

## ارزیابی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، ردیابی حضور ژن‌های *exo* و تعیین توانایی تشکیل

### بیوفیلیم توسط جدایه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* به‌دست آمده از نمونه‌های خون و ادرار

لیلا جبل عاملی<sup>۱</sup>، محمد ایمان عینی<sup>۲</sup>، فرشته جبل عاملی<sup>۲\*</sup>

۱. گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد البرز، ایران

۲. گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تهران، ایران

## چکیده

**سابقه و هدف:** *سودوموناس آئروژینوزا* یک بیماری‌زای فرصت‌طلب است که در ایجاد عفونت‌های متعددی نقش دارد، سیستم ترش‌تیپ ۳ و توانایی تشکیل بیوفیلیم از شاخص‌های مهم بیماری‌زا در این باکتری می‌باشند. در این مطالعه این دو عامل بیماری‌زا و هم‌چنین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های به‌دست آمده از نمونه‌های خون و ادرار مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** پس از تأیید ۳۹ باکتری مورد مطالعه به عنوان *سودوموناس آئروژینوزا*، تست آنتی‌بیوگرام به روش دیسک آگار دیفیوژن انجام شد. بررسی فراوانی ژن‌های کد کننده افکتور پروتئین‌های ترشح شده از سیستم ترش‌تیپ ۳ به‌وسیله تکنیک PCR انجام شد. هم‌چنین توانایی تولید بیوفیلیم نیز برای سویه‌های جداسازی شده مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** تعداد ۱۸ و ۲۱ جدایه *سودوموناس آئروژینوزا* به‌ترتیب از نمونه‌های خون و ادرار به‌دست آمد که در هر دو مورد، نسبت به سفپودوکسیم و پلی‌میکسین B به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین مقاومت وجود داشت. فراوانی ژن *exoT* در جدایه‌های خون و ادرار ۱۰۰٪ بوده و دیگر ژن‌های *exo* نیز فراوانی بیش‌تری در نمونه‌های خون نسبت به ادرار داشتند. جدایه‌های مربوط به نمونه ادرار قدرت تشکیل بیوفیلیم به‌صورت قوی را نشان می‌دادند در حالی که جدایه‌های خونی فقط می‌توانستند به‌صورت ضعیف و متوسط بیوفیلیم تشکیل دهند.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به افزایش مقاومت *سودوموناس آئروژینوزا* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و توانایی آن‌ها در ایجاد عفونت، و هم‌چنین وجود جدایه‌هایی که به‌طور غالب واجد ژن‌های توکسینی بوده و قادر به تولید بیوفیلیم نیز می‌باشند، ضرورت غربالگری بیماران قبل از مصرف آنتی‌بیوتیک بدیهی می‌باشد چرا که در غیر این صورت احتمال انتشار انواع باکتری‌های بیماری‌زای مقاوم به آنتی‌بیوتیک در جمعیت افزایش خواهد یافت.

**واژه‌های کلیدی:** *سودوموناس آئروژینوزا*، سیستم ترش‌تیپ ۳، بیوفیلیم، ژن‌های *exo*

## مقدمه

شرایط فیزیکی بوده و به این ترتیب می‌تواند در جامعه و هم-چنین منابع مرتبط با محیط‌های بیمارستانی از جمله دستگاه-های تنفسی، مواد ضدعفونی کننده، داروها و استخرهای فیزیوتراپی یافت شود (۲۲). *سودوموناس آئروژینوزا* به عنوان یک باکتری فرصت‌طلب بیماری‌زا شناخته شده و می‌تواند انواعی از عفونت‌ها را به‌ویژه در افراد بستری در بیمارستان و یا افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی ایجاد کند (۲۳، ۱۳). علاوه بر این، *سودوموناس آئروژینوزا* یکی از عوامل بیماری‌زای متداولی است که منجر به بروز عفونت‌های خونی در بیماران دارای سرطان خون می‌گردد (۳) و به‌عنوان سومین باکتری گرم منفی میله‌ای شکل و هفتمین باکتری بیماری‌زای جداسازی شده از خون شناسایی می‌شود (۱۱، ۳۰). اهمیت این باکتری در ایجاد عفونت‌های ادراری به‌ویژه در افرادی که از کاتترهای ادراری

*سودوموناس آئروژینوزا* میکروارگانیزی است که در انواعی از محیط‌ها حضور داشته و توانایی زندگی با کم‌ترین نیاز غذایی را دارا می‌باشد. این باکتری قادر به تحمل طیف گسترده‌ای از

## نویسنده مسئول:

گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تهران، ایران  
پست الکترونیکی: jabalamelir@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۵/۱

تست اکسیداز، بررسی همولیز با کشت بر روی محیط بلاد آگار، بررسی قوام کلنی و توانایی تولید پیگمان و کشت بر روی محیط کلیگر آبرون آگار.

### تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی

بر اساس دستورالعمل CLSI (۲) و با استفاده از روش دیسک آگار دیفیوژن (Disk-Agar Diffusion)، مقاومت باکتری-های جدا شده نسبت به آنتی بیوتیک های مورد نظر ارزیابی شد. دیسک های آنتی بیوتیکی تهیه شده از شرکت MAST<sup>۱</sup> به این ترتیب بوده و اعداد نوشته داخل پرانتز نشان دهنده غلظت آنتی بیوتیک بر حسب میکروگرم می باشد: سفپودوکسیم (۱۰)، سفتازیدیم (۳۰)، سفوتاکسیم (۳۰)، سفتری اکسون (۳۰)، آزترونام (۳۰)، ایمی پنم (۱۰)، مروپنم (۱۰)، کاربنی سیلین (۱۰۰)، آمیکاسین (۳۰)، جنتامیسین (۱۰)، توبرامایسین (۱۰)، پیراسیلین /تازوباکتام (۱۰/۱۰۰)، سیپروفلوکساسیلین (۵)، لوفلوکساسیلین (۵)، تیکارسیلین (۷۵)، پلی میکسیلین B (۳۰۰)، گاتی فلوکساسیلین (۵)، سفیکسیم (۵).

### ردیابی ژن های کد کننده افکتور پروتئین ها توسط PCR

به این منظور ابتدا استخراج DNA به روش جوشاندن (Boiling)، صورت گرفت و سپس مایع رویی حاصل شده از این روش به عنوان DNA الگو در واکنش زنجیره ای زنجیره ای پلیمرز مورد استفاده قرار گرفت. برای ژن های exoS و exoY از واکنش Multiplex PCR استفاده گردید و برای ژن های exoU و exoT، این واکنش ها به طور جداگانه صورت گرفت. از جدایه های سودوموناس آئروژینوزا PAO1 نیز به عنوان سوش کنترل استفاده گردید. در نهایت محصول های تکثیر شده توسط PCR، روی آگاروز ۱/۵ درصد الکتروفورز شده و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید، مشاهده باندها توسط دستگاه ژل داک صورت گرفت. اطلاعات مربوط به پرایمرهای به کار گرفته شده، در جدول ۱ مشخص شده است.

استفاده کرده اند بسیار زیاد بوده، به طوری که مسئول ایجاد ۳۵٪ از این عفونت ها سودوموناس آئروژینوزا می باشد (۲۸). مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به این باکتری می تواند به دو صورت ذاتی و اکتسابی باشد که در حالت اول نفوذ ناپذیری غشاء خارجی و فعالیت پمپ های خارج کننده دارو و در حالت دوم تولید متالوبتالاکتامازها و تغییر در اهداف آنتی بیوتیک، از جمله عوامل اعطای مقاومت می باشند (۱۶، ۱۹). عفونت های حاد ناشی از این باکتری به طور معمول در ارتباط با فاکتورهای ویروالانسی نظیر تاژک، پیلی، اگزوتوکسین و سیستم ترشحی تیپ ۳ (T3SS) بوده است (۲۵). در حالی که عفونت های مزمن ایجاد شده توسط سودوموناس آئروژینوزا به طور عمده در ارتباط با تشکیل بیوفیلم توسط این باکتری ها می باشد (۲۰)، به طوری که توانایی تشکیل بیوفیلم منجر به حفاظت باکتری در برابر استرس های محیطی از جمله خشکی، مواد کشنده و استرس های مکانیکی می شود (۸، ۴). علاوه بر این، سیستم ترشحی تیپ ۳، پروتئین های توکسینی که محصول ژن های exoS، exoT، exoU و exoY هستند را مستقیم به سیتوپلاسم سلول های یوکاریوتی میزبان تزریق کرده و به این ترتیب در بیماری زایی باکتری سهیم می شود (۵). در این میان ExoS و ExoT به عنوان توکسین هایی با دو عملکرد ADP-ریبوزیل ترانسفراز و GTPase شناخته می شوند. ExoY و ExoU نیز به ترتیب دارای فعالیت های آدنیلات سیکلازی و فسفولیپازی هستند (۲۹).

