مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره هفتم، شماره بیست و هشتم - پائیز ۱۳۹۶

Research Article
مقاله تحقیقی

ارزیابی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، ردیابی حضور ژن‌های exo و تعیین توانایی تشکیل بیوفیلم توسط جدایه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* به‌دست آمده از نمونه‌های خون و ادرار

لیلا جبل عاملی [۱]، محمد ایمان عینی [۲]، فرشته جبل عاملی [۲*]

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 آئروژینوا*ز یک بیماری‌زای فرصت‌طلب است که در ایجاد عفونت‌های متعددی نقش دارد، سیستم ترشحی تیپ ۳ و توانایی تشکیل بیوفیلم 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 ترشحی تیپ۳ به‌وسیله تکنیک PCR انجام شد. هم‌چنین توانایی تولید بیوفیلم 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 بیوفیلم به‌صورت قوی را نشان می‌دادند در حالی‌که جدایه‌های خونی فقط می‌توانستند به‌صورت ضعیف و متوسط بیوفیلم تشکیل دهند.

نتیجه‌گیری: با توجه به افزایش مقاومت *سودوموناس آئروژینوزا* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و توانایی آن‌ها در ایجاد عفونت، و هم‌چنین وجود جدایه‌هایی که به طور غالب واجد ژن‌های توکسینی بوده و قادر به تولید بیوفیلم 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 ترشحی تیپ ۳، بیوفیلم، ژن‌های exo

مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا میکروارگانیسمی 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 شرایط فیزیکی بوده و به این ترتیب می‌تواند در جامعه و هم‌چنین منابع مرتبط با محیط‌های بیمارستانی از جمله دستگاه‌های 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). علاوه‌بر 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 جداشده از خون شناسایی می‌شود (۱۱، ۳۰). اهمیت این باکتری در ایجاد عفونت‌های ادراری به‌ویژه در افرادی که از کاتترهای ادراری

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

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1396.7.28.7.1]

استفاده کرده اند بسیار زیاد بوده، به طوری‌که مسئول ایجاد ۳۵٪ از این عفونت‌ها *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد (۲۸). مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به این باکتری می‌تواند به دو صورت ذاتی و اکتسابی باشد که در حالت اول نفوذ ناپذیری غشاء خارجی و فعالیت پمپ‌های خارج کننده دارو و در حالت دوم تولید متالوبتالاکتامازها و تغییر در اهداف آنتی‌بیوتیک، از جمله عوامل اعطای مقاومت می‌باشند (۱۶، ۱۹). عفونت‌های حاد ناشی از این باکتری به‌طور معمول در ارتباط با فاکتورهای ویرولانسی نظیر تاژک، پیلی، اگزوتوکسین و سیستم ترشحی تیپ ۳ (T3SS) بوده است (۲۵). در حالی‌که عفونت‌های مزمن ایجاد شده توسط *سودوموناس آئروژینوزا* به طور عمده در ارتباط با تشکیل بیوفیلم توسط این باکتری‌ها می‌باشد (۲۰)، به‌طوری‌که توانایی تشکیل بیوفیلم منجر به حفاظت باکتری در برابر استرس‌های محیطی از جمله خشکی، مواد کشنده و استرس‌های مکانیکی می‌شود (۸،۴). علاوه‌بر این، سیستم ترشحی تیپ ۳، پروتئین‌های توکسینی که محصول ژن‌های exoS ، exoT، exoU و exoY هستند را مستقیم به سیتوپلاسم سلول‌های یوکاریوتی میزبان تزریق کرده و به این ترتیب در بیماری‌زایی باکتری سهیم می‌شود (۵). در این میان ExoS و ExoT به‌عنوان توکسین‌هایی با دو عملکرد ADP - ریبوزیل ترانسفراز و GTPase شناخته می‌شوند. ExoY و ExoU نیز به‌ترتیب دارای فعالیت‌های آدنیلات سیکلازی و فسفولیپازی هستند (۲۹).

