Archive of SID

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و پنجم/شماره‌ی ۴۲۸/هفته‌ی چهارم خرداد ماه ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱/۲۸

بررسی فراوانی ژن‌های exoU و exoS در Pseudomonas aeruginosa جدا شده از بیماران سوختگی در کرمانشاه

کمال احمدی[۱]، سیاوش وزیری[۲]، سید حمیدرضا مرتضوی[۳]، فیض‌اله منصوری[۲]، ماندانا افشاریان[۲]، احمد تاجه‌میری[۴]، مهسا کاشف[۱]، محسن عزیزی[۱]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: Pseudomonas aeruginosa یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌های عامل عفونت در بیماران سوختگی است. هدف از انجام این مطالعه، تعیین فراوانی ژن‌های exoU و exoS و الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی Pseudomonas aeruginosa جدا شده از بیماران سوختگی در کرمانشاه بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی توصیفی- مقطعی، تعداد ۱۹۴ نمونه با استفاده از روش‌های استاندارد باکتری‌شناسی بررسی شدند. پس از سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها به روش انتشار از دیسک، از پرایمرهای اختصاصی جهت فراوانی ژن‌های exoU و exoS در میان ایزوله‌ها استفاده شد. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: از مجموع ۹۱ ایزوله‌ی Pseudomonas aeruginosa شناسایی شده، ۷۲ مورد (۷۹/۱ درصد) آن‌ها، Multidrug resistance (MDR) داشتند. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در برابر جنتامایسین (۷۹/۱ درصد) و سفتازیدیم (۷۴/۷ درصد) و همچنین، بیشترین حساسیت نسبت به کلیستین (۱۰۰ درصد) و پلی‌مکسین B (۹۲/۳ درصد) بود. فراوانی ژن‌های exoU و exoS برابر با ۸۰/۲ درصد و ۶۸/۱ درصد بود. بین فراوانی ژن exoU و مقاومت به سفتازیدیم (P = ۰/۰۴۱) و سفوتاکسیم (P = ۰/۰۵۰) از نظر آماری رابطه‌ی معنی‌داری وجود داشت.

نتیجه‌گیری: با توجه به نقش باکتری Pseudomonas aeruginosa در ایجاد عفونت‌های زخم سوختگی و نقش ژن‌های سیتوتوکسین و ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در کلونیزاسیون و بقای این باکتری، پرهیز از درمان‌های تجربی، تشخیص دقیق نوع عوامل ویرولانس (Virulence) و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی جهت انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب و کارا به منظور جلوگیری از عفونت، امری ضروری به نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: Pseudomonas aeruginosa، اگزوآنزیم‌های U و S، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

ارجاع: احمدی کمال، وزیری سیاوش، مرتضوی سید حمیدرضا، منصوری فیض‌اله، افشاریان ماندانا، تاجه‌میری احمد، کاشف مهسا، عزیزی محسن. **بررسی فراوانی ژن‌های exoU و exoS در Pseudomonas aeruginosa جدا شده از بیماران سوختگی در کرمانشاه.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۲۸): ۵۰۲-۴۹۶

مقدمه

Pseudomonas aeruginosa باسیل گرم منفی، هوازی اجباری، غیر تخمیری، فرصت‌طلب و دارای انتشار وسیع است که به عنوان یکی از عوامل ایجاد کننده‌ی عفونت‌های بیمارستانی به شمار می‌رود (۱). این باکتری، در افراد دارای نقص ایمنی از جمله افراد مبتلا به بیماری‌های ژنتیک، انواع سرطان، سوختگی و طیف وسیعی از عفونت‌های بیمارستانی، به میزان زیادی مشاهده می‌شود (۴-۲). توانایی تحمل محدوده‌ی دمایی وسیع، نیازهای تغذیه‌ای پایین و همچنین، دارا بودن عوامل بیماری‌زایی متنوع را می‌توان از جمله عوامل مؤثر در بقای این پاتوژن در محیط‌های بیمارستانی به شمار آورد (۵). مقاومت دارویی بالا و

۱- گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۲- دانشیار، گروه بیماری‌های عفونی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۳- استادیار، گروه اطفال، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۴- مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: محسن عزیزی
Email: m.azizi9889@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

از طرفی، کسب انواع عوامل مقاومت در Pseudomonas aeruginosa، باعث ظهور فنوتیپ‌های جدیدی از این باکتری با نام مقاومت دارویی چندگانه (Multidrug resistance یا MDR) شده است که به طور هم‌زمان به درجات مختلفی از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت دارند (۷-۶).