با توجه به اهمیت باکتری سودوموناس آئروژینوزا در ایجاد عفونت های بیمارستانی و همچنین بروز مقاومت نسبت به درمان های آنتی بیوتیکی، این مطالعه به جداسازی باکتری های سودوموناس آئروژینوزا از دو نمونه بالینی خون و ادرار و در ادامه بررسی برخی ویژگی های آن از جمله چگونگی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی، حضور ژن های کد کننده پروتئین های دخیل در خاصیت سمی باکتری و توانایی تشکیل بیوفیلم پرداخته است.

### مواد و روش ها

#### جداسازی و شناسایی باکتری ها

باکتری های مورد مطالعه از دو بیمارستان تابعه دانشگاه جمع آوری گشتند. نمونه های مربوطه به دست آمده از ادرار و خون، ابتدا در آزمایشگاه بیمارستان به صورت اولیه تشخیص داده شده و دوباره به منظور تأیید باکتری ها به عنوان سودوموناس آئروژینوزا، در آزمایشگاه میکروبی شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران مورد بررسی قرار گرفتند. تست های تأییدی مورد استفاده عبارت بودند از: رنگ آمیزی گرم،

<sup>۱</sup> MAST Group Ltd.

جدول ۱. توالی پرایمرهای به کار برده شده برای تکثیر ژن های مورد نظر

ژن هدف	توالی نوکلئوتیدی (5'→3')	اندازه محصول (bp)	منبع
<i>exoS</i>	F- TCAGGTACCCGGCATTCACTACGCGG R- TCACTGCAGGTTTCGTGACGTCTTTCTTTTA	۵۷۲	۶
<i>exoY</i>	F- TCCAAGCTTATGCGTATCGAGGGTCATC R- CGTATCGATCCGAGGGGGTGTATCTGACC	۷۳۰	۶
<i>exoT</i>	F- AGAACCCGTCTTTCGTGGCTGAGTT R- CAGCTCGCTCGCCTTGCCAAGT	۳۵۱	۱۵
<i>exoU</i>	F- CCTTAGCCATCTCAACGGTAGTC R- GAGGGCGAAGCTGGGGAGGTA	۹۱۱	۱۵

(2xODc<OD<4xODc) ، قوی (4xODc<OD) قرار داده شد.

### سنجش میزان تولید بیوفیلم

به منظور بررسی توانایی تولید بیوفیلم، از روش ارائه شده توسط Lee و همکارانش که در آن از اندازه گیری جذب نوری به این هدف استفاده شده است، بهره گرفته شد (۱۷). به این ترتیب که ابتدا از کشت شبانه باکتری ها در محیط TSB<sup>۲</sup> استفاده شد و سپس به منظور یکسان سازی کدورت سوسپانسیون های میکروبی، رقیق سازی با TSB تازه صورت گرفت و به مقدار ۱۵۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون میکروبی در میکروپلت های پلی استیرین ۹۶ خانه ای ریخته شد و ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس محلول رویی خارج گردید و چاهک ها ۳ مرتبه به آرامی توسط ۲۰۰ میکرولیتر از PBS<sup>۳</sup> شسته و میکروپلت به صورت وارونه در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا خشک و تثبیت اولیه صورت گیرد. جهت فیکس کردن بهتر بیوفیلم ها از متانول ۹۹ درصد نیز به میزان ۱۰۰ میکرولیتر استفاده گردید. پس از ۱۵ دقیقه الکل خارج و پلیت در مجاورت هوا خشک گردید. به تمام خانه ها ۱۰۰ میکرولیتر رنگ کریستال ویوله ۱/۵ درصد اضافه شده و پس از ۲۰ دقیقه پلیت ها در زیر آب شیر شسته شدند تا رنگ اضافی از چاهک ها خارج شود. با اضافه کردن ۱۵۰ میکرولیتر اسید استیک ۳۳ درصد، رنگ های باند شده به بیوفیلم سطح میکروپلیت آزاد شده و در نهایت اندازه گیری جذب نوری (OD) هر یک از خانه ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از الیزا ریدر صورت گرفت.

