ORIGINAL ARTICLE

Frequency of exoT and exoS Genes among Pseudomonas Aeruginosa Isolates and Antibiotic Resistance in Burn Patients in Sari Zare Hospital, Iran

Mohammad Shokrzadeh[1,]

Parvaneh Rahbari Jeyd[2,]

Abbas Mohammadpour[3,]

Fatemeh Zaboli[4,]

Fatemeh Zahra Mohammadnejad[2,]

Maryam Ghaffari Charati[2,]

Yahya Saleh Tabari[5]

[1] Associate Professor, Pharmaceutical Sciences Research Center, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

[2]MSc in Microbiology, Faculty of Paramedicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

[3] PhD Student, Pharmaceutical Sciences Research Center, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

[4]Assistant Professor, School of Agriculture and Food Industry, Islamic Azad University Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran

[5] PhD Student, Pharmaceutical Sciences Research Center, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received April 9, 2017 Accepted September 11, 2017)

Archive of SID

Abstract

Background and purpose: *Pseudomonas aeruginosa* is one of the most important pathogens of burn infections in hospitals. It causes infection by producing some virulence factors such as *exoS* and e*xoT* cytotoxins. The aim of this study was to evaluate the frequency of *exoS* and *exoT* genes among *P.aeruginosa* isolated from wound infections in burn patients and the relationship between the presences of these genes and antibiotic resistance.

Materials and methods: In this descriptive cross-sectional study, the wounds of 80 burned patients in Sari Zare Hospital were sampled during April, May, and June 2016. After identification by biochemical tests, 18 isolates of *P.aeruginosa* were obtained. Antimicrobial susceptibility to 8 antibiotics was determined by disk diffusion method. PCR was performed for detection of *exoS* and *exoT* genes. Data was analyzed in SPSS V21 applying Chi-square. The significance level was considered at $P<0.05$.

Results: A total of 18 isolates was investigated from which 15 (83.5%) had *exoT* gene and 14 isolates (77.8%) had *exoS* gene. Simultaneous presence of these genes was seen in 13 (72.5%) isolates. Statically, resistance against Ampicillin, Cephalexin, Co-trimoxazol, and Cefazolin was significantly correlated with the presence of *exoS* and *exoT* genes ($P = 0.0184$, $P =0.0047$, respectively). In addition, resistance against Imipenem was significantly correlated with the presence of *exoT* ($P=0.0489$).

Conclusion: High prevalence of *exoS* and *exoT* among *Pseudomonas aeruginosa* isolates (72.5%) and the significant differences between presence of these genes and antibiotic resistance indicate the importance of these two genes in burn infections.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, burn infection, *exoS*, *exoT*, antibiotic resistance

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27 (154): 51-59 (Persian).

www.SID.ir

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هفتم شماره ۱۵۴ آبان سال ۱۳۹۶ (۵۹-۵۱)

بررسی فراوانی ژن های exoT وexoS در سودوموناس آئروژینوزا و ارتباط آن ها با مقاومت آنتی بیوتیکی در بیماران سوختگی بیمارستان زارع ساری

محمد شکرزاده[1]
پروانه رهبری جید[2]
عباس محمدپور[3]
فاطمه زابلی[4]
فاطمه زهرا محمدنژاد[2]
مریم غفاری چراتی[2]
یحیی صالح طبری[5]

چکیده

سابقه و هدف: سودوموناس آئروژینوزا، یکی از عوامل مهم عفونت زخم سوختگی در بیمارستان‌ها می‌باشد که با تولید برخی فاکتورهای بیماری‌زا (سیتوتوکسین‌های ExoT و ExoS) باعث ایجاد عفونت می‌شود. هدف مطالعه حاضر بررسی فراوانی ژن‌های exoT وexoS در سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از عفونت زخم سوختگی و ارتباط مقاومت آنتی بیوتیکی با حضور این ژن‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی-مقطعی، در طی سه ماه اول سال ۱۳۹۵، از زخم ۸۰ بیمار سوختگی بیمارستان زارع ساری نمونه‌برداری شد. و با تست‌های بیوشیمیایی، ۱۸ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا شناسایی گردید. وجود ژن‌های exoT وexoS، با روش PCR و هم‌چنین مقاومت به ۸ آنتی‌بیوتیک با روش دیسک آگار دیفیوژن بررسی شد. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ و روش آماری کای اسکوئر آنالیز شدند. و سطح معنی‌دار، $p < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: از ۱۸ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا، ۱۵ نمونه (۸۳/۵ درصد) ژن exoT، 14 نمونه (۷۷/۸ درصد) ژنexoS و ۱۳ نمونه (۷۲/۵ درصد) هم‌زمان هر دو ژن را دارا بودند. از لحاظ آماری بین حضور ژن‌های exoT وexoS و مقاومت به آمپی سیلین، سفازولین و تری متوپریم به ترتیب ($p=۰/۰۱۸۴$) و($p=۰/۰۰۴۷$) ، و هم‌چنین مقاومت به ایمی پنم و حضور exoT ($p=۰/۰۴۸۹$) اختلاف معناداری مشاهده گردید.

