

## مقاله پژوهشی

مطالعه فراوانی ژن های *AlgD*, *LasI* و مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه (MDR) در سودوموناس های  
جداشده از نمونه های عفونی مراکز درمانی شهرستان فسامرضیه دهقانیان<sup>۱</sup>، عباسعلی رضائیان<sup>۲\*</sup>

۱- گروه میکروبیولوژی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

۲- گروه میکروبیولوژی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۹/۲۸

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۳/۲۱

## چکیده

**زمینه و هدف:** سودوموناس آئروجینوزا یکی از مهم ترین باکتری های بیماری زای ایجادکننده عفونت های بیمارستانی بوده که دارای مقاومت نسبت به بسیاری از آنتی بیوتیک ها است. همچنین حضور ژن *LasI* و *AlgD* به قدرت بیماری زایی این باکتری کمک می کند. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی ژن های یادشده و مقاومت آنتی بیوتیکی و ارتباط معنی دار بین آنها بوده است.

**مواد و روش ها:** این مطالعه مقطعی - توصیفی بر روی ۹۱ ایزوله سودوموناس جداشده از مراکز درمانی شهرستان فسا انجام شد. پس از انجام تست های استاندارد بیوشیمیایی و میکروبیولوژی، تمامی سویه ها از لحاظ حضور ژن های *LasI* و *AlgD* به روش PCR ارزیابی شدند و تست حساسیت آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن و MIC انجام گرفت. آنالیز آماری توسط نرم افزار SPSS20 انجام شد.

**نتایج:** از ۹۱ جدایه، ۵۴ (۵۹٪/۳۴) نمونه سودوموناس آئروجینوزا و ۳۷ (۴۰٪/۱۶۶) نمونه سایر گونه ها تشخیص داده شدند. نتایج تعیین الگوی مقاومت دارویی برای هر دو گروه نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به سفپیم به وجود آمده است. ۴۰ ایزوله سودوموناس آئروجینوزا و ۳۰ ایزوله سایر گونه ها، تست MIC نسبت به سفپیم را  $\geq 16 \mu\text{g/ml}$  نشان دادند. تمام جدایه ها واجد ژن *AlgD* بوده اند.

**نتیجه گیری:** نتایج این مطالعه، مقاومت بالایی نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف در بین سویه های سودوموناس آئروجینوزا و سایر سویه ها نشان داد. همراهی ژن های کروموسوم سنسینگ و ژن مولد آلزینات با ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی می تواند وخامت درگیری با این گروه از باکتری ها را بیشتر نماید.

**کلمات کلیدی:** سودوموناس آئروجینوزا، *AlgD*, *LasI*

## مقدمه

سودوموناس آئروجینوزا یک پاتوژن فرصت طلب انسانی است که باعث ایجاد عفونت های متعددی در ارگان های مختلف بدن از جمله چشم، گوش، دستگاه تنفسی و مجاری ادراری می شود. این باکتری دارای ویژگی های فنوتیپی مختلفی است که آن را قادر می سازد در شرایط محیطی متفاوت بقا داشته باشد (۱). یکی از دلایل سازگاری این باکتری، ارتباط آن با سایر باکتری ها است. این ارتباط از طریق سیستم کروموسوم سنسینگ انجام می گیرد که در آن باکتری ها مولکول های شیمیایی را بانام خود القاگر آزاد می کنند (۲). سیستم کروموسوم سنسینگ سودوموناس

آئروجینوزا از دو جفت ژن اصلی تشکیل شده است. یک جفت شامل ژن های *Las I* و *Las R* است و جفت دیگر بانام *Rhl*، از ژن های *Rhl R* و *Rhl I* تشکیل شده است (۳). در سودوموناس آئروجینوزا بیان بسیاری از فاکتورهای بیماری زا توسط سیستم کروموسوم سنسینگ کنترل می شود؛ بنابراین با توجه به نقش این مکانیسم در تنظیم و تولید بسیاری از فاکتورهای بیماری زا، عملکرد کروموسوم سنسینگ برای ایجاد بیماری و عفونت سودوموناس آئروجینوزا ضروری است (۴-۵).