در بیماران دارای سوختگی، Pseudomonas aeruginosa دارای مقاومت دارویی چندگانه، شیوع بالایی دارد (۸). این باکتری، با تولید بتالاکتامازها، پمپ‌های ترشحی، تغییرات در غشای خارجی و سایر عوامل، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌شود (۹). این باکتری دارای طیف گسترده‌ای از عوامل بیماری‌زایی شامل انواع اگزوتوکسین‌ها، لیپوپلی‌ساکارید، پیلی، فسفولیپازها، الاستاز، پروتئازها، آلژینات و سایر عوامل است (۱۰). از جمله عوامل ویرولانس (Virulence) این باکتری، سیتوتوکسین‌های exoU، exoT، exoS و exoY می‌باشند که از طریق سیستم ترشحی تیپ ۳ وارد سلول‌های هدف در میزبان می‌شوند. اولین اگزوآنزیم‌های شناسایی شده در این گروه، عوامل exoT و exoS می‌باشند که دارای ساختار مشابهی هستند و در ۵۰ اسید آمینه‌ی اختصاصی ناحیه‌ی آمینی آن‌ها، دومین‌های ترشحی و متصل شونده به چاپرون و همچنین، دومین متصل شونده به غشا وجود دارد. مکانسیم عمل این اگزوآنزیم‌ها، Adenosine diphosphate-ribosyltransferase (ADP-ribosyltransferase) و افزایش فعالیت GTPase (Guanosine triphosphatase)ها است که در نتیجه، باعث تخریب اسکلت سلولی در میزبان می‌شوند (۱۱).

یکی دیگر از سیتوتوکسین‌های Pseudomonas aeruginosa، exoU است که دارای فعالیت فسفولیپازی می‌باشد. این آنزیم در Pseudomonas aeruginosa، دارای نقش مهمی در ایجاد شوک سپتیک و همچنین وخیم‌تر شدن بیماری پنومونی در بیماران است؛ به طوری که عدم وجود این عامل ویرولانس در ریه‌ی بیماران مبتلا به پنومونی باعث کاهش شدت بیماری‌زایی Pseudomonas aeruginosa در آن‌ها می‌شود. exoY، یک آدنیلات سیکلاز ترشحی در Pseudomonas aeruginosa است که برای فعالیت خود به یک عامل مشترک ناشناخته در میزبان نیاز دارد و با افزایش سطح فعالیت آدنیلات سیکلاز در میزبان، باعث تغییر ساختمان و شکل سلولی می‌شود (۱۳-۱۲). با توجه به این که مطالعه‌ای در این زمینه در این منطقه انجام نشده بود، هدف از انجام این پژوهش، تعیین فراوانی ژن‌های exoU و exoS و الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های Pseudomonas aeruginosa جدا شده از بیماران سوختگی در کرمانشاه بود.

روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر از نوع توصیفی- مقطعی بود و طی یک دوره‌ی ۹ ماهه در سال ۱۳۹۵ انجام گرفت. این مطالعه، بر روی ۱۹۴ بیمار بستری در بخش سوانح سوختگی بیمارستان امام خمینی (ره) شهر کرمانشاه که دچار زخم سوختگی بودند و بیش از یک هفته آنتی‌بیوتیک مصرف نکرده بودند، انجام شد. پس از اخذ نمونه‌ی زخم سوختگی در موقع تعویض پانسمان، جمع‌آوری نمونه‌ها و انتقال آن‌ها به آزمایشگاه، نمونه‌ها بر روی محیط‌های کشت Blood agar و Nutrient agar (High media, India) کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. در ادامه، برای شناسایی و تأیید نهایی باکتری Pseudomonas aeruginosa، از آزمایش‌های بیوشیمیایی شامل کاتالاز، اکسیداز، سیترات، اندول، تولید پیگمان، لیزین دکربوکسیلاز، Triple sugar iron (TSI) و Methyl red-Voges-Proskauer (MR-VP) استفاده شد. ایزوله‌های Pseudomonas aeruginosa شناسایی شده پس از کشت در محیط Lysogeny broth (LB) مایع و افزودن گلیسرول (با غلظت ۲۰ درصد) در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند (۱۴).

برای شناسایی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌ها، بر اساس دستورالعمل Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)، تعداد ۱۴ دیسک آنتی‌بیوتیک شامل سفتازیدیم، سفتریاکسون، سفوتاکسیم، آمیکاسین، جنتامایسین، پیپراسیلین/تازوباکتام، تیکارسیلین/کلاولانیک اسید، آزترئونام، سیپروفلوکساسین، افلوکساسین، پلی‌مکسین B، کلیستین، ایمی‌پنم و مروپنم (MAST, England) انتخاب و با روش دیسک دیفیوژن (Kirby-Bauer) و مطابق با استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند، آزمایش پیش‌گفته انجام شد (۱۵). ایزوله‌های Pseudomonas aeruginosa MDR با مقاومت به بیش از سه دسته‌ی آنتی‌بیوتیکی شناسایی شد. در ادامه، DNA ایزوله‌ها با روش Boiling استخراج و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) فراوانی اگزوآنزیم‌های exoU و exoS با استفاده از واکنش Polymerase chain reaction (PCR) مورد بررسی قرار گرفت (۱۶).