تمامی اندازه گیری ها به صورت ۴ تایی و در سه آزمایش جداگانه تکرار گردید از محیط TSB تلقیح نشده به عنوان کنترل منفی در اندازه گیری استفاده می شد. انحراف معیار بالاتر از میانگین جذب نوری گروه کنترل منفی به عنوان Cut-off جذب نوری (ODc) مورد استفاده قرار می گرفت. توانایی تشکیل بیوفیلم سویه های مورد آزمایش براساس جذب نوری در ۴ گروه جداگانه شامل عدم اتصال (OD<ODc)، ضعیف (ODc<OD<2xODc)، متوسط

### یافته ها

در این مطالعه، از مجموع نمونه های جمع آوری شده از دو بیمارستان مورد ارزیابی، ۱۸ جدایه سودوموناس آئروژینوزا از نمونه های خون و ۲۱ جدایه نیز از نمونه های ادرار به دست آمد. نتایج الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه ها نسبت به ۱۸ آنتی بیوتیک مختلف در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج

نشان می دهد که در نمونه های جدا شده از خون بالاترین مقاومت به کاربنی سیلین، سفپودوکسین و جنتامیسین می باشد، در حالی که نسبت به آنتی بیوتیک های پلی میکسین B، توبرامایسین و لوفلوکسازین کم ترین مقاومت وجود داشت.

جدول ۲. میزان فراوانی نسبی (مطلق) مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های جدا شده از عفونت های خون و ادرار

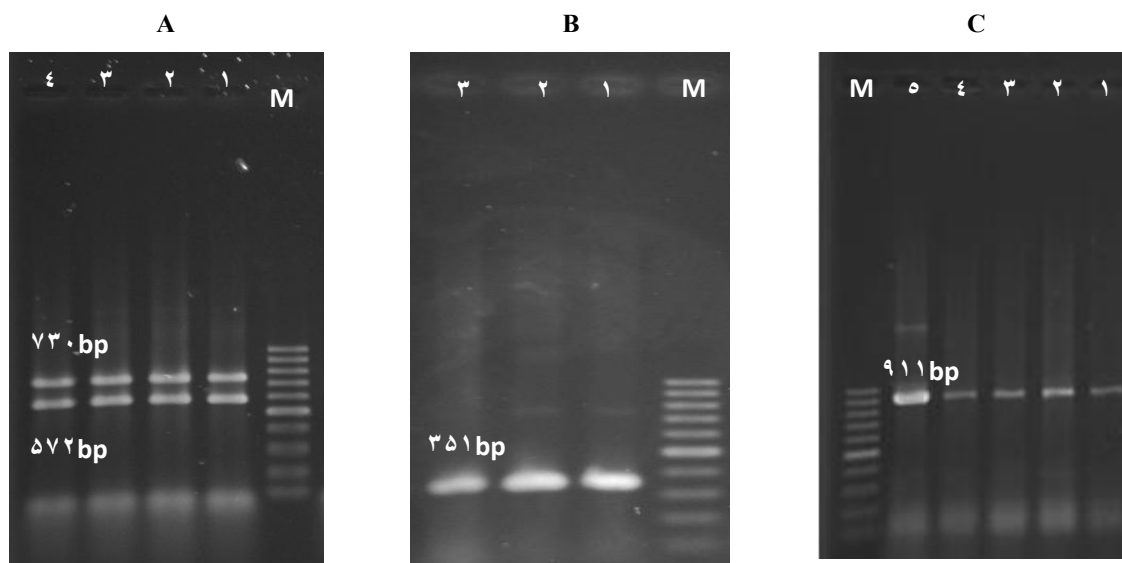
آنتی بیوتیک ها	خون (درصد) تعداد	ادرار (درصد) تعداد
سفپودوکسیم	۱۸(۱۰۰)	۲۱(۱۰۰)
سفتازیدیم	۱۰(۵۵/۵۶)	۳(۱۴/۲۹)
سفتواکسیم	۱۳(۷۲/۲۲)	۱۷(۸۰/۹۵)
سفتریلکسون	۱۳(۷۲/۲۲)	۸(۳۸/۰۹)
آزترونام	۱۱(۶۱/۱۱)	۳(۱۴/۲۹)
ایمی پنم	۸(۴۴/۴۴)	۴(۱۹/۰۵)
مروپنم	۵(۲۷/۷۸)	۴(۱۹/۰۵)
کاربنی سیلین	۱۸(۱۰۰)	۸(۳۸/۰۹)
آمیکاسین	۱۷(۹۴/۴۴)	۴(۱۹/۰۵)
جنتامیسین	۱۸(۱۰۰)	۵(۲۳/۸۰)
توبرامایسین	۴(۲۲/۲۲)	۴(۱۹/۰۴)
پیپراسیلین / تازوباکتام	۷(۳۸/۸۹)	۴(۱۹/۰۴)
سیپزوفلوکسازین	۵(۲۷/۷۸)	۴(۱۹/۰۵)
لوفلوکسازین	۴(۲۲/۲۲)	۱۰(۴۷/۶۱)
تیکراسیلین	۸(۴۴/۴۴)	۴(۱۹/۰۵)
پلی میکسین B	۳(۱۶/۶۷)	۰(۰)
گاتی فلوکسازین	۶(۳۳/۳۳)	۶(۲۸/۵۷)
سفی کسیم	۱۸(۱۰۰)	۲۰(۹۵/۲۳)