از سوی دیگر آلزینات به عنوان یک ماتریکس خارج سلولی عمل می کند که تشکیل بیوفیلم های تمایز یافته را امکان پذیر می سازد و موجب مقاومت آنتی بیوتیکی و جلوگیری از فاگوسیتوز از طریق سیستم ایمنی میزبان می شود (۶). جهت بیوسنتز

\*نویسنده مسئول: عباسعلی رضائیان، گروه میکروبیولوژی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران  
Email: rezaeianfon45@gmail.com  
https://orcid.org/0000-0003-3284-4788

به مراکز درمانی شهرستان فسا از جمله بیمارستان ولیعصر، انجام پذیرفت. نمونه‌ها بر روی محیط کشت‌های بلاگ آگار و نوترینت آگار کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری پلیت‌ها از نظر وضعیت کلنی، مورفولوژی کلنی، بوی کلنی، همولیز، رنگ‌دانه‌های تولیدی مورد بررسی قرار گرفتند. برای کلنی‌های برجسته و موکوئیدی و دارای همولیز، رنگ‌آمیزی گرم و سپس تست‌های بیوشیمیایی گذاشته شد. کلنی‌هایی که کاتالاز، اکسیداز، سیترات، حرکت و Open OF مثبت، LD، OD و اوره آز منفی بودند، به‌عنوان جنس سودوموناس انتخاب شدند و برای مرحله بعد در گلیسرول ۱۰ درصد نگهداری شدند (۱۰).

به‌منظور انجام Simple PCR، استخراج DNA ژنومی از سویه-های نگهداری شده در گلیسرول ۱۰ درصد انجام شد. استخراج DNA بر اساس روش جوشاندن انجام گرفت. برای تکثیر ژن‌های *LasI* و *AlgD* از توالی اختصاصی الیگونوکلئوتیدی پرایمرهای تهیه‌شده از شرکت پیشگام (تهران، ایران) استفاده شد. توالی الیگونوکلئوتیدی پرایمرها و پروتکل دمایی در جدول ۱ نشان داده شده است.

آلژینات، ۱۲ ژن از جمله *algE algK alg44 alg8 algD algA algF algJ algI algL algX algG* در یک اپرون قرار دارند که توسط پروموتور AlgD به‌شدت کنترل می‌شوند (۷-۸). سیستم کروموسنسینگ علاوه بر دخالت در بیماری‌زایی، یک ژن اختصاصی گونه بوده که می‌توان با طراحی پرایمر اختصاصی آن (به‌عنوان مثال طراحی پرایمر *LasI*) با حساسیت بسیار بالا، سودوموناس آئروچینوزا را از سایر گونه‌ها به روش PCR جدا نمود (۹).

بنابراین با توجه به نقش سیستم کروموسنسینگ سودوموناس آئروچینوزا در بیماری‌زایی و نیز افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این باکتری، هدف از این مطالعه ارزیابی ارتباط تولید آلژینات، سیستم کروموسنسینگ و مقاومت چند آنتی‌بیوتیکی در میان سودوموناس‌های جداشده از نمونه‌های بالینی است.

### مواد و روش‌ها

این مطالعه مقطعی - توصیفی در یک دوره ۴ ماهه (اسفندماه ۹۵ الی خردادماه ۹۶) بر روی ۱۲۰ نمونه بالینی جمع‌آوری شده از زخم‌های سوختگی و عفونت‌های ادراری بیماران مراجعه‌کننده

جدول ۱- توالی پرایمرها پروتکل‌های دمایی مورد استفاده

| ژن              | اندازه محصول | Sequence (5'→3')  | واسرشت اولیه | واسرشت اتصال | طول شدن  | طول شدن نهایی |          |         |
|-----------------|--------------|---|--------------|--------------|----------|---------------|----------|---------|
| <i>16s rRNA</i> | ۱۹۸          | F: 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAGT-3'<br>R: 5'-TATTACCGCGTCTGTGGC-3'   | دما (°C)     | ۹۴           | ۹۴       | ۵۷/۵          | ۷۲       |         |
|                 |              |   | زمان         | ۵ دقیقه      | ۴۵ ثانیه | ۳۰ ثانیه      | ۱ دقیقه  | ۵ دقیقه |
|                 |              |   | تعداد سیکل   |              |          | ۳۰            |          |         |
| <i>LasI</i>     | ۶۰۷          | F: 5'-ATGATCGTACAAATTGGTCGG-3'<br>R: 5'-GTCATGAAACCGCCAGTC-3'   | دما (°C)     | ۹۵           | ۹۵       | ۵۸            | ۷۲       |         |
|                 |              |   | زمان         | ۵ دقیقه      | ۳۰ ثانیه | ۳۰ ثانیه      | ۳۰ ثانیه | ۵ دقیقه |
|                 |              |   | تعداد سیکل   |              |          | ۳۰            |          |         |
| <i>AlgD</i>     | ۵۲۰          | F: 5'-TTCCCTCGCAGAGAAAACAT-3'<br>R: 5'-CCTGGTTGATCAGGTCGATCT-3' | دما (°C)     | ۹۵           | ۹۴       | ۶۲            | ۷۲       |         |
|                 |              |   | زمان (دقیقه) | ۴            | ۱        | ۱             | ۱        | ۷       |
|                 |              |   | تعداد سیکل   |              |          | ۳۵            |          |         |