واکنش PCR، با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر Master mix (شرکت سیناکلون، ایران)، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها، ۳ میکرولیتر DNA باکتری و آب‌مقطر استریل تا حجم ۲۵ میکرولیتر مورد استفاده قرار گرفت. برنامه‌ی دمایی PCR شامل دناتوراسیون اولیه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و به دنبال آن ۲۵ چرخه‌ی اصلی طبق جدول ۱ و در پایان، تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود.

www.SID.ir

Archive of SID

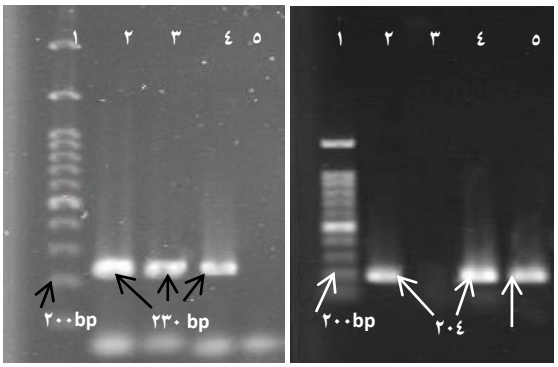
جدول ۱. پرایمرها و چرخه‌های دمایی مورد استفاده در واکنش Polymerase chain reaction (PCR)

پرایمر	توالی (3́-5́)	۹۴ Denaturation درجه‌ی سانتی گراد	Annealing ۳۰ ثانیه	Extension ۷۲ درجه‌ی سانتی گراد	اندازه‌ی محصول (bp)
exoS	F- ATGTCAGCGGGATATCGAAC R- CAGGCGTACATCCTGTTCCT	۱۰ دقیقه	۵۸ درجه‌ی سانتی گراد	۴۵ ثانیه	۲۳۰
exoU	F- GCTAAGGCTTGGCGGAATA R- AGATCACACCCAGCGGTAAC	۱۰ دقیقه	۵۸ درجه‌ی سانتی گراد	۴۵ ثانیه	۲۰۴

سپس، محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز با ژل ۱ درصد و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید با دستگاه ژل داک (Gel doc) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده، به همراه مشخصات نمونه‌های مورد بررسی جمع‌آوری گردید و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) و آزمون‌های دقیق Fisher و χ^2 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

از مجموع ۹۱ ایزوله‌ی Pseudomonas aeruginosa شناسایی شده (۴۷ درصد)، ۴۹ نمونه (۵۳/۹ درصد) در زنان و ۴۲ نمونه (۴۶/۱ درصد) در مردان با میانگین سنی ۱۵/۹ ± ۳۸/۱۶ سال و دامنه‌ی سنی ۷۵-۱۴ سال بود. بیشترین مقاومت در برابر جنتامایسین (۷۹/۱ درصد) و سفتازیدیم (۷۴/۷ درصد) و همچنین، بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در برابر کلیستین (۱۰۰ درصد) و پلی‌مکسین B (۷/۷ درصد) بود (جدول ۲). فراوانی ژن‌های exoU و exoS به ترتیب ۷۳ (۸۰/۲ درصد) و ۶۲ (۶۸/۱ درصد) مورد تعیین شد (جدول ۳). در میان ایزوله‌های مورد بررسی، ۷۲ ایزوله (۷۹/۱ درصد) MDR بود. نتایج واکنش PCR این ژن‌ها در شکل ۱ آمده است.



شکل ۱. نتایج Polymerase chain reaction (PCR) ژن‌های exoU و exoS

exoU: ۱- نشانگر (۱۰۰ bp)، ۲، ٤ و ٥- نمونه‌ی مثبت (۲۰٤ bp)، ۳- شاهد منفی

exoS: ۱- نشانگر (۱۰۰ bp)، ۲، ۳ و ٤- نمونه‌ی مثبت (۲۳۰ bp)، ٥- شاهد منفی

جدول ۲. نتایج مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های Pseudomonas aeruginosa