استنتاج: حضور بالای ژن‌های exoT وexoS در اکثر ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا و مشاهده اختلاف معنادار بین وجود این ژن‌ها و مقاومت آنتی‌بیوتیکی، اهمیت این ژن‌ها را در عفونت زخم سوختگی نشان می‌دهد.

واژه های کلیدی: سودوموناس آئروژینوزا، عفونت سوختگی، exoS،exoT ، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

مقدمه

زخم‌های سوختگی، یکی از عمده‌ترین شرایط مستعد به عفونت است به‌طوری‌که شیوع عفونت‌های زخم سوختگی تا ۲۱ درصد متغییر است. به دلیل مصرف بی‌رویه و غیرضروری آنتی‌بیوتیک‌ها، اغلب عوامل پاتوژن دخیل در عفونت‌های بیمارستانی در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد ضد میکروبی، مقاومت قابل توجه ای پیدا کرده‌اند به‌طوری‌که درصد سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای مقاوم به ایمی پنم و

مولف مسئول: پروانه رهبری جید- ساری، کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد ، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم (ص)،دانشکد پیراپزشکی Email: Rahbariparvaneh@gmail.com
۱. دانشیار، گروه سم شناسی و فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. کارشناسی ارشد، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. دانشجوی دکتری سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، گروه سم شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴.استادیار، دانشکده کشاورزی و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد واحد آیت الله آملی، آمل، ایران
۵.دانشجوی دکتری سم شناسی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، گروه سم شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۶/۱/۲۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۶/۳/۵ تاریخ تصویب : ۱۳۹۶/۶/۲۰

Archive of SID
www.SID.ir

کاربـاپنم در ایـن عفونـت‌هـا شـدیدا در حـال افـزایش است(۱،۴).

در مطالعـات اپیـدمیولوژی بیـان شـده اسـت کـه سـودوموناس آئروژینـوزا ۱۰ درصـد از عفونـت‌هـای بیمارستانی و ۱۱ درصد از عفونت‌های خون را بـه خـود اختصـاص مـی‌دهـد امـا فقـط ۴ درصـد از اپیـدمی‌هـای بیمارستانی را موجب شده است(۴).

بیماری‌زایی سودوموناس آئروژینوزا، در ارتباط با تولیـد تعـداد زیـادی از فاکتورهـای بیمـاری‌زایـی ترشـحی و مـرتبط بـا سـاختار دیـواره سـلولی اسـت(3). اغلـب توکسـین‌هـای ترشـحی در بـاکتری‌هـا از طریـق سیسـتم ترشحی تیپ ۱ تا ۵ منتقل می‌گـردد(۵). سیسـتم ترشـحی نـوع ۳ یکـی از مهـم‌تـرین سیسـتم‌هـای ترشـحی در باکتری‌ها می‌باشد که فاکتورهای ویرولانس را بـه درون سلول میزبان وارد مـی‌کنـد.از لحـاظ سـاختاری، سیسـتم ترشحی تیـپ ۳ شـبیه سـرنگ اسـت کـه در تمـاس بـین باکتری و سلول‌هـای یوکـاریوتی میزبـان، توکسـین‌هـای باکتریایی را بـه درون ایـن سـلول‌هـا وارد مـی‌کنـد .ایـن سیستم ترشحی در تماس با سلول‌های یوکـاریوتی فعـال می‌شود(۶).