با توجه به اهمیت باکتری *سودوموناس آئروژنوزا* در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی و هم‌چنین بروز مقاومت نسبت به درمان‌های آنتی‌بیوتیکی، این مطالعه به جداسازی باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا* از دو نمونه بالینی خون و ادرار و در ادامه بررسی برخی ویژگی‌های آن از جمله چگونگی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، حضور ژن‌های کد کننده پروتئین‌های دخیل در خاصیت سمی باکتری و توانایی تشکیل بیوفیلم پرداخته است.

مواد و روش‌ها

جداسازی و شناسایی باکتری‌ها

باکتری‌های مورد مطالعه از دو بیمارستان تابعه دانشگاه جمع آوری گشتند. نمونه‌های مربوطه به‌دست آمده از ادرار و خون، ابتدا در آزمایشگاه بیمارستان به‌صورت اولیه تشخیص داده شده و دوباره به منظور تأیید باکتری‌ها به عنوان *سودوموناس آئروژینوزا*، در آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران مورد بررسی قرار گرفتند. تست‌های تأییدی مورد استفاده عبارت بودند از: رنگ آمیزی گرم، تست اکسیداز، بررسی همولیز با کشت بر روی محیط بلاد آگار، بررسی قوام کلنی و توانایی تولید پیگمان و کشت برروی محیط کلیگرآیرون آگار.

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی

بر اساس دستورالعمل CLSI (۲) و با استفاده از روش دیسک آگار دیفیوژن (Disk-Agar Diffusion)، مقاومت باکتری‌های جداشده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر ارزیابی شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی تهیه شده از شرکت MAST [1] به این ترتیب بوده و اعداد نوشته داخل پرانتز نشان دهنده غلظت آنتی‌بیوتیک بر حسب میکروگرم می‌باشد: 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)، پیپراسیلین /تازوباکتام(۱۰/۱۰۰)، سیپروفلوکساسیلین (۵)، لوفلوکساسیلین (۵)، تیکارسیلین (۷۵)، پلی میکسیلین B (۳۰۰)، گاتی فلوکساسیلین (۵)، سفیکسیم (۵).

ردیابی ژن‌های کد کننده افکتور پروتئین‌ها توسط PCR

به این منظور ابتدا استخراج DNA به روش جوشاندن (Boiling)، صورت گرفت و سپس مایع رویی حاصل شده از این روش به‌عنوان DNA الگو در واکنش زنجیره‌ای زنجیره‌ای پلیمراز مورد استفاده قرار گرفت. برای ژن‌های exoS و exoY از واکنش Multiplex PCR استفاده گردید و برای ژن‌های exoU وexoT ، این واکنش ها به طور جداگانه صورت گرفت. از جدایه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* PAO1 نیز به عنوان سوش کنترل استفاده گردید. در نهایت محصول‌های تکثیر شده توسط PCR ، روی آگاروز ۱/۵درصد الکتروفورز شده و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید، مشاهده باندها توسط دستگاه ژل داک صورت گرفت. اطلاعات مربوط به پرایمرهای به‌کار گرفته شده، در جدول۱ مشخص شده است.

[1] MAST Group Ltd.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1396.7.28.7.1]

جدول ۱. توالی پرایمرهای به‌کار برده شده برای تکثیر ژن‌های مورد نظر

ژن هدف	توالی نوکلئوتیدی (5′→3′)	اندازه محصول(bp)	منبع
exoS	F- TCAGGTACCCGGCATTCACTACGCGG R- TCACTGCAGGTTCGTGACGTCTTTCTTTTA	۵۷۲	۶
exoY	F- TCCAAGCTTATGCGTATCGACGGTCATC R- CGTATCGATCCGAGGGGGGTGTATCTGACC	۷۳۰	۶
exoT	F- AGAACCCGTCTTTCGTGGCTGAGTT R- CAGCTCGCTCGCCTTGCCAAGT	۳۵۱	۱۵
exoU	F- CCTTAGCCATCTCAACGGTAGTC R- GAGGGCGAAGCTGGGGAGGTA	۹۱۱	۱۵