<sup>2</sup> Tryptic Soy Broth

<sup>3</sup> Phosphate Buffer Saline

مربوط به قطعه های *exoT* و *exoU* به ترتیب با اندازه های ۳۵۱ و ۹۱۱ جفت باز، به طور جداگانه نشان داده شده اند. میزان فراوانی این ژن ها نیز در جدول ۳ ارائه شده است. همان طور که مشخص است، تمام جدایه های به دست آمده از نمونه های خون و ادرار حاوی ژن *exoT* بوده و حضور ژن های *exoS* و *exoY* نیز در همه جدایه های مربوط به نمونه خون محرز است. فراوانی بیش تر *exoU* نیز در جدایه های به دست آمده از نمونه خون در مقایسه با جدایه های ادراری مشخص است

سودوموناس های جدا شده از ادرار فقط نسبت به سه آنتی-بیوتیک سفیکسیم، سفوتاکسیم و سفپودوکسیم دارای مقاومت بالاتر از ۵۰ درصد بوده و هیچ یک از این جدایه ها نسبت به پلی-میکسین B مقاومت نشان ندادند. در شکل ۱، نتایج الکتروفورز برای ژن های کدکننده افکتور پروتئین های مترشحه از سیستم ترشحی تیپ ۳ نشان داده شده است. به طوری که نتایج مربوط به قطعه های *exoS* و *exoY* به صورت واکنش Multiplex و به ترتیب با اندازه های ۷۳۰ و ۵۷۲ جفت باز، در حالی که نتایج



شکل ۱. نتایج حاصل از الکتروفورز قطعه های تکثیر شده مربوط به افکتور پروتئین های *exoY* و *exoS* (قسمت A)، *exoT* (قسمت B) و *exoU* (قسمت C) توسط PCR. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی. شماره های مشخص شده روی هر چاهک نشان دهنده شماره جدایه مورد نظر است. سایز قطعه های حاصل شده بر حسب جفت باز نیز روی هر شکل نشان داده شده است.

تشکیل بیوفیلم را داشته، و حتی بیش از ۲۳٪ از آن ها قادر به ایجاد بیوفیلم قوی بودند. اما در بین جدایه های مربوط به خون، توانایی تشکیل بیوفیلم قوی و هم چنین عدم تشکیل بیوفیلم مشاهده نشد.

جدول ۴. میزان تشکیل بیوفیلم بر حسب درصد بر اساس طبقه بندی چهارتایی در جدایه های به دست آمده از خون و ادرار

ادرار (درصد)	خون (درصد)	توانایی تشکیل بیوفیلم عدم تشکیل بیوفیلم
-	-	بیوفیلم ضعیف
۱۴/۲۸	۵۰	بیوفیلم متوسط
۴۷/۶۱	۵۰	بیوفیلم قوی
۲۳/۸	-	

شدت ایجاد بیوفیلم بر اساس طبقه بندی چهارتایی در دو گروه بالینی خون و ادرار با روش کدورت سنجی اندازه گیری گردید و نتایج آن در جدول ۴ نشان داده شده است. همان طور که مشخص است همه جدایه های به دست آمده از ادرار توانایی

جدول ۳. میزان فراوانی مطلق (نسبی) ژن های کدکننده افکتور پروتئین های TTSS در جدایه های سودوموناس آئروژینوزا در نمونه های بالینی خون و ادرار

ادرار (درصد) تعداد	خون (درصد) تعداد	ژن های افکتور پروتئینی
۲۱(۱۰۰)	۱۸(۱۰۰)	<i>exoT</i>
۱۳(۶۱/۹)	۱۳(۷۶/۴۷)	<i>exoU</i>
۱۷(۸۰/۹۲)	۱۸(۱۰۰)	<i>exoY</i>
۱۵(۷۱/۴۳)	۱۸(۱۰۰)	<i>exoS</i>

