC infectious diseases. 2024;24(1):1065.
29. Shin H-J, Yang S, Lim Y. Antibiotic susceptibility of Staphylococcus aureus with different degrees of biofilm

[Downloaded from jehe.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

formation. Journal of Analytical Science and Technology. 2021;12(1):41.
30. Ben Hassena A, Abidi J, Miled N, Kulinowski Ł, Skalicka-Woźniak K, Bouaziz M. New insights into the antibacterial activity of hydroxytyrosol extracted from olive leaves: molecular docking simulations of its antibacterial mechanisms. Chemistry & biodiversity. 2025;22(1):e202401714.
31. Alshareef F. Protocol to evaluate antibacterial activity MIC, FIC and time kill method. Acta Sci Microbiol. 2021;4(5):2–6.
32. Van Os W, Zeitlinger M. Predicting antimicrobial activity at the target site: pharmacokinetic/pharmacodynamic indices versus time–kill approaches. Antibiotics. 2021;10(12):1485.
33. Gubenšek U, de Laat M, Foerster S, Boyd A, van Dam AP. Pharmacodynamics of ceftriaxone, ertapenem, fosfomycin and gentamicin in Neisseria gonorrhoeae. Antibiotics. 2022;11(3):299.
34. Chiu P-W, Wang J-L, Hsueh S-C, Lee N-Y, Huang Y-T, Ko W-C, et al. Cefiderocol nonsusceptibility among carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii: data from the 2024 Antimicrobial Testing Leadership and Surveillance (ATLAS) program. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2026:e00634–26.
35. Bajaj E, Gupta A, Purwar S, Pundir S, Brar SS. A "Time-Kill" Study to Assess the Effect of Colistin on Gram-Negative Strains: An Experimental Study for Developing an Indigenous Microfluidics-Based Antimicrobial Susceptibility Testing Device. Cureus. 2025;17.(٦)
36. NADİR Y, BATIREL AA. Review of Colistin Susceptibility Testing with Current Data. Mediterranean Journal of Infection, Microbes & Antimicrobials. 2024;13(1):1.
37. Haridas H, Raina S, Das P, Kunwar S, Gaind R. Evaluation of colistin susceptibility among Klebsiella pneumoniae isolates by broth microdilution and colistin agar test. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2025:117119.
38. Bonnin RA, Emeraud C, Jousset AB, Naas T, Dortet L. Comparison of disk diffusion, MIC test strip and broth microdilution methods for cefiderocol susceptibility testing on carbapenem-resistant Enterobacterales. Clinical Microbiology and Infection. 2022;28(8):1156. e1–. e5.
39. Khatun MR, Alam KMF, Shahrear MK, Zahan RA, Sazzad J. Determination of MIC of Different Antibiotics against Intermediate Isolates of S. aureus at a Tertiary Care Hospital by E-test. 2023.
40. Wolf LJ, Stingu C-S. Antimicrobial susceptibility profile of rare anaerobic bacteria. Antibiotics. 2022;12(1):63.
41. Datar R, Orenga S, Pogorelcnik R, Rochas O, Simner PJ, van Belkum A. Recent advances in rapid antimicrobial susceptibility testing. Clinical chemistry. 2022;68(1):91–8.
42. Guo Y, Yuan H, Yang Y, Chen M, Wang M. Gradient guidance for diffusion models: An optimization perspective. Advances in neural information processing systems. 2024;37:90736–70.
43. Liu Y, Chen R, Liu S, Chen J, Sun M, Fan Z, et al. Eradicating biofilms: decoding persistent mechanisms and combating therapeutic strategies. Advanced Healthcare Materials. 2026;15(6):e02707.