سنجش میزان تولید بیوفیلم

به‌منظور بررسی توانایی تولید بیوفیلم، از روش ارائه شده توسط Lee و همکارانش که در آن از اندازه‌گیری جذب نوری به این هدف استفاده شده است، بهره گرفته شد (۱۷). به این ترتیب که ابتدا از کشت شبانه باکتری‌ها در محیط TSB[2] استفاده شد و سپس به‌منظور یکسان سازی کدورت سوسپانسیون‌های میکروبی، رقیق سازی با TSB تازه صورت گرفت و به مقدار ۱۵۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون میکروبی در میکروپلت-های پلی استیرن ۹۶ خانه‌ای ریخته شد و ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس محلول رویی خارج گردید و چاهک‌ها ۳ مرتبه به آرامی توسط ۲۰۰ میکرولیتر از PBS[3] شسته و میکروپلت به صورت وارونه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا خشک و تثبیت اولیه صورت گیرد. جهت فیکس کردن بهتر بیوفیلم‌ها 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 خانه‌ها ۱۰۰ میکرولیتر رنگ کریستال ویوله ۱/۵ درصد اضافه شده و پس از ۲۰ دقیقه پلیت‌ها در زیر آب شیر شسته شدند تا رنگ اضافی از چاهک‌ها خارج شود. با اضافه کردن ۱۵۰ میکرولیتر اسید استیک ۳۳ درصد، رنگ‌های باند شده به بیوفیلم سطح میکروپلیت آزاد شده و در نهایت اندازه‌گیری جذب نوری (OD) هر یک از خانه‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از الایزا ریدر صورت گرفت.

تمامی اندازه‌گیری‌ها به‌صورت ۴ تایی و در سه آزمایش جداگانه تکرار گردید از محیط TSB تلقیح نشده به‌عنوان کنترل منفی در اندازه‌گیری استفاده می‌شد. انحراف معیار بالاتر از میانگین جذب نوری گروه کنترل منفی به عنوان Cut-off جذب نوری (ODc) مورد استفاده قرار می‌گرفت. توانایی تشکیل بیوفیلم سویه‌های مورد آزمایش براساس جذب نوری در ۴ گروه جداگانه شامل عدم اتصال (OD<ODc)، ضعیف (ODc<OD<2xODc)، متوسط (2xODc<OD<4xODc) ، قوی (4xODc<OD) قرار داده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، از مجموع نمونه‌های جمع آوری شده از دو بیمارستان مورد ارزیابی، ۱۸ جدایه *سودوموناس آئروژینوزا* از نمونه‌های خون و ۲۱ جدایه نیز از نمونه‌های ادرار به‌دست آمد. نتایج الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها نسبت به ۱۸ آنتی-بیوتیک مختلف در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج

نشان می‌دهد که در نمونه‌های جدا شده از خون بالاترین مقاومت به کاربنی سیلین، سفپودوکسین و جنتامیسین می-باشد، در حالی‌که نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پلی‌میکسینB ، توبرامایسین ولووفلوکساسین کم‌ترین مقاومت وجود داشت.