## بحث

در این مطالعه، کلیه ژن های exo در نمونه خون فراوانی بیش-تری در مقایسه با نمونه ادرار داشتند. در مطالعه انجام شده توسط Feltman و همکارانش نیز، فراوانی بیش تر ژن های exoU و exoY در نمونه های خون در مقایسه با ادرار گزارش شده است (۵). علاوه بر این، در همه جدایه های به دست آمده در مطالعه حاضر، حضور ژن exoT قطعی بوده، کمابند که این ژن در اغلب گزارش های ارائه شده توسط دیگران نیز دارای بیش ترین فراوانی بوده و در انواع جدایه های به دست آمده از منابع مختلف از جمله خون، ادرار، زخم و خلط با فراوانی ۱۰۰٪ حضور داشته است (۵). اما در مطالعه دیگری که بر روی نمونه های به دست آمده از نواحی شمال غربی ایران انجام شده است، عدم حضور ژن exoT و همچنین فراوانی حدود ۵٪ آن در به ترتیب نمونه های خون و ادرار گزارش شده است (۱). فراوانی دو ژن exoS و به ویژه exoU در مقایسه با جدایه های به دست آمده از افراد دچار باکتری می باشد (۹). مطالعه های Garey و همکارانش به مراتب بیش تر می باشد (۹). مطالعه های دیگر نیز نشان داده اند که محصول های این دو ژن از مهم ترین افکتور پروتئین های فعال در شرایط آزمایشگاه و همچنین بدن موجودات زنده می باشد (۱۱).

کلیه جدایه های به دست آمده از نمونه های ادرار قادر به تولید بیوفیلیم بوده و حتی بیش از ۲۰٪ از آن ها توانایی تشکیل بیوفیلیم به صورت قوی را داشتند، در حالی که هیچ یک از جدایه های خونی نمی توانستند بیوفیلیم را به صورت قوی ایجاد کنند. طبق گزارش ارائه شده توسط مؤسسه ملی سلامت (NIH) نیز، باکتری های تشکیل دهنده بیوفیلیم عامل ۸۰٪ از عفونت ها بوده و در این میان عفونت ادراری یکی از مواردی است که می تواند وضعیت عفونت در این بیماران را وخیم کند (۲۵)، (۲۶).

## نتیجه گیری

با توجه به اهمیت سودوموناس آئروژینوزا در شرکت داشتن در انواعی از عفونت های شناخته شده و همچنین بروز مقاومت نسبت به برخی از آنتی بیوتیک های متداول مورد استفاده، بررسی الگوی مقاومتی این عوامل عفونت زا قبل از تجویز دارو ضروری به نظر می رسد. همچنین، توانایی تشکیل بیوفیلیم توسط این باکتری ها عاملی است که منجر به عدم نتیجه گیری قابل قبول در درمان و یا حتی بروز شکست درمانی می گردد، به همین علت، بررسی و به دنبال آن به کارگیری راه کارهایی که منجر به تخریب و یا حتی جلوگیری از تشکیل بیوفیلیم می شوند، می تواند به عنوان روش درمانی همراه با آنتی بیوتیک مورد استفاده قرار گیرد و به این ترتیب احتمال ریشه کنی

سودوموناس آئروژینوزا یکی از شایع ترین باکتری های بیماری-زای مداخله کننده در عفونت های مختلف می باشد از جمله عفونت های دستگاه ادراری، دستگاه تنفسی، درماتیت و عفونت بافت نرم، باکتری می، عفونت استخوان و مفاصل و عفونت های گوارشی و در ایجاد انواع عفونت های سیستمیک به ویژه در بیماران با سوختگی شدید و بیماران مبتلا به سرطان و ایدز نقش دارد (۶، ۸، ۱۳، ۱۷). توانایی این باکتری برای اتصال به ارگان های مختلف و ایجاد انواع عفونت ها، می تواند به علت وجود ژنوم بزرگ و انواع ژن های کد کننده شاخص های بیماری زایی در این باکتری باشد (۱۷). در این مطالعه با جمع آوری سودوموناس آئروژینوزا از نمونه های خون و ادرار، الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آن ها و همچنین گروهی از شاخص های بیماری زایی مهم در آن از جمله افکتور پروتئین های سیستم ترشحی تیپ ۳ و تولید بیوفیلیم بررسی و مطالعه شده است.