سه سم موثر در بیماری‌زایی در سـودوموناس ائروژینـوزا کـه مـورد شناسـایی قـرار گرفتـه اسـت شـامل توکسین‌های ExoT، ExoSو ExoUمی‌باشد که توسـط سیسـتم ترشـحی نـوع ۳ بـه درون سـلول میزبـان ترشـح می‌گردد(۷).

توکسین‌های ExoTو ExoSتوکسین‌های دو عملکـردی هسـتند کـه هـم فعالیـت ADP ریبوزیـل ترانسـفرازی (ADPRT)و هـم فعالیـت فعـال‌کننـدگی GTPase (GAP)دارنـد(۸). فعالیـت‌هـای ADPRT و GAPباعث تخریـب اکتیـن اسـکلت سـلولی و مـرگ سلولی می‌گردد(۸،۹).

این پروتئین‌ها می‌توانند بر روی مسیرهای انتقال الکترون اثر بگذارنـد و ایمنـی ذاتـی را خنثـی نماینـد (۵). ExoS آنزیمـی اسـت کـه ۴۵۳ اسـید آمینـه دارد، دومـین (Domain)ترشحی این آنزیم، در ۱۵ اسید آمینه ابتدایی ناحیه آمینی قرار دارد. دومین متصل شونده به چاپرون از اسیدآمینه، از شماره ۱۵ تا ۵۱ تشکیل شـده اسـت. اسـید آمینه شماره ۵۱ تا ۷۲ در اتصال توکسـین بـه غشـا نقـش دارد و سـیگنال ترشـحی، ایـن توکسـین افکتـوری را بـه درون ساختار سیستم ترشحی تیپ ۳ هدایت می کند (۵). فعالیت GTPase این دومین، به اسـید آمینـه آرژینـین در موقعیت ۱۴۶وابسته است(۱۰،۱۱).

آنزیم ExoT با ۴۵۷ اسیدآمینه، دارای ساختاری شبیه بـه آنزیم ExoS است که در ۵۰ اسـید آمینـه ابتـدایی ناحیـه آمینی آن، ۳ دومین ترشحی متصل شونده بـه چـاپرون و متصل شونده به غشا حضور دارند.فعالیت GTPase ایـن اگزوتوکسین مانند ExoS، به اسیدآمینه آرژینـین وابسـته اسـت و اسـیدآمینه گلوتامـات در موقعیـت ۳۸۳ و ۳۸۵ برای فعالیت ADP ریبوزیلاسیون، ضروری است(۱۲).

با توجه به این که مطالعات اندکی در ارتباط بـا فراوانـی ژن‌هـای exoT وexoS در ایزولـه‌هـای سـودوموناس آئروژینـوزا و ارتبـاط آن‌هـا بـا الگـوی مقاومـت آنتی‌بیوتیکی این باکتری در ایران انجام شده اسـت .نیـاز به انجام مطالعات بیش‌تر در این زمینـه ضـروری بـه نظـر می‌رسـد. لـذا هـدف از مطالعـه حاضـر بررسـی فراوانـی ژن‌هـای exoT وexoS سـودوموناس آئروژینـوزای بـه دست آمده از بیماران سوختگی بیمارستان زارع ساری و هـم‌چنـین ارتبـاط ایـن ژن‌هـا بـا الگـوی مقاومـت آنتی‌بیوتیکی می‌باشد.

مواد و روش ها

ایـن مطالعـه از نـوع مقطعـی-توصـیفی مـی‌باشـد و جامعه آماری این پژوهش ۸۰ نفـر از بیمـاران سـوختگی بستری در بیمارستان زارع ساری است. نمونـه‌گیـری بـه صورت تصادفی و بـدون در نظـر گـرفتن سـن و جـنس بیمـار، از ترشـحات سـبز رنـگ زخـم‌هـای بیمـاران در بخش‌های مختلف بیمارستان طی سه ماه اول سـال ۱۳۹۵ انجـام شـد.۱۸ ایزولـه از ۸۰ نمونـه زخـم سـوختگی بـا