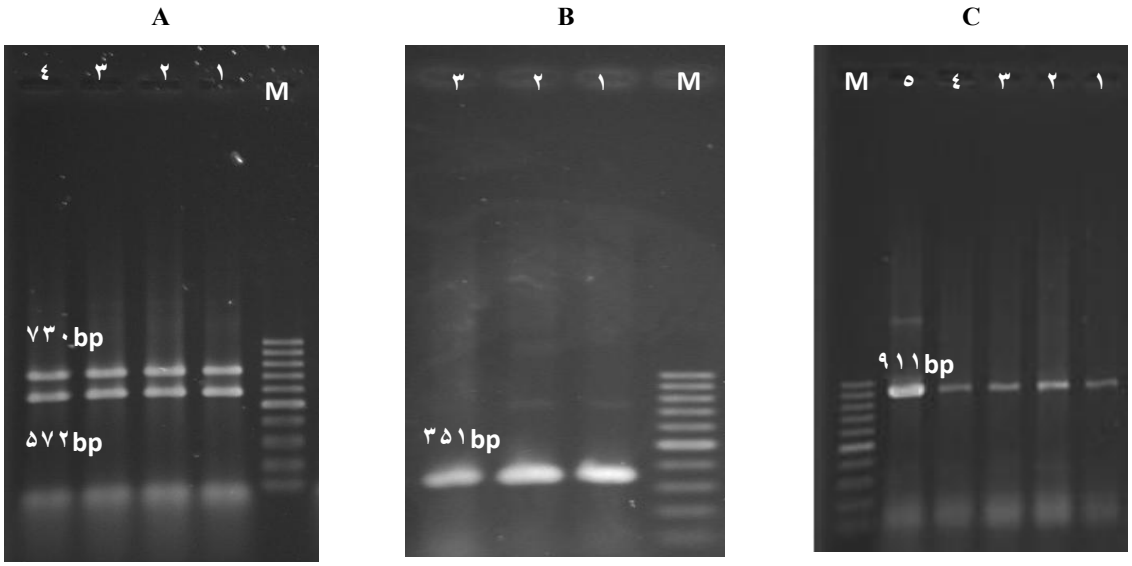
جدول ۲. میزان فراوانی نسبی (مطلق) مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جدا شده از عفونت‌های خون و ادرار

آنتی‌بیوتیک‌ها	خون (درصد) تعداد	ادرار (درصد) تعداد
سفپودوکسیم	۱۸(۱۰۰)	۲۱(۱۰۰)
سفتازیدیم	۱۰(۵۵/۵۶)	۳(۱۴/۲۹)
سفوتاکسیم	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)
جنتامایسین	۱۸(۱۰۰)	۵(۲۳/۸۰)
توبرامایسین	۴(۲۲/۲۲)	۴(۱۹/۰۴)
پیپراسیلین / تازوباکتام	۷(۳۸/۸۹)	۴(۱۹/۰۴)
سیپزوفلوکساسیلین	۵(۲۷/۷۸)	۴(۱۹/۰۵)
لوفلوکساسیلین	۴(۲۲/۲۲)	۱۰(۴۷/۶۱)
تیکارسیلین	۸(۴۴/۴۴)	۴(۱۹/۰۵)
پلی میکسیلین B	۳(۱۶/۶۷)	۰(۰)
گاتی فلوکساسیلین	۶(۳۳/۳۳)	۶(۳۸/۵۷)
سفیکسیم	۱۸(۱۰۰)	۲۰(۹۵/۲۳)

[2] Tryptic Soy Broth
[3] Phosphate Buffer Saline

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1396.7.28.7.1]

سودوموناس‌های جدا شده از ادرار فقط نسبت به سه آنتی-بیوتیک سفیکسیم، سفوتاکسیم و سفپودوکسیم دارای مقاومت بالاتر از ۵۰ درصد بوده وهیچ‌یک از این جدایه‌ها نسبت به پلی-میکسین B مقاومت نشان ندادند. در شکل ۱، نتایج الکتروفورز برای ژن‌های کدکننده افکتور پروتئین‌های مترشحه از سیستم ترشحی تیپ ۳ نشان داده شده است. به‌طوری که نتایج مربوط به قطعه‌های exoY و exoS به صورت واکنش Multiplex و به‌ترتیب با اندازه‌های ۷۳۰ و ۵۷۲ جفت باز، در حالی‌که نتایج مربوط به قطعه‌های exoT و exoU به‌ترتیب با اندازه‌های ۳۵۱ و ۹۱۱ جفت باز، به طور جداگانه نشان داده شده اند. میزان فراوانی این ژن‌ها نیز در جدول ۳ ارائه شده است. همان‌طور که مشخص است، تمام جدایه‌های به‌دست آمده از نمونه‌های خون و ادرار حاوی ژن exoT بوده و حضور ژن‌های exoS و exoY نیز در همه جدایه‌های مربوط به نمونه خون محرز است. فراوانی بیش‌تر exoU نیز در جدایه‌های به‌دست آمده از نمونه خون در مقایسه با جدایه‌های ادراری مشخص است



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

شدت ایجاد بیوفیلم بر اساس طبقه‌بندی چهارتایی در دو گروه بالینی خون و ادرار با روش کدورت سنجی اندازه‌گیری گردید و نتایج آن در جدول ۴ نشان داده شده است. همان‌طور که مشخص است همه جدایه‌های به دست آمده از ادرار توانایی تشکیل بیوفیلم را داشته، و حتی بیش از ۲۳٪ از آن‌ها قادر به ایجاد بیوفیلم قوی بودند. اما در بین جدایه‌های مربوط به خون، توانایی تشکیل بیوفیلم قوی و هم‌چنین عدم تشکیل بیوفیلم مشاهده نشد.