درصد مقاومت آنتی بیوتیکی کلیه جدایه ها نسبت به دو آنتی بیوتیک سفپودوکسیم و سفیکسیم بالاترین میزان (بیش از ۹۵٪) و نسبت به آنتی بیوتیک پلی میکسین B کم ترین میزان می باشد و در درمان عفونت های حادی که با شکست درمان روبه رو شده اند، می تواند گزینه انتخابی مناسبی باشد. در مطالعه هایی که در ایران انجام شده است مقاومت سودوموناس-های جدا شده از منابع مختلف بالینی نسبت به آنتی بیوتیک-های سفوتاکسیم، سفنازیدیم و آمیکاسین آزرانام و تیکارسیلین بالای ۵۰ درصد گزارش شده که کمابیش همانند نتایج به دست آمده از خون در این مطالعه است (۲۳). در این تحقیق کم ترین در صد مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ها در باکتری های جدا شده از ادرار مشاهده گردید. در این نمونه ها فقط مقاومت نسبت به دو آنتی بیوتیک سفپودوکسیم و سفیکسیم بسیار بالا می باشد (۱۰۰٪ و ۹۵/۲۳٪). در مطالعه انجام گرفته در یونان در سال ۲۰۱۲، مقاومت ۴۳ سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از عفونت ادرار نسبت به آنتی بیوتیک ها بررسی و مشخص شد که ۲۷/۹٪ از آن ها به جنتامیسین و ۱۳/۹٪ به سفنازیدیم مقاوم بودند ولی تمامی آن ها به کاربایتم-ها و سیپروفلوکساسین حساس بودند (۲۰). با توجه به نمونه-گیری ادرار از بیماران غیر بستری در بیمارستان مقاومت پایین نسبت به آنتی بیوتیک ها دور از انتظار نمی باشد و اختلاف جزئی در میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در مطالعه حاضر نسبت به سایر مطالعه ها می تواند به دلیل تفاوت الگوی مصرف آنتی بیوتیک در کشورهای مختلف و یا کلون ها متفاوت سودوموناس مورد بررسی باشد.

عفونت را بیش تر کرده و از عود مجدد آن جلوگیری کند. علاوه بر این، با توجه به نقش بیماری زایی افکتور پروتئین ها، بررسی اپیدمیولوژی الگوی ژنوتیپی جدایه های به دست آمده از این بیماران می تواند از لحاظ بالینی اهمیت داشته و در تدوین برنامه های درمانی در مناطق خاص مورد استفاده قرار گیرد.

### سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران صورت گرفته و به این وسیله از حمایت مالی و همچنین تجهیزاتی این گروه کمال تشکر را داریم.

## منابع:

1. Azimi S, Samadi Kafil H, Bannazadeh Baghi H, Shokrian S, Najaf Kh, Asgharzadeh M, Yousefi M, Shahrivar F, Aghazadeh M. Presence of *exoY*, *exoS*, *exoU* and *exoT* genes, antibiotic resistance and biofilm production among *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Northwest Iran. *GMS Hyg Infect Control*. 2016; 11: Doc04.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. M100-S25. 2014; 35(3): 52-54.
3. Culshaw N, Glover G, Whiteley C, Whiteley C, Rowland K, Wyncoll D, Jones A, Shankar-Hari M. Health care associated bloodstream infections in critically ill patients: descriptive cross-sectional database study evaluating concordance with clinical site isolates. *Ann Intensive Care*. 2014; 4:34.
4. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev*. 2002; 15, 167-193.
5. Engel JN. Molecular pathogenesis of acute *Pseudomonas aeruginosa* infections. In: Hauser AR, Rello J, eds. Severe infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. New York: Springer; 2003. p. 201-29.
6. Feltman H, Schult G, Khan S, Jain M, Peterson M, Hauser AR. Prevalence of type III secretion genes in clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Microbiology*, 2001; 147, 2659-2669 .
7. Fleiszig SM, Wiener-Kronish JP, Miyazaki H, Vallas V, Mostov KE, Kanada D, Sawa T, Yen TS, Frank DW *Pseudomonas aeruginosa*-Mediated Cytotoxicity and Invasion Correlate with Distinct Genotypes at the Loci Encoding Exoenzyme S. *Infect Immun*. 1997; 65(2): 579-586
8. Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat. Rev. Microbiol*. 2010; 8, 623-633.
9. Fung C, Naughton S, Turnbull L, Tingpej P, Rose B, Arthur J, Hu H, Harmer C, Harbour C, Hassett DJ, Whitchurch CB, Manos J. Gene expression of *Pseudomonas aeruginosa* in a mucin-containing synthetic growth medium mimicking cystic fibrosis lung sputum. *J Med Microbiol*. 2010; 59:1089-1100.
10. Garey KW, Vo QP, Larocco MT, Gentry LO, Tam VH. Prevalence of Type III Secretion Protein Exoenzymes and Antimicrobial Susceptibility Patterns from Bloodstream Isolates of Patients with *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia. *J Chemother*. 2008; 20(6): 714-720
11. Giske CG, Monnet DL, Cars O, Carmeli Y. Clinical and economic impact of common multidrug-resistant gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008; 52: 813-821.
12. Hall-Stoodley L, Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol*. 2009; 11 (7):1034-1043.
13. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollock DA, et al. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008; 29(11):996-1011.
14. Hu H , Harmer C, Anuj S, Wainwright CE, Manos J, Cheney J, Harbour C, Zablotska I, Turnbull L, Whitchurch CB, Grimwood K, Rose B and the ACFBAL study investigators. Type 3 secretion system effector genotype and secretion phenotype of longitudinally collected *Pseudomonas aeruginosa* isolates from young children diagnosed with cystic fibrosis following newborn screening. *Clin Microbiol Infect*. 2013; 19(3):266-72.
15. Jabalameli F, Mirsalehian A, Khoramian B, Aligholi M, Khoramrooz S.S, Asadollahi P, Taherikalani M, Emaneini M. Evaluation of biofilm production and characterization of genes encoding type III secretion system among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *Burns*. 2012; 38, 1192 -1197.
16. Kato I, Fujimoto F, Higurashi Y, Yamaguchi R, Takayama K, Suzuki M, Okugawa Sh, Okazaki M, Moriya K .Antibiotic Susceptibilities of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Blood Samples and Antibiotic Utilization in a University Hospital in Japan. *Infect Dis Ther* (2015) 4:213-218