Archive of SID
www.SID.ir

استفاده از مورفولوژی کلنی، تولید رنگ دانه، رنگ‌آمیزی گرم، تست‌های بیوشیمیایی مانند تست اکسیداز، کاتالاز، اکسیداسیون-تخمیر(OF)، توانایی رشد در ۴۲ درجه سانتی‌گراد، سیترات، SIMو TSI تعیین هویت شدند. ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی پنم، آمیکاسین، آمپی‌سیلین، سفتریاکسون، سفالکسین، سفازولین، سیپروفلوکساسین، کوتریموکسازول از شرکت پادتن طب با استفاده از روش دیسک آگار دیفیوژن و بر اساس دستورالعمل CISIبررسی شد. با استفاده از محیط کشت Brain Heart InfusionAgar(BHIA)که در لوله با شیب کم تهیه شد نمونه‌های جدا شده تلقیح گردید .و بر سطح محیط، گلیسرول استریل شده ریخته شد. و در دمای محیط نگهداری شد.

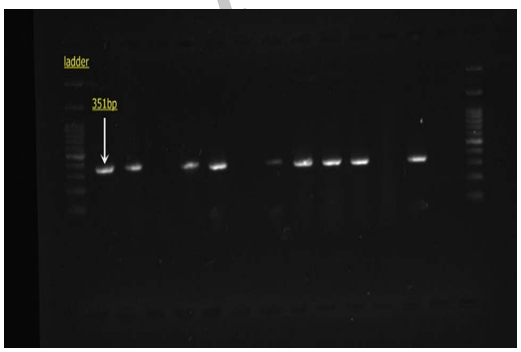
به منظور شناسایی ژن‌های exoT وexoS ، بخشی از این ژن‌ها برای طراحی پرایمرها مورد استفاده قرار گرفت.توالی پرایمر ژن exoT از مطالعه جابل عاملی و همکاران در سال ۲۰۱۲ گرفته شد(۱۳). توالی ژنexoS از سایت NCBI با کد ۸۷۹۸۳۷ دریافت شد و سپس با استفاده از نرم افزار Gene Runner پرایمر مربوط به آن طراحی، و سپس پرایمرهای این دو ژن در سایت NCBI و BLAST بررسی گردید.که بعد از تایید، سفارش ساخت پرایمرها به شرکت تکاپو زیست واگذار شد. جدول شماره ۱ توالی پرایمرهای تعیین‌کننده ژن‌های exoT و exoS را نشان می‌دهد.

جدول شماره ۱: توالی پرایمر ژنexoS و exoT

نام ژن	توالی پرایمر	اندازه محصول
exoT	F: 5'-CAGCTCGCTCGCCTTGCCAAGT-3' R: 5'-AGAACCCGTCTTTCGTGGCTGAGTT-3'	351 bp
exoS	F: 5'-ATGCGGGACAAAAGCTGATC-3' R: 5'-CAGGGAGGTGGAGAGATAGC-3'	169 bp

برای جدا سازی DNA الگو و انجام روشPCR، از کشت تازه ۲۴ ساعته باکتری استفاده گردید و DNA باکتری به روش جوشاندن و SDS جداسازی شد. برای انجام PCR از ویال‌های آماده PCRpremix تهیه شده از شرکت Bioneer کره که درون آن‌هاdNTP ، TaqDNApolymeraseو dy Tracking به صورت لیوفیلیزه قرار داشت استفاده گردید. برای آماده‌سازی ترکیب PCR mixبه حجم ۲۵ میکرولیتر، برای هر واکنش ۲۱/۵ میکرو لیتر آب مقطر، ۰/۷ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها و ۲ میکرولیتر از DNA مکمل استفاده شد. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر بدین شرح است: دناتوراسیون اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای C° ۹۵و به دنبال آن ۳۳ سیکل شامل دناتوراسیون به مدت ۳۰ ثانیه در دمایC° ۹۵، مرحله اتصال پرایمر در دمای C°۷۰ برای ژن exoT، دمایC° ۶۲ برای ژن exoS به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله گسترش در دمایC° ۷۲ به مدت ۳۰ ثانیه و سپس یک سیکل گسترش نهایی در دمایC° ۷۲ به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد.

در نهایت محصولات هر ژن توسط دستگاه الکتروفورز و ژل آگارز ۱ درصد مشاهده گردید. اندازه باند ۳۵۱ جفت باز برای ژنexoT و اندازه باند ۱۶۹ جفت باز برای ژن exoS نشان‌دهنده حضور هر یک از ژن‌های مورد بررسی بود(شکل ۱و۲).