جدول ۳. میزان فراوانی مطلق (نسبی) ژن‌های کد کننده افکتور پروتئین‌های TTSS در جدایه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* در نمونه‌های بالینی خون و ادرار

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

جدول ۴. میزان تشکیل بیوفیلم بر حسب درصد بر اساس طبقه‌بندی چهارتایی در جدایه‌های به دست آمده از خون و ادرار

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

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1396.7.28.7.1]

بحث

سودوموناس آئروژینوزا یکی از شایع‌ترین باکتری‌های بیماری-زای مداخله کننده در عفونت‌های مختلف می‌باشد از جمله عفونت‌های دستگاه اداری ، دستگاه تنفسی ، درماتیت و عفونت بافت نرم، باکتریمی ، عفونت استخوان و مفاصل و عفونت‌های گوارشی و در ایجاد انواع عفونت‌های سیستمیک به‌ویژه در بیماران با سوختگی شدید و بیماران مبتلا به سرطان و ایدز نقش دارد (۶، ۸، ۱۳، ۱۷). توانایی این باکتری برای اتصال به ارگان‌های مختلف و ایجاد انواع عفونت‌ها ، می‌تواند به علت وجود ژئوم بزرگ و انواع ژن‌های کد کننده شاخص‌های بیماری‌زایی در این باکتری باشد (۱۷). در این مطالعه با جمع آوری *سودوموناس آئروژینوزا* از نمونه‌های خون و ادرار ، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها و هم‌چنین گروهی از شاخص‌های بیماری‌زایی مهم در آن از جمله افکتورپروتئین‌های سیستم ترشحی تیپ ۳ و تولید بیوفیلم بررسی و مطالعه شده است .

درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی کلیه جدایه‌ها نسبت به دو آنتی-بیوتیک سفپودوکسیم وسفیکسم بالاترین میزان (بیش از ۹۵٪) و نسبت به آنتی‌بیوتیک پلی‌میکسین B کم‌ترین میزان می‌باشد و در درمان عفونت‌های حادی که با شکست درمان روبه رو شده‌اند، می‌تواند گزینه انتخابی مناسبی باشد. در مطالعه‌هایی که در ایران انجام شده است مقاومت سودوموناس-های جدا شده از منابع مختلف بالینی نسبت به آنتی‌بیوتیک-های سفوتاکسیم ، سفتازیدیم و آمیکاسین آزترونام و تیکارسیلین بالای ۵۰ درصد گزارش شده که کمابیش همانند نتایج به دست آمده از خون در این مطالعه است (۲۳). در این تحقیق کم‌ترین در صد مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری‌های جدا شده از ادرار مشاهده گردید. در این نمونه‌ها فقط مقاومت نسبت به دو آنتی‌بیوتیک سفپودوکسیم و سفیکسیم بسیار بالا می‌باشد (۱۰۰٪ و ۹۵/۲۳ ٪). در مطالعه انجام گرفته در یونان در سال ۲۰۱۲ ، مقاومت ۴۳ *سودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از عفونت ادرار نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها بررسی و مشخص شد که ۲۷/۹ ٪ از آن‌ها به جنتامیسین و ۱۳/۹٪ به سفتازیدیم مقاوم بودند ولی تمامی آن‌ها به کارباپنم-ها و سیپروفلوکساسین حساس بودند (۲۰). با توجه به نمونه-گیری ادرار از بیماران غیر بستری در بیمارستان مقاومت پایین نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها دور از انتظار نمی‌باشد و اختلاف جزیی در میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مطالعه حاضر نسبت به سایر مطالعه‌ها می‌تواند به دلیل تفاوت الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک در کشورهای مختلف و یا کلون‌ها متفاوت سودوموناس مورد بررسی باشد.