44. Agboola OE, Agboola O, Ayinla ZA, Agboola SS, Olaiya OE, Oyinloye OM, et al. Integrated virtual screening for anti-caries compounds from neem: dual-target inhibition of biofilm formation and bacterial DNA replication. Biomedicines. 2025;13(9):2202.
45. Alzubaidy FH, Al-saadi T, Nasser NI. Enhanced detection of bacterial biofilm formation using beetroot-supplemented Congo Red Agar: Comparison with the microtiter plate assay.
46. Khaddam W, Durgham B. Comparative analysis of biofilm detection methods and antibiotic resistance in catheter-associated uropathogens: a cross-sectional study from Syria. BMC microbiology. 2025;25(1):760.
47. Zhang S, Lee M, Zuber F, Wang L, Navascués P, Colomina-Alfaro L, et al. A simple, reproducible, and rapid droplet culture method for the formation and characterization of microbial biofilms. Chemical Engineering Journal. 2026:180067.
48. Unubol N, Ayaş M, Uyar NY, Mozioğlu E. Inconsistent Findings Between Crystal Violet and Congo Red Methods on Biofilms with Comparative Sugar Supplementation. Microorganisms. 2025;14(1):21.
49. Stephens S, Mahadevan R, Allen DG. Establishing a quantitative link between crystal violet absorbance and biomass in biofilms. MethodsX. 2025:103630.
50. Nasiri SN, Aghajanloo B, Nasiri N, Nazarnezhad S. Cytotoxicity and biocompatibility of green biomaterials. Green Biomaterials in Tissue Engineering: ACS Publications; 2025. p. 175–205.
51. Sukach O, Maiorova O. Use of methods for determining cell viability in cryobiological research. Problems of Cryobiology and Cryomedicine. 2025;35(4):181—95–—95.
52. Stindlova M, Peroutka V, Jencova V, Havlickova K, Lencova S. Application of MTT assay for probing metabolic activity in bacterial biofilm-forming cells on nanofibrous materials. Journal of Microbiological Methods. 2024;224:107010.
53. Constante CK, Rodríguez J, Sonnenholzner S, Domínguez-Borbor C. Adaptation of the methyl thiazole tetrazolium (MTT) reduction assay to measure cell viability in Vibrio spp. Aquaculture. 2022;560:738568.
54. Etebu E, Arikekpar I. Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. International journal of applied microbiology and biotechnology research. 2016;4(2016):90–101.
55. Cook MA, Wright GD. The past, present, and future of antibiotics. Science translational medicine. 2022;14(657):eabo7793.
56. Bush K, Bradford PA. Interplay between beta-lactamases and new beta-lactamase inhibitors (vol 17, pg 295, 2019). NATURE REVIEWS MICROBIOLOGY. 2019;17(7):459–60.
57. Yahav D, Giske CG, Grāmatniece A, Abodakpi H, Tam VH, Leibovici L. New β-lactam–β-lactamase inhibitor combinations. Clinical microbiology reviews. 2020;34(1):10.1128/cmr. 00115–20.
58. Wiegand I, Hilpert K, Hancock RE. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. Nature protocols. 2008;3(2):163–75.
59. Kadeřábková N, Mahmood AJ, Mavridou DA. Antibiotic susceptibility testing using minimum inhibitory concentration (MIC) assays. npj Antimicrobials and Resistance. 2024;2(1):37.
60. Prescott JF. Antimicrobial drug action and interaction: an introduction. Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. 2024:1–11.
61. Rhee KY, Gardiner DF. Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal activity in the treatment