بودند. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد میزان حساسیت و یا مقاومت باکتری به آنتی‌بیوتیک‌ها با توجه به جدول CLSI 2017، مورد بررسی قرار گرفت (۱۱). برای انجام آزمون MIC از محیط مولر هینتون برات و آنتی-بیوتیک سفپیم محصول شرکت کیمیا دارو استفاده گردید. جهت انجام این آزمون، ۰/۰۲۵۶ گرم از پودر آنتی‌بیوتیک در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و سپس در مراحل تهیه رقت مورد استفاده قرار گرفت. در رقت‌های ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴ و ۱۲۸ رشد باکتری بر اساس جدول CLSI2017 مورد مطالعه قرار گرفت.

### نتایج

بر اساس نتایج بیوشیمیایی و روش مولکولی PCR جهت *16s rRNA*، از ۱۲۰ نمونه جمع‌آوری شده، ۹۱ نمونه سودوموناس جدا شد. بر اساس نتایج حاصل از PCR ژن *LasI* از ۹۱ نمونه

جهت تأیید درجه خلوص DNA استخراج شده، از دستگاه نانودراپ استفاده گردید. در نهایت، واکنش PCR به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس شرکت سیناژن، ۵/۵ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه، ۲/۵ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها به غلظت ۱۰ پیکومول و ۲ میکرولیتر DNA الگو با استفاده از پروتکل دمایی نشان داده شده در جدول ۱، انجام گرفت. در پایان، محصولات واکنش PCR در ژل آگارز ۱٪ در مقایسه با سویه سودوموناس *آتروجینوزا* ATCC 37853، برای استانداردسازی آنالیز گردید.

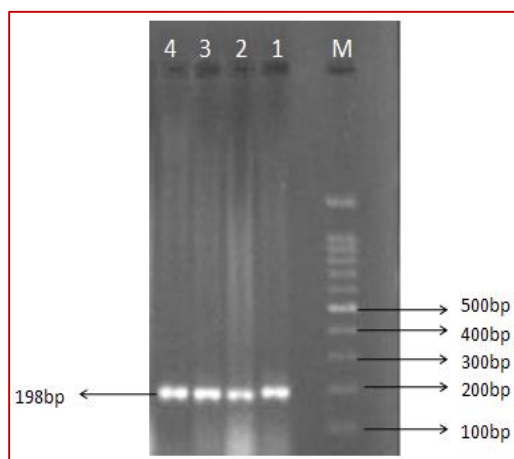
برای کلیه نمونه‌ها، جهت بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی کشت بر روی محیط مولر هینتون انجام شد. آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی شامل آمیکاسین (۳۰ μg)، جنتامایسین (۱۰ μg)، توبرامایسین (۱۰ μg)، سیپروفلوکساسین (۵ μg)، سفنازیدیم (۳۰ μg)، مروپنم (۱۰ μg)، ایمی‌پنم (۱۰ μg)، سفپیم (۳۰ μg)، پیراسیلین (۱۰۰ μg) و نورفلوکساسین (۱۰ μg) محصول شرکت کیمیا دارو