در این مطالعه، کلیه ژن‌های exo در نمونه خون فراوانی بیش-تری در مقایسه با نمونه ادرار داشتند. در مطالعه انجام شده توسط Feltman و همکارانش نیز، فراوانی بیش‌تر ژن‌های exoU و exoY در نمونه‌های خون در مقایسه با ادرار گزارش شده است (۵). علاوه‌بر این، در همه جدایه‌های به‌دست آمده در مطالعه حاضر، حضور ژن exoT قطعی بوده، کماینکه این ژن دراغلب گزارش‌های ارائه شده توسط دیگران نیز دارای بیش‌ترین فراوانی بوده و در انواع جدایه‌های به‌دست 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 نمونه‌های به‌دست آمده از نواحی شمال غربی ایران انجام شده است، عدم حضور ژن exoT و هم‌چنین فراوانی حدود ۵ ٪ آن در به‌ترتیب نمونه‌های خون و ادرار گزارش شده است (۱). فراوانی دو ژن exoS و به‌ویژه exoU در مقایسه با جدایه-های به‌دست آمده از افراد دچار باکتریمی نیز در مطالعه Garey و همکارانش به مراتب بیش‌تر می‌باشد (۹). مطالعه‌های دیگر نیز نشان داده‌اند که محصول‌های این دو ژن از مهم‌ترین افکتور پروتئین‌های فعال در شرایط آزمایشگاه و هم‌چنین بدن موجودات زنده می‌باشد (۱۱).

کلیه جدایه‌های به‌دست آمده از نمونه‌های ادرار قادر به تولید بیوفیلم بوده و حتی بیش از ۲۰٪ از آن‌ها توانایی تشکلیل بیوفیلم به‌صورت قوی را داشتند، در حالی‌که هیچ‌یک از جدایه-های خونی نمی‌توانستند بیوفیلم را به‌صورت قوی ایجاد کنند. طبق گزارش ارائه شده توسط مؤسسه ملی سلامت (NIH) نیز، باکتری‌های تشکیل دهنده بیوفیلم عامل ۸۰٪ از عفونت-ها بوده و در این میان عفونت ادراری یکی از مواردی است که می‌تواند وضعیت عفونت در این بیماران را وخیم کند (۲۵ ، ۲۶).

نتیجه‌گیری

با توجه به اهمیت سودوموناس آئروژینوزا در شرکت داشتن در انواعی از عفونت‌های شناخته شده و هم‌چنین بروز مقاومت نسبت به برخی از آنتی‌بیوتیک‌های متداول مورد استفاده، بررسی الگوی مقاومتی این عوامل عفونت‌زا قبل از تجویز دارو ضروری به نظر می‌رسد. هم‌چنین، توانایی تشکلیل بیوفیلم توسط این باکتری‌ها عاملی است که منجر به عدم نتیجه‌گیری قابل قبول در درمان و یا حتی بروز شکست درمانی می‌گردد، به همین علت، بررسی و به دنبال آن به‌کارگیری راه‌کارهایی که منجر به تخریب و یا حتی جلوگیری از تشکیل بیوفیلم می-شوند، می‌تواند به‌عنوان روش درمانی همراه با آنتی‌بیوتیک مورد استفاده قرار گیرد و به این ترتیب احتمال ریشه کنی

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1396.7.28.7.1]

عفونت را بیش‌تر کرده و از عود مجدد آن جلوگیری کند. علاوه‌بر این، با توجه به نقش بیماری‌زایی افکتور پروتئین‌ها، بررسی اپیدمیولوژی الگوی ژنوتیپی جدایه‌های به دست آمده از این بیماران می‌تواند از لحاظ بالینی اهمیت داشته و در تدوین برنامه‌های 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.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1396.7.28.7.1]

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, Schulert 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, OkazakiM, 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*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1396.7.28.7.1]

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*.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1396.7.28.7.1]