[Downloaded from jehe.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

of gram-positive bacterial infections. Clinical infectious diseases. 2004;39(5):755–6.
62. Parmanik A, Das S, Kar B, Bose A, Dwivedi GR, Pandey MM. Current treatment strategies against multidrug-resistant bacteria: a review. Current microbiology. 2022;79(12):388.
63. Wang Z-J, Zhu Y-Y, Bai L-Y, Tang D-M, Zhou Z-S, Wei M-Z, et al. A new therapeutic strategy for infectious diseases against intracellular multidrug-resistant bacteria. Journal of Controlled Release. 2024;375:467–77.
64. Muheyuddeen G, Verma S, Yadav P, Khan MY, Ahmad T, Khushtar M. Caffeic acid: A comprehensive review of its traditional use and modern pharmacological applications by 2025. Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas. 2026;55(2):336.
65. Zeng Y-f, Su Y-l, Liu W-l, Chen H-g, Zeng S-g, Zhou H-b, et al. Design and synthesis of caffeic acid derivatives and evaluation of their inhibitory activity against Pseudomonas aeruginosa. Medicinal Chemistry Research. 2022;31(1):177–94.
66. Pakravan N, Shayani-Jam H, Beiginejad H, Tavafi H, Paziresh S. A green method for the synthesis of novel spiro compounds: Enhancement of antibacterial properties of caffeic acid through electrooxidation in the presence of barbituric acid derivatives. Journal of Electroanalytical Chemistry. 2019;848:113286.
67. Pakravan N, Shayani-Jam H, Beiginejad H, Tavafi H. A green and efficient synthesis of novel caffeic acid derivatives with Meldrum's acid moieties as potential antibacterial agents. Journal of the Iranian Chemical Society. 2021;18(10):2679–88.
68. Niu Y, Wang K, Zheng S, Wang Y, Ren Q, Li H, et al. Antibacterial effect of caffeic acid phenethyl ester on cariogenic bacteria and Streptococcus mutans biofilms. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2020;64(9):10.1128/aac. 00251–20.
69. Tavafi H. In vitro evaluation of synergistic inhibitory effect of Propolis and Chlorhexidine on biofilm cells of oral pathogens. 2021.
70. Sadrzadeh-Afshar M, Tavafi H, Niroomand S. In vitro effectiveness of antimicrobial properties of propolis and chlorhexidine on oral pathogens: A comparative study: effectiveness of antimicrobial properties of propolis and chlorhexidine on oral pathogens. Biosis: Biol. Syst. 1, 116–125. 2020.
71. Stähli A, Schröter H, Bullitta S, Serralutzu F, Dore A, Nietzsche S, et al. In vitro Activity of Propolis on Oral Microorganisms and Biofilms. Antibiotics 2021, 10, 1045. s Note: MDPI stays neu-tral with regard to jurisdictional claims in …; 2021.
72. Ezazi Maleki A, Javadi A, Jafarizadeh-Malmiri H, Mirzaei H. Preparation and Evaluation of Physico-Chemical and Antimicrobial Properties of Alcoholic Extract of Propolis. Iranian Chemical Engineering Journal. 2022;20(119):31–40.
73. Pobiega K, Kraśniewska K, Derewiaka D, Gniewosz M. Comparison of the antimicrobial activity of propolis extracts obtained by means of various extraction methods. Journal of food science and technology. 2019;56(12):5386–95.
74. Veloz JJ, Alvear M, Salazar LA. Evaluation of alternative methods to assess the biological properties of propolis on metabolic activity and biofilm formation in Streptococcus mutans. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2019;2019(1):1524195.
75. Almadi KH, Ahmed MA, Ghazal T, Jouhar R, Alkahtany MF, Abduljabbar T, et al. Antimicrobial efficacy of propolis in comparison to chlorhexidine against Enterococcus faecalis: a systematic review and meta-analysis. Applied Sciences. 2021;11(8):3469.
76. Khezripour AR, Souri D, Tavafi H, Ghabooli M. Serial dilution bioassay for the detection of antibacterial potential of ZnSe quantum dots and their Fourier transform infra-red spectroscopy. Measurement. 2019;148:106939.
77. Hashemi A, Tavafi H, Naseri M, Mojtabazadeh H, Abedi M, Tork N. Structural and antibacterial properties of AgFe2O4 and Fe3O4 nanoparticles, and their nanocomposites. Progress in Physics of Applied Materials. 2024;4(1):37–46.
78. Lagashetty A, Pattar A, Ganiger SK. Synthesis, characterization and antibacterial study of Ag doped magnesium ferrite nanocomposite. Heliyon. 2019;5.(٥)
79. Sivakumar S, Manimaran K, Govindasamy M, Alzahrani F, Alsaiari N. Green synthesis and characterization of CuO nanoparticles using Halymenia dilatata extract and its evaluation of antimicrobial and anticancer activity. Biomass Conversion and Biore nery, 14, 27623–27632. 2024.
80. Jamzad M, Kamari Bidkorpeh M. Green synthesis of iron oxide nanoparticles by the aqueous extract of Laurus nobilis L. leaves and evaluation of the antimicrobial activity. Journal of nanostructure in Chemistry. 2020;10(3):193–201.
81. Akshaya S, Rowlo PK, Dukle A, Nathanael AJ. Antibacterial coatings for titanium implants: recent trends and future perspectives. Antibiotics. 2022;11(12):1719.

[Downloaded from jehe.abzums.ac.ir on 2026-11-07]