جدول ۲- نتایج حاصل از PCR ژن‌های *AlgD* و *LasI*، *16S rRNA*

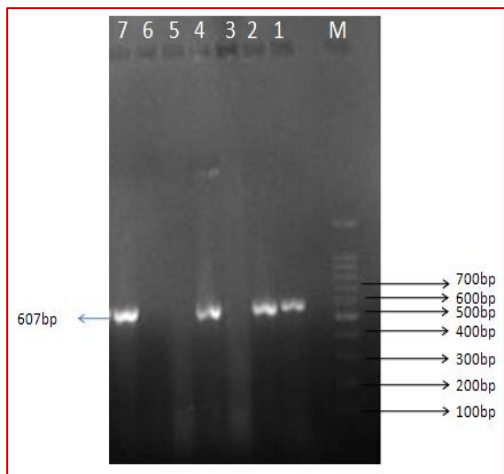
|                             | 16S rRNA | las1 | AlgD | Frequency   |
|-----------------------------|----------|------|------|-------------|
| سودوموناس <i>آتروجینوزا</i> | +        | +    | +    | ۵۴ (٪۵۹/۳۴) |
| سایر سودوموناس‌ها           | +        | -    | +    | ۳۷ (٪۴۰/۶۶) |

جدول ۳- مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ در جدایه‌های مورد مطالعه

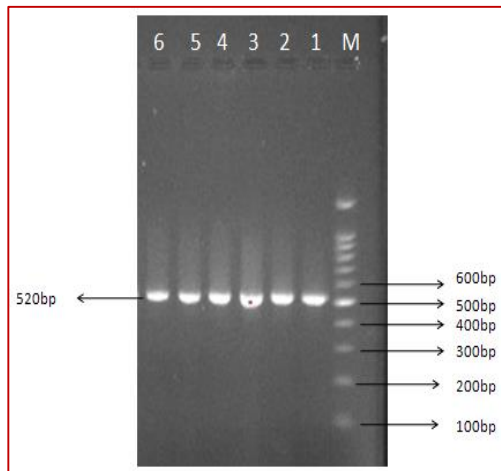
|           |               | سودوموناس <i>آتروجینوزا</i> | سایر گونه‌های سودوموناس |
|-----------|---------------|-----------------------------|-------------------------|
|           |               | Resistance zone             | P value ≤ ۰/۰۵          |
| Class I   | Piperacillin  | ≤۱۴                         | ۰/۹۸۱                   |
|           | Ceftazidime   | ≤۱۴                         | ۰/۵۴۱                   |
| Class II  | Cefepime      | ≤۱۴                         | ۰/۰۰۱                   |
|           | Imipenem      | ≤۱۵                         | ۰/۰۸۷                   |
| Class III | Meropenem     | ≤۱۵                         | ۰/۰۰۰                   |
|           | Amikacin      | ≤۱۴                         | ۰/۶۸۷                   |
| Class IV  | Gentamicin    | ≤۱۲                         | ۰/۱۸۵                   |
|           | Tobramycin    | ≤۱۲                         | ۰/۰۰۰                   |
| Class V   | Ciprofloxacin | ≤۱۵                         | ۰/۰۰۰                   |
|           | Norfloxacin   | ≤۱۲                         | ۰/۰۰۰                   |



شکل ۱- نتیجه انجام PCR برای شناسایی حضور ژن *LasI* 16S rRNA بر روی ژل آگاروز ۱٪ (M: مارکر، ۱: کنترل مثبت، ۲-۴: نمونه‌های مثبت)



شکل ۲- نتیجه انجام PCR برای شناسایی حضور ژن *lasI* بر روی ژل آگاروز ۱٪ (M: مارکر، ۱: کنترل مثبت، ۲، ۴، ۷: نمونه‌های مثبت)



شکل ۳- نتیجه انجام PCR برای شناسایی حضور ژن *AlgD* بر روی ژل آگاروز ۱٪ (M: مارکر، ۱: کنترل مثبت، ۲-۶: نمونه‌های مثبت)

سودوموناس جدانشده، ۵۴ (۵۹٪/۳۴) نمونه سودوموناس آئروجینوزا و ۳۷ (۴۰٪/۱۶۶) نمونه سایر سودوموناس‌ها بودند. همه نمونه‌ها واجد ژن *AlgD* بودند. نتایج در جدول ۲ نشان داده شده است.

نتایج حاصل از PCR بر روی ژل آگاروز برای شناسایی حضور ژن‌های *LasI*، *AlgD* و *16S rRNA* در شکل‌های ۱، ۲ و ۳ آورده شده است.