آنتی‌بیوتیک	میزان مقاومت تعداد (درصد)	حساسیت حدواسط تعداد (درصد)	میزان حساسیت تعداد (درصد)
جنتامایسین	۷۲ (۷۹/۱)	۳ (۳/۳)	۱۶ (۱۷/۶)
آمیکاسین	۶۳ (۶۹/۲)	۵ (۵/۵)	۲۵ (۲۵/۳)
سفتریاکسون	۶۰ (۶۵/۹)	۴ (۴/۴)	۲۷ (۲۹/۷)
سفتازیدیم	۶۸ (۷۴/۷)	۳ (۳/۳)	۲۰ (۲۲/۰)
سفوتاکسیم	۶۵ (۷۱/۴)	۴ (۴/۴)	۲۲ (۲۴/۲)
سیپروفلوکساسین	۵۵ (۶۰/۴)	۱۱ (۱۲/۱)	۲۵ (۲۷/۵)
افلوکساسین	۵۲ (۵۷/۱)	۴ (۴/۴)	۳۵ (۳۸/۵)
پیپراسیلین/تازوباکتام	۵۷ (۶۲/۶)	۶ (۶/۶)	۲۸ (۳۰/۸)
تیکارسیلین/کلاولانیک اسید	۶۴ (۷۰/۳)	۰ (۰)	۲۷ (۲۹/۷)
آزترئونام	۴۳ (۴۷/۳)	۵ (۵/۵)	۴۳ (۴۷/۳)
ایمی‌پنم	۵۳ (۵۸/۲)	۷ (۷/۷)	۳۱ (۳۴/۱)
مروپنم	۴۷ (۵۱/۶)	۴ (۴/۴)	۴۰ (۴۴/۰)
کلیستین	۰ (۰)	۰ (۰)	۹۱ (۱۰۰)
پلی‌مکسین B	۷ (۷/۷)	۰ (۰)	۸۴ (۹۲/۳)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳. فراوانی ژن‌های اگزوتوکسین در ایزوله‌های Pseudomonas aeruginosa

الگوی ژن‌های اگزوآنزیم در Pseudomonas aeruginosa	تعداد ایزوله‌های دارای اگزوآنزیم (درصد)	تعداد ایزوله‌های MDR دارای اگزوآنزیم‌ها
-exoU+, exoS	۲۲ (۲۴/۲)	۱۷
+, exoS-exoU	۱۳ (۱۴/۳)	۱۲
+exoU+, exoS	۵۰ (۵۵/۰)	۳۷
-exoU-, exoS	۶ (۶/۶)	۶

MDR: Multidrug resistance

از نظر آماری، بین فراوانی ژن‌های سیتوتوکسین و متغیرهای سن و جنس بیماران، رابطه‌ی معنی‌داری مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵۰$)، اما بین فراوانی ژن exoU و مقاومت به سفتازیدیم ($P = ۰/۰۴۱$) و سفوتاکسیم ($P = ۰/۰۵۰$) از نظر آماری رابطه‌ی معنی‌داری وجود داشت. بین فراوانی ژن exoS و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها رابطه‌ی معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج حاصل از فراوانی ژن‌های سیتوتوکسین در ایزوله‌های دارای مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی در جدول ٤ آمده است.

جدول ۴. فراوانی ژن‌های سیتوتوکسین در ایزوله‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها

ژن‌ها / آنتی‌بیوتیک‌ها	exoU (۷۳)			exoS (۶۲)		
	R	I	S	R	I	S
جنتامایسین	۵۷	۳	۱۳	۵۰	۱	۱۱
آمیکاسین	۵۴	۴	۱۵	۴۵	۴	۱۳
سفتریاکسون	۵۰	۴	۱۹	۴۱	۴	۱۷
سفتازیدیم	۵۵	۲	۱۶	۴۵	۳	۱۴
سفوتاکسیم	۵۱	۴	۱۸	۴۳	۳	۱۶
سیپروفلوکساسین	۴۴	۱۰	۱۹	۳۷	۹	۱۶
افلوکساسین	۴۲	۲	۲۹	۳۱	۴	۲۷
پیپراسیلین/تازوباکتام	۴۶	۵	۲۲	۴۰	۴	۱۸
تیکارسیلین/کلاولانیک اسید	۵۴	۰	۱۹	۴۱	۰	۲۱
آزتروئونام	۳۱	۴	۳۸	۳۳	۲	۲۷
ایمی‌پنم	۴۱	۵	۲۷	۳۷	۴	۲۱
مروپنم	۳۳	۴	۳۶	۳۱	۲	۲۹
کلیستین	۰	۰	۷۳	۰	۰	۶۲
پلی‌مکسین B	۵	۰	۶۸	۳	۰	۵۹