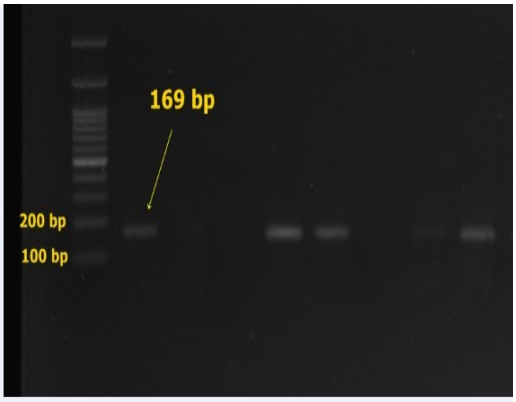
شکل شماره ۱: تصویر الکتروفورز ژن exoT در سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم سوختگی

Archive of SID

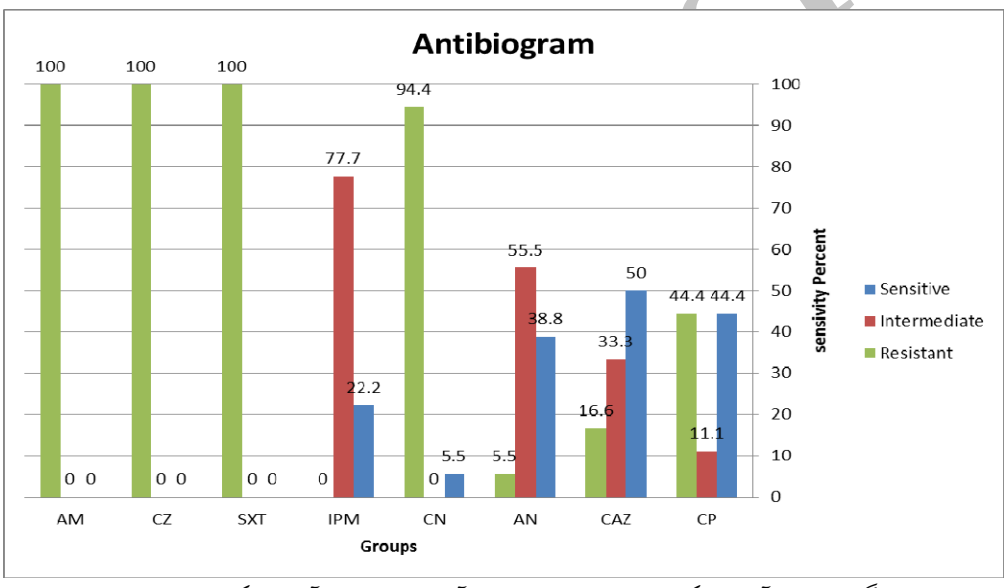
www.SID.ir

یافته ها

از زخم ۸۰ بیمار سوختگی در بخش‌های مختلف بیمارستان به‌طور تصادفی و بدون در نظر گرفتن سن و جنس نمونه‌برداری شد و با استفاده از آزمایشات بیوشیمیایی لازم ۱۸ سویه سودوموناس آئروژینوزا جداسازی شد.نتایج آنتی‌بیوگرام نشان داد که بیشترین میزان مقاومت مربوط به، کوتریموکسازول،سفازولین، آمپی‌سیلین با ۱۰۰ درصد و سفالکسین با ۹۴/۴ درصد و هم‌چنین کمترین مقاومت مربوط به ایمی پم، آمیکاسین و سفتازیدیم به ترتیب با ۰/۰۱، ۵/۵۵، ۱۶/۶۶ درصد بوده است(نمودار شماره ۱).



شکل شماره ۲: تصویر الکتروفورز ژن exoS در سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم سوختگی



نمودار شماره ۱: الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله های سودوموناس آئروژینوزا نسبت به آنتی بیوتیک های مورد بررسی

با توجه به نتایج الکتروفورز به دست آمده از محصولات PCR فراوانی ژن exoT، ۸۳/۵ درصد و فراوانی ژن exoS، ۷۷/۸ درصد می‌باشد. فراوانی وجود هر دو ژن ۷۲/۵ درصد، و ۱۱ درصد نمونه‌ها نیز فاقد هر دو ژن بودند.