بر اساس نتایج حاصل از آنتی‌بیوگرام و با استفاده از نرم‌افزار SPSS20 در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ درصد مشاهده شد که جمعیت سودوموناس آئروجینوزا مورد مطالعه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفپیم، مروپنم، توبرامایسین، سیپروفلوکساسین و نورفلوکساسین مقاومت پیدا نموده‌اند. همچنین جمعیت سایر سودوموناس‌های مورد مطالعه نیز نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفپیم، مروپنم، جنتامایسین، توبرامایسین، سیپروفلوکساسین و نورفلوکساسین مقاومت پیدا کرده‌اند. در جدول ۳ یافته‌های حاصل از آزمون آنتی‌بیوگرام نشان داده شده است.

بر اساس آزمون کای‌مربع مشخص شد که در سطح ۰/۰۵ رابطه معنی‌داری در پاسخ سودوموناس آئروجینوزا‌های مورد آزمایش به برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها مصرفی وجود دارد، به طوری که مصرف هم‌زمان این آنتی‌بیوتیک‌ها و یا جایگزینی یکی به جای دیگری، تأثیری در درمان نخواهد گذاشت.

پس از آنالیز سویه‌های مقاوم مشخص گردید که ۹۴/۴۵٪ از سودوموناس آئروجینوزا و ۹۷/۳٪ از سایر سودوموناس‌ها جزء گروه MDR بوده‌اند. نکته قابل توجه این است که سویه‌های غیر از آئروجینوزا ۱/۰۳ بار مقاوم‌تر بوده‌اند، به طوری که نمی‌توان خطر آن‌ها را نادیده گرفت.

سویه‌های مورد مطالعه در تست MIC، در غلظت‌های ۱۲۸، ۶۴، ۳۲ و ۱۶ میکروگرم سفپیم، قابلیت رشد نداشتند و حداقل غلظت آنتی‌بیوتیک که توانایی مقابله با باکتری را دارد، غلظت ۱۶ میکروگرم بود.

### بحث

سودوموناس آئروجینوزا یک باکتری پاتوژن فرصت‌طلب بیمارستانی است که به علت دارا بودن مقاومت ذاتی و اکتسابی به آنتی‌بیوتیک‌های معمول مرگومیر ناشی از عفونت‌های آن بسیار شایع است لذا شناسایی سریع و دقیق باکتری می‌تواند در کنترل عفونت و کاهش مرگومیر مؤثر باشد (۱۲).

شرایط جغرافیایی مختلف سروتایپ‌های مختلفی از یک باکتری می‌تواند مشاهده شود که دارای جهش‌های متفاوت نسبت به زیستگاه خود است.

طبق نتایج به‌دست‌آمده از تحقیقات انجام‌شده در رابطه با مقاومت دارویی باکتری *سودوموناس آئروجینوزا* در سال‌های اخیر می‌توان اظهار داشت که این باکتری در برابر آنتی‌بیوتیک‌های سفپیم و پپراسیلین دارای مقاومت بیشتری نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها است و این دارو، انتخاب مناسبی برای درمان عفونت‌های *سودوموناس* نیست. مناسب‌ترین دارو برای درمان عفونت‌های ناشی از *سودوموناس آئروجینوزا* مروپنم است که پس از بررسی، *سودوموناس آئروجینوزا* دارای کمترین مقاومت و بیشترین حساسیت نسبت به این آنتی‌بیوتیک بود.

وانگ در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۳ انجام داد اظهار کرد که ایزوله‌های *سودوموناس آئروجینوزا* معیوب در کروم‌سنسینگ در تولید فاکتورهای بیماری‌زا نیز معیوب بوده و نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هایی که بر روی سیستم کروم‌سنسینگ اثرگذار بودند، مقاوم بودند (۱۶). لیانگ در مطالعه خود در سال ۲۰۱۴، *VqsM* را به‌عنوان کنترل‌کننده تولید فاکتورهای بیماری‌زایی و نیز مولکول‌های سیگنالینگ کروم‌سنسینگ معرفی کرد که به‌طور مستقیم به ناحیه پروموتور *LasI* متصل می‌شود و بیان آن را تنظیم می‌نماید (۱۷).

آلژینات نیز یکی از عوامل ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی است که در مطالعه انجام‌شده توسط تیالین در سال ۲۰۱۳ بیان شد که برهمکنش بین *LipA* و آلژینات موجب خنثی‌سازی آنزیم و تجمع درون بیوفیلما می‌شود. در نتیجه سلول را از تجزیه توسط سوبستراها محافظت می‌کند (۱۸). ولدبیگی در مطالعه خود در سال ۱۳۹۰، نشان داد که آلژینات جزء فاکتورهای بیماری‌زای *سودوموناس آئروجینوزا* است و در عفونت‌های ادراری و سوختگی دارای اهمیت است (۱۹).