R: Resistance; I: Intermediate; S: Susceptible

بحث

Pseudomonas aeruginosa از جمله عوامل اصلی ایجاد کننده‌ی عفونت‌های بیمارستانی، به خصوص در بخش‌های مراقبت‌های ویژه و سوختگی محسوب می‌شود که به دلیل دارا بودن عوامل ویرولانس متنوع، دارای توانایی بیماری‌زایی بالایی است. نتایج حاصل از این مطالعه، نشان داد که فراوانی ژن exoU در ایزوله‌های Pseudomonas aeruginosa برابر با ۸۰/۲ درصد بود. در مطالعه‌ی فیروزی دالوند و پولادی، فراوانی exoU در ایزوله‌های Pseudomonas aeruginosa جدا شده از نمونه‌های زخم سوختگی ۷٦ درصد گزارش شد که با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی داشت (۱٦). خرم‌روز و همکاران، فراوانی این ژن را ٤۱/۱ درصد گزارش کردند (۱۱)، اما در مطالعه‌ی دیگری که بر روی Pseudomonas aeruginosaهای جدا شده از بخش مراقبت‌های ویژه انجام گرفته بود، فقط ۱۵ درصد از ایزوله‌ها دارای ژن exoU بودند، که با نتایج مطالعه‌ی حاضر تفاوت داشت (۱۷). دیگر ژن سیتوتوکسین مورد بررسی، exoS بود که در ٦۸/۱ درصد از ایزوله‌ها وجود داشت. در مطالعات مختلف، میزان فراوانی exoS، بین ۷۵/۸–۳۵/۸ درصد گزارش شده است، که از این نظر با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی داشت (۱۹–۱۸، ۱۱، ۱).

با توجه به این که حضور ژن‌های exoU و exoS در ایزوله‌های Pseudomonas aeruginosa به شکل یک ویژگی متغیر عنوان شده است، می‌توان یکی از دلایل تفاوت در فراوانی این دو ژن در مطالعات مختلف را وابسته بودن حضور آن‌ها به جایگاه ایجاد بیماری و سایر عوامل زمینه‌ای نسبت داد (۱۸). در مطالعات دیگری که بر روی ایزوله‌های Pseudomonas aeruginosa جدا شده از منابع مختلف صورت گرفته بود، بیشترین فراوانی ژن exoS در نمونه‌های زخم سوختگی گزارش گردید (۲۱–۲۰). با توجه به این که بین ایجاد عفونت‌های سیستمیک Pseudomonas aeruginosa و حضور ژن exoS در مدل‌های تجربی ارتباط وجود دارد (۲۲)، می‌توان نتیجه گرفت که این ژن، نقش مهمی در ایجاد عفونت‌های ناشی از این پاتوژن دارد. در این مطالعه، بین حضور ژن exoU و مقاومت به بعضی از آنتی‌بیوتیک‌ها رابطه‌ی معنی‌داری مشاهده شد که از این نظر، با یافته‌های سایر مطالعات سازگار بود (۱۹، ۱۱).

در این مطالعه، ٦۹/۵ درصد از ایزوله‌ها به طور هم‌زمان دارای هر

www.SID.ir

Archive of SID

دو ژن exoS و exoU بودند که با نتایج مطالعات یوسفی آوارونـد و همکاران (۱) با میـزان ٤٨/٧ درصـد و Finnan و همکـاران (۲۳) بـا میزان ۷۵ درصد سازگار بـود، امـا در مطالعـه‌ی عظیمـی و همکـاران (٢٤)، فراوانی این ایزوله‌ها ٤ درصد مشخص شد که با نتایج مطالعه‌ی حاضـر تفـاوت داشـت (٢٤). در مطالعـه‌ی حاضـر، میـزان بـالایی از مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین ایزوله‌ها مشاهده شد. فراوانی ایزوله‌هـای Pseudomonas aeruginosa MDR برابر با ۷۹/۱ درصد تعیین شـد که با نتایج گزارش شـده از ایـن ایزولـه‌هـا در سـایر مطالعـات (بـین ١٠٠-٤٥/٢ درصـد) هـم‌خـوانی داشـت (٢٦-٢٥، ١٧، ١). بیشـترین مقاومـــت در برابـــر جنتامایســـین (۷۹/۱ درصـــد)، ســـفتازیدیم (٧٤/٧ درصد) و سفوتاکسیم (٧١/٤ درصد) بود. شـفیعی و همکـاران، درصـــد مقاومـــت آنتـــی‌بیـــوتیکی بـــالایی را در ایزولـــه‌هـــای Pseudomonas aeruginosa در برابـر جنتامایسـین (۸۸ درصـد)، آمیکاسین (٨٤ درصـد)، سـفتازیدیم (۹۱ درصـد)، سیپروفلوکساسـین (٨٤ درصد) و مروپنم (۵۳ درصد) گزارش کردند که با نتایج مطالعه‌ی حاضر در مورد مقاومت بالا در برابر این آنتـی‌بیوتیـک‌هـا هـم‌خـوانی داشـت (۲۷). ادبـی و همکـاران، میـزان مقاومـت در ایزولـه‌هـای Pseudomonas aeruginosa جـدا شـده از زخـم سـوختگی را در برابر جنتامایسین، آمیکاسین، سیپروفلوکساسین و ایمی‌پـنم بـه ترتیـب ٨٦/٠، ٨٥/٠، ٨٧/٠ و ٧٥/٥ درصـد گـزارش کردنـد (۲۸)، امـا در مطالعه‌ای دیگری بر روی ایزوله‌هـای Pseudomonas aeruginosa، درصد مقاومت پایین‌تری شامل جنتامایسین ۳۲/۹ درصـد، سـفتازیدیم ۳۹/۳ درصد، سیپروفلوکساسین ۳۲/۱ درصد، ایمی‌پنم ۳۵/۷ درصـد و مروپنم ۵۰/۰ درصد گزارش شده بود. در مطالعات دیگری نیـز سـطح بالایی از مقاومت ایزوله‌هـای Pseudomonas aeruginosa در برابـر آمینوگلیکوزیدها، سفالوسپورین‌ها، کاربانم‌ها و سایر آنتـی‌بیوتیـک‌هـا گزارش شده است (۲۹).