17. Lee B, Schjerling CK, Kirkby N, Hoffmann N, Borup R, Molin S, Høiby N, Ciofu O. Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* isolates maintain the biofilm formation capacity and the gene expression profiles during the chronic lung infection of CF patients. *APMIS*. 2011; 119:263–74.
18. Lee VT, Smith RS, Tu"mmler B, Lory S. Activities of *Pseudomonas aeruginosa* effectors secreted by the Type III secretion System in Vitro and during Infection. *Infect Immun*. 2005; 73(3): 1695–170 .
19. Mesaros N, Nordmann P, Plesiat P, Roussel-Delvallez M, Van Eldere J, Glupczynski Y, Van Laethem Y, Jacobs F, Lebecque P, Malfroot A, Tulkens PM, Van Bambeke F.. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. *Clin Microbiol Infect*. 2007;13:560–78.
20. Morita Y, Tomida J, Kawamura Y. Responses of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials. *Front.Microbiol*.2014; 4:422.
21. Perez LR, Barth AL. Biofilm production using distinct media and antimicrobial susceptibility profile of *Pseudomonas aeruginosa* *Braz J Infect Dis*. 2011 Jul-Aug;15(4):301-4.
22. Raj ML, Kalaigandhi V, Kanagaraj C. The Occurrence of (MDR/ MDS) *Pseudomonas aeruginosa* among Nosocomial and Community Acquired Infections in and around Coimbatore, India. *IJCMAS*. 2015; 4: 753-761.
23. Rossolini GM, Mantengoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Microbiol Infect*. 2005;4: 17–32.
24. Sadeghifard N, Valizadeh A, Zolfaghary MR, Maleki MH, Maleki A, Mohebi R, Ghafourian S, Khosravi A. Relationship between the Presence of the nalC Mutation and Multidrug Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J. Microbiol. Volume 2012, Article ID 575193, 3 pages*
25. Sadikot RT, Blackwell TS, Christman JW, Prince AS. Pathogen- host interactions in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Am. J.Respir.Crit. Care Med*. 2005; 171, 1209–1223.
26. Soto SM. Importance of Biofilms in Urinary Tract Infections: New Therapeutic Approaches. *Advances in Biology*. 2014, Article ID 543974, 13 pages
27. Stowe SD, Richards J J, Tucker A T, Thompson R, Melander C, Cavanagh J. Anti-biofilm compounds derived from marine sponges. *Marine Drugs*, 2011; 9 (10): 2010-2035.
28. Tielen P, Narten M, Rosin N, Biegler I, Haddad I, Hogardt M, Neubauer R, Schobert M, Wiehlmann L, Jahn D. Genotypic and phenotypic characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from urinary tract infections. *Int. J. Med. Microbiol*. 2011; 301(4); 282-292.
29. Wareham DW, Curtis MA. A genotypic and phenotypic comparison of type III secretion profiles of *Pseudomonas aeruginosa* cystic fibrosis and bacteremia isolates. *Int J Med Microbiol*. 2007 ; 297(4):227-34.
30. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 309–317.