در مطالعه حاضر بین تولید آلژینات و *16s rRNA* ارتباط معنی‌داری وجود دارد. *AlgD* در تمامی سویه‌های *سودوموناس* جداسازی شده دیده شد؛ بنابراین شاید بتوان علاوه بر *LasI* از پرایمر *AlgD* در جداسازی سویه‌های *سودوموناس* کمک گرفت.

دهدوه در مطالعه خود در سال ۲۰۱۴، اهمیت غلظت پیشگیری از جهش را بیان نمود و نشان داد که در غلظت کم آنتی‌بیوتیک در درمان *سودوموناس آئروجینوزا* موجب تولید دو

به دلیل اهمیت مقاومت دارویی در درمان عفونت‌های سوختگی و زخم جهت کمک به بهبود روند درمانی در این مطالعه به بررسی مقاومت دارویی و عوامل مرتبط با مقاومت دارویی پرداخته شده است.

ازجمله عوامل حدت *سودوموناس آئروجینوزا* می‌توان به *lasI* و آلژینات اشاره کرد. *lasI* ازجمله واحدهای تشکیل‌دهنده سیستم کروم‌سنسینگ است که علاوه بر نقش در بیماری‌زایی می‌تواند به کمک آن *سودوموناس آئروجینوزا* را با دقت بسیار بالا، از سایر گونه‌های *سودوموناس* جدا نمود.

آقاملابی در سال ۱۳۹۲، *lasI* را به‌عنوان یک ژن اختصاصی *سودوموناس* معرفی نمود. در این مطالعه از بین ۱۲۰ نمونه گرفته‌شده، به‌وسیله تست‌های بیوشیمیایی و PCR ژن‌های *16s rRNA* و *lasI*، ۹۱ سویه *سودوموناس* جدا گردید و از این تعداد، ۵۴ سویه (۵۹/۳۴٪) *سودوموناس آئروجینوزا* و ۳۷ سویه (۴۰/۱۶۶٪) سایر گونه‌های *سودوموناس* بودند.

در مطالعه حاضر ۱۰ آنتی‌بیوتیک از ۵ کلاس مختلف انتخاب شد که پس از انجام تست آنتی‌بیوگرام مشخص شد که بیشترین مقاومت دارویی در سویه‌ی *سودوموناس آئروجینوزا* مربوط به آنتی‌بیوتیک سفپیم (۷۷/۷۷٪) و پپراسیلین (۴۰/۰۷٪) و کمترین مقاومت مربوط به مروپنم (۹/۲۶٪) بود. در سایر سویه‌های *سودوموناس* بیشترین مقاومت مربوط به سفپیم (۸۱/۰۸٪) و ایمپنم (۴۵/۹۵٪) و کمترین مقاومت مربوط به توبرامایسین (۸/۱۱٪) بود.

طبق مطالعاتی که رحیمی و همکاران در سال ۱۳۹۱، بر روی ۱۰۰ نمونه *سودوموناس* جداشده از بیماران بستری در بیمارستان‌های اراک داشتند، بیشترین مقاومت را نسبت به ایمپنم و مروپنم (۳۵٪) و بیشترین حساسیت را نسبت به آمیکاسین (۹٪) گزارش کردند (۱۳). آدابی و همکاران در مطالعه‌ای در سال ۱۳۹۳، بیشترین مقاومت را نسبت به سفپیم (۸۹/۵٪) گزارش کردند (۱۴). جودزاده و همکاران در سال ۲۰۱۵، بیشترین مقاومت را مربوط به سفپیم (۵۵/۴٪) و مروپنم (۵۰٪) اعلام کردند (۱۵).

مقایسه مطالعه انجام‌شده با برخی از مطالعات صورت گرفته در سال‌های اخیر نشان‌دهنده‌ی مغایرتی با یکدیگر است که این اختلاف نتایج می‌تواند به دلیل اختلاف در جامعه آماری و همچنین شرایط جغرافیایی جمع‌آوری نمونه باشد. همچنین در



ژن‌های مقاومت از بین اعضا فامیل سودوموناس به چرخش درآمده و به‌زودی شاهد شیوع بیشتر سویه‌هایی باشیم که به تمام آنتی‌بیوتیک‌ها از خود مقاومت نشان می‌دهند. لذا می‌بایست خطر سایر گونه‌های سودوموناس را جدی گرفت. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان چنین بیان نمود که پرایمر ژن *LasI* اختصاصی در حد گونه عمل می‌نماید، لیکن از پرایمر ژن *AlgD* می‌توان برای جداسازی جنس به‌راحتی استفاده کرد زیرا ظاهراً این ژن در سودوموناس‌ها به‌صورت همولوگ است.

### تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه خانم مرضیه دهقانیان دانشجوی کارشناسی ارشد رشته میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز به کد ثبتی ۱۶۳۳۰۵۰۷۹۵۲۰۰۱ استخراج شده است. نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند تا از کارکنان آزمایشگاه پژوهشی بخش میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم که در انجام مراحل این تحقیق همکاری نموده‌اند، تشکر و قدردانی به عمل آورند.

### تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی را اعلام نکرده‌اند.

محصول KPC و MBL برای مقابله با آنتی‌بیوتیک می‌شود. در نتیجه تعیین MIC و MPC قبل از درمان ضروری به نظر می‌رسد (۲۰).

### نتیجه‌گیری

این مطالعه باهدف بررسی ارزیابی ارتباط تولید آلژینات، بیان ژن *LasI* (سیستم کروم‌سنسینگ) و مقاومت چند آنتی‌بیوتیکی در بین سودوموناس‌های جدانشده از نمونه‌های بالینی بیماران مراجعه‌کننده به مراکز درمانی شهرستان فسا انجام گرفت. مشاهده شد که تمامی سویه‌های سودوموناس جدانشده دارای آلژینات می‌باشند که می‌تواند در بیماری‌زایی سودوموناس نقش داشته باشد. تاکنون تصورات بر این بود که مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سودوموناس آئروجینوزا بیشتر از سایر گونه‌ها است اما با توجه به پژوهش حاضر مشخص گردید که مقاومت آنتی‌بیوتیکی سایر سویه‌های سودوموناس نیز در حال افزایش است و می‌بایست جهت پیشگیری از افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی این سویه‌ها، مطالعات گسترده صورت گیرد.

همچنین از آنجاکه در این پژوهش جمعیت سایر سودوموناس‌های غیر آئروجینوزا تنوع مقاومتی بیشتری از خود نشان دادند این احتمال وجود دارد که در محیط و در اثر تبادلات ژنتیکی

### References

- Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The bacteria cell envelope. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2010; 2(5): 414.
- Andrejko M, Agnieszka ZB, Janczarek M, Cytryńska M. Three *Pseudomonas aeruginosa* strains with different protease profiles. Acta Biochim Pol, 2013; 60(1): 83-90
- Lee J, Zhang L, The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. Protein Cell, 2015; 6(1): 28-41.
- Moosazadeh-Moghaddam M, Kohi S, Mirhosseini A, Ouarum sensing in bacteria and glance on *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Microbial, 2014; 3(4): 156
- Tashiro Y, Yawata Y, Toyofuku M, Nomura N. Interspecies interaction between *Pseudomonas aeruginosa* and other microorganisms. Microbes Wnviron, 2013; 28(1): 13-24.
- Fata Moradali M, Donati I, Sims IM, Ghods S, Rehm BHA. Alginate polymerization and modification are linked in *Pseudomonas aeruginosa*. MBio, 2015; 6(3): e00453-15.
- Hay ID, Rehman ZU, Fata Moradali M, Wang Y, Rehm BH. Microbial laginate production, modification and its application. Microbe Biotechnology, 2013; 6(6): 637-650.
- Maleki S, Almaas E, Zotchev S, Valla S, Ertesvåg H. Alginate biosynthesis factories in *Pseudomonas fluorescens*: localization and correlation with alginate production level. Appl Environ Microbiol, 2016; 82: 1227-1236.
- Aghamollae H, AziziBarjini K, MoosazadehMoghadam M. Rapid detection of *Pseudomonas aeruginosa* by PCR method using specific primers of quorum sensing *LasI* gene. YUMSJ, 2013; 9: 722-735. [Article in Persian]
- Hall GS, McDermott C, Grant GD. Toxins (Basel), 2016; 8(8): 236.
- Patel JB, Weinstein MP, Eliopoulos GM et al. Clinical and Laboratory Standards Insitutue. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing in: M100-S23, 27<sup>rd</sup> ed. Pennsylvania, 2017; 42-44.