از جمله دلایل تفاوت در نتـایج مقاومـت‌هـای آنتـی‌بیـوتیکی در مطالعات مختلف، می‌تـوان بـه مـواردی همچـون تفـاوت در الگـوی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در منـاطق مختلـف و همچنین، جداسـازی ایزولـه‌هـای Pseudomonas aeruginosa از نمونه‌های بالینی مختلف اشاره کرد. بیشترین حساسیت آنتـی‌بیـوتیکی در ایزولـه‌هـا نسـبت بـه کلسـیتین (۱۰۰ درصـد) و پلـی‌مکسـین B (۹۲/۳ درصد) مشاهده شد. در اغلب مطالعـات انجـام گرفتـه، تمـامی ایزوله‌های این باکتری نسبت به کلیستین حساس گزارش شدند، که از این نظر، با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی داشـت (۲۸-۲۷)، امـا در مطالعه‌ی میرصالحیان و همکاران، ٣٤/١ درصد ایزوله‌ها نسـبت بـه کلیستین مقاوم بودند (۳۰).

نتیجـه‌گیـری نهـایی ایـن کـه در مطالعـه‌ی حاضـر، کلیسـتین و پلی‌مکسین B از جمله تنها آنتی‌بیوتیک‌هایی هستند کـه مـی‌تواننـد در درمان عفونت‌هـای ایـن پـاتوژن اسـتفاده شـوند. بـا توجـه بـه نقـش Pseudomonas aeruginosa در ایجاد عفونت‌های زخـم سـوختگی در بیماران و همچنین، نقش ژن‌های سیتوتوکسین و ژن‌هـای مقاومـت آنتی‌بیوتیکی در کلونیزاسیون و بقای این باکتری، پرهیز از درمـان‌هـای تجربی، تشـخیص دقیـق نـوع عوامـل ویـرولانس و تعیـین مقاومـت آنتی‌بیوتیکی جهت انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب و کارا به منظور جلـوگیری از عفونت‌های حاصل از این باکتری، امری ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

از معاونـت محتـرم تحقیقـات و فـن‌آوری دانشـگاه علـوم پزشـکی کرمانشاه که هزینه‌ی اجرای این طرح را از محل بودجه‌ی طرح جذب پژوهشگر تأمین نموده‌اند، سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Yousefi-Avarvand A, Khashei R, Sedigh Ebrahim-Saraie H, Emami A, Zomorodian K, Motamedifar M. The frequency of exotoxin a and exoenzymes S and U genes among clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa in Shiraz, Iran. Int J Mol Cell Med 2015; 4(3): 167-73.
2. Doosti M, Haj Ojagh Faghihi M, Ramazani A, Saini MR. Comparison of conventional culture methods and polymerase chain reaction (PCR) for specific detection of Pseudomonas aeruginosa. J Isfahan Med Sch 2012; 30(192): 780-6. [In Persian].
3. Ryall B, Davies JC, Wilson R, Shoemark A, Williams HD. Pseudomonas aeruginosa, cyanide accumulation and lung function in CF and non-CF bronchiectasis patients. Eur Respir J 2008; 32(3): 740-7.
4. Akhavan-Tafti F, Eslami G, Zandi H, Mousavi SM, Zarei M. Prevalence of blaVIM, blaIPM and blaNDM metallo-beta-lactamases enzymes in Pseudomonas aeruginosa isolated from burn wounds in Shahid Sadoughi Burn Hospital in Yazd. J Isfahan Med Sch 2014; 31(263): 1955-64. [In Persian].
5. Pourzereshki N, Naserpour Farivar T, Peymani A. Presence of alginate among multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from clinical samples in Qazvin and Tehran hospitals. J Clin Res Paramed Sci 2014; 3(4): 257-63. [In Persian].
6. Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-resistant Pseudomonas aeruginosa: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. Clin Microbiol Rev 2009; 22(4): 582-610.
7. Sabharwal N, Dhall S, Chhibber S, Harjai K. Molecular detection of virulence genes as markers in

www.SID.ir

Archive of SID

Pseudomonas aeruginosa isolated from urinary tract infections. Int J Mol Epidemiol Genet 2014; 5(3): 125-34.
8. Akya A, Salimi A, Nomanpour B, Ahmadi K. Prevalence and clonal dissemination of metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in Kermanshah. Jundishapur J Microbiol 2015; 8(7): e20980.
9. Mesaros N, Nordmann P, Plesiat P, Roussel-Delvallez M, Van Eldere J, Glupczynski Y, et al. Pseudomonas aeruginosa: Resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. Clin Microbiol Infect 2007; 13(6): 560-78.
10. Mortazavi SH, Ghaderi M, Hemmati M, Vaziri S, Azizi M, Kashef M, et al. Molecular study of the prevalence of exotoxin A and alginate gene in Pseudomonas aeruginosa isolates in burn wounds samples**.** J Isfahan Med Sch 2017; 34(412): 1537-43. [In Persian].
11. Khoramrooz S, Rahbari N, Parhizgari N, Sharifi A, Yazdanpanah M, Gharibpour F, et al. Frequency of type III secretion system cytotoxins -encoding genes among Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients. J Zanjan Univ Med Sci 2015; 23 (99): 52-63. [In Persian].
12. Cowell BA, Evans DJ, Fleiszig SM. Actin cytoskeleton disruption by ExoY and its effects on Pseudomonas aeruginosa invasion. FEMS Microbiol Lett 2005; 250(1): 71-6.
13. Rabin SD, Hauser AR. Functional regions of the Pseudomonas aeruginosa cytotoxin ExoU. Infect Immun 2005; 73(1): 573-82.
14. Tramper-Stranders GA, van der Ent CK, Wolfs TF. Detection of Pseudomonas aeruginosa in patients with cystic fibrosis. J Cyst Fibros 2005; 4(Suppl 2): 37-43.
15. Clinical andLaboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-first informational supplement. CLSI document M100-S21. Wayne, PA: CLSI; 2011.
16. Firouzi-Dalvand L, Pooladi M. Identification of exoS, exoU genes in Pseudomonas aeruginosa. J Paramed Sci 2014; 5(4): 89-95.
17. Joodzadeh M, Farajzadeh Sheikh A, Shahin M, Tavakol H. Correlation of frequency of Pseudomonas aeruginosa and exoS and exoU genes and their antibiotic sensitivity pattern in specimen isolated from ICU ward. Int J Med Res Health Sci 2016; 5(6): 248-54.
18. Jabalameli F, Mirsalehian A, Khoramian B, Aligholi M, Khoramrooz SS, Asadollahi P, et al. Evaluation of biofilm production and characterization of genes encoding type III secretion system among Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients. Burns 2012; 38(8): 1192-7.
19. Wolska K, Szweda P. Genetic features of clinical Pseudomonas aeruginosa strains. Pol J Microbiol 2009; 58(3): 255-60.
20. Feltman H, Schulert G, Khan S, Jain M, Peterson L, Hauser AR. Prevalence of type III secretion genes in clinical and environmental isolates of Pseudomonas aeruginosa. Microbiology 2001; 147(Pt 10): 2659-69.
21. Lomholt JA, Poulsen K, Kilian M. Epidemic population structure of Pseudomonas aeruginosa: evidence for a clone that is pathogenic to the eye and that has a distinct combination of virulence factors. Infect Immun 2001; 69(10): 6284-95.
22. Aslani MM, Sharafi Z, Shahcheraghi F, Nikbin VS, Ebrahimipour GH, Hashemipour M. Molecular detection and identification of virulence factors of Pseudomonas aeruginosa isolated from wound and burn infections. Pejouhandeh 2011; 15(6): 287-92. [In Persian].
23. Finnan S, Morrissey JP, O'Gara F, Boyd EF. Genome diversity of Pseudomonas aeruginosa isolates from cystic fibrosis patients and the hospital environment. J Clin Microbiol 2004; 42(12): 5783-92.
24. Azimi S, Kafil HS, Baghi HB, Shokrian S, Najaf K, Asgharzadeh M, et al. 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.
25. Mirsalehian A, Feizabadi M, Nakhjavani FA, Jabalameli F, Goli H, Kalantari N. Detection of VEB-1, OXA-10 and PER-1 genotypes in extended-spectrum beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa strains isolated from burn patients. Burns 2010; 36(1): 70-4.
26. Fazeli H, Fatahi M, Faghri J, Akbari R. Molecular study of PER and VEB genes is multidrug resistant Pseudomonas aeroginosa isolated from clinical specimens in Isfahan/Iran and their antibiotic resistance patterns. J Kerman Univ Med Sci 2012; 19(4): 345-53. [In Persian].
27. Shafiee F, Khosravi AD, Azarpira S, Babaie Barkalaie A, Abbasi Montazeri E. Antimicrobial resistance profile of Pseudomonas aeruginosa strains. Med Lab J 2015; 9(3): 128-34. [In Persian].
28. Adabi M, Talebi Taher M, Arbabi L, Afshar M, Fathizadeh S, Minaeian S, et al. Determination of antibiotic resistance pattern of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from patients with burn wounds. J Ardabil Univ Med Sci 2015; 15(1): 66-74. [In Persian].
29. Jafari R, Karbasizade V, Moghim S. Frequency and resistance patterns of bacterial isolates from burn wounds infections in Isfahan, Iran. J Isfahan Med Sch 2013; 31(246): 1134-40. [In Persian].
30. Mirsalehian A, Akbari Nakhjavani F, Bahador A, Jabal Ameli F, Bigverdi R, Goli H. Prevalence of MBL-producing Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients. Tehran Univ Med J 2011; 68(10): 563-9. [In Persian].