12. Khorramrooz S, Gharibpour F, Parhizgari N *et al*. Prevalence of class 1 integron and antibiotic resistance among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients admitted to the burn unit at Taleghani hospital in Ahvaz. AMUJ, 2015; 18(96): 9-18 [Article In Persian]
13. Rahimi B, Shojapour M, Sadeghi AR, Pourbabaei AA. The study of the antibiotic resistance pattern of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from hospitalized patients in Arak. AMUJ, 2012; 15(6): 8-14. [Article in Persian]
14. Adabi M, TalebiTaher M, Arabi L, Afshar M, Fathizadeh S, Minaeian S *et al*. Determination of antibiotic resistance pattern of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients with burn wounds. JARUMS, 2015; 15(1): 66-74. [Article In Persian]
15. Joodzadeh M, Farajzadeh Sheikh A, Shahin M, Tavakol H. Correlation of frequency of *Pseudomonas aeruginosa* and *Exou* genes and their antibiotic sensitivity pattern in specimen isolated from ICU ward. International Journal of Medical Research & Health Sciences, 2016; 5(6): 248-254.
16. Wang H, Tu F, Gui Z. Antibiotic resistance profile and quorum sensing – dependent virulence factors in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Indian J Microbiol, 2013; 53(2): 163-167.
17. Liang H, Deng X, Li X, Ye Y, Wu M. Molecular mechanisms of mater regulator VqsM mediating quorum –sensing ana antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Nucleic Acid Research, 2014; 42(6): 10307-10320.
18. Tielen P, Kuhn H, Rosenau F, Jaeger KE, Flemmin HC, Wingender J. Interaction between extracellular lipase LipA and the polysaccharide alginate of *Pseudomonas aeruginosa*. BMC Microbiology, 2013; 13:159.
19. McCaslin CA, Petrusca DN, Poirier C, Serban KA, Anderson GG, Petrache I. Impact of alginate- producing *Pseudomonas aeruginosa* -on alveolar macrophage apoptotic cell clearance. J CyctFibros, 2015; 14(1): 70-77.
20. Dahdouh E, Shoucair SH, Salem SE, Daoud Z. Mutant prevention concentration of imipenem and meropenem against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacterbaumanni*. The Scientific World Journal, 2014; 1-7.

## Original Article

## The Study of *LasI* and *AlgD* Genes Frequency and Multidrug Resistance (MDR) in *Pseudomonads* Isolated from Infectious Samples of Fasa Medical Centers

Dehghaniyan M<sup>1</sup>, Rezaeian A<sup>2\*</sup>

1. Department of Microbiology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

2. Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran

Received: 11 Jun 2018

Accepted: 19 Dec 2018

### Abstract

**Background & Objective:** *Pseudomonas aeruginosa* is one of the most important pathogenic bacteria causing infectious diseases that include resistance to many antibiotics. In addition, existence of *LasI* and *AlgD* gene contributes to pathogenicity of this bacterium. This study is aimed to investigate the frequency of mentioned genes, antibiotic resistance and a significant relationship between them.

**Materials & Methods:** This descriptive cross-sectional study was performed on 91 isolated *Pseudomonas* from Fasa medical centers. After completing biochemical and microbiological tests, all strains were evaluated by the PCR method in terms of *LasI* and *AlgD* genes existence, and antibiotic susceptibility test was performed by disk diffusion and MIC methods. Statistical analysis was performed using SPSS 20 software.

**Results:** Among 91 isolated samples, (59.34%) 54 samples of *Pseudomonas aeruginosa* and (40.66%) 37 samples of other species were detected. The results of drug resistance pattern determination for both groups showed that highest resistance to Cefepime has been established. 40 isolated *Pseudomonas aeruginosa* and 30 isolated samples of other species showed a MIC test relative to Cefepime. All isolated samples had *AlgD* gene.

**Conclusion:** The results of this study revealed high resistance to different antibiotics among *Pseudomonas aeruginosa* strains and other strains. Quorum sensing genes and alginate generator genes with antibiotic resistance genes can increase the severity of involvement in this group of bacteria.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, *AlgD*, *LasI*

\*Corresponding Author: Rezaeian AbbasAli, Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran

Email: rezaeianfon45@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0003-3284-4788>