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Isfahan Medical School
Vol. 35, No. 428, 4th Week, June 2017
Received: 14.02.2017
Accepted: 17.04.2017

Prevalence Study of exoenzyme U (exoU) and exoenzyme S (exoS) Genes in Pseudomonas Aeruginosa Isolated from Burn Patients in Kermanshah City, Iran

Kamal Ahmadi[1], Siavash Vaziri[2], Seyyed Hamidreza Mortazavi[3], Faizullah Mansouri[2], Mandana Afsharian[2], Ahmad Tajehmiri[4], Mahsa Kashef[1], Mohsen Azizi[1]

Original Article

Abstract

Background: Pseudomonas aeruginosa is one of the major pathogens causing burnt wound infection in hospitals. This study aimed to evaluate the prevalence of exoenzyme U (exoU) and exoenzyme S (exoS) genes and the antibiotic resistance pattern of Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients' samples in Kermanshah City, Iran.

Methods: In this cross-sectional study, 194 samples were tested with conventional bacteriological methods. After evaluation of antibiotic sensitivity with disc diffusion method, specific primers were deployed to assess the frequency of exoU and exoS genes among isolates. The retrieved data were analyzed using SPSS software.

Findings: From 91 isolates of Pseudomonas aeruginosa, 72 (79.1%) were multi-drug resistant (MDR) isolates. The most prevalent antibiotic resistances were against gentamicin (79.1%) and ceftazidime (74.7%); the most prevalent sensitivities were against colistin (100%) and polymixin B (92.3%). The frequency of exoU and exoS genes was 80.2% and 68.1%, respectively. There were significant relationships between the frequency of exoU gene and resistance to ceftazidime (P = 0.041) and cefotaxime (P = 0.050).

Conclusion: Considering the role of Pseudomonas aeruginosa in burn wound infections and the role of cytotoxin and antibiotic resistance genes in colonization and survival of this bacteria, avoiding home remedies, accurate detection of virulence factors, and recognition of antibiotic resistance pattern among the isolates in order to choose the appropriate antibiotic regimen to prevent infection seem to be necessary.

Keywords: Pseudomonas aeruginosa, exoenzyme S, exoenzyme U, Antibiotic resistance

Citation: Ahmadi K, Vaziri S, Mortazavi SH, Mansouri F, Afsharian M, Tajehmiri A, et al. **Prevalence Study of exoenzyme U (exoU) and exoenzyme S (exoS) Genes in Pseudomonas Aeruginosa Isolated from Burn Patients in Kermanshah City, Iran.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(428): 496-502.

1- Department of Microbiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
2- Associate Professor, Department of Infectious Diseases, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
3- Assistant Professor, Department of Pediatrics, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
4- Medical Biology Research Center, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
Corresponding Author: Mohsen Azizi, Email: m.azizi9889@yahoo.com

www.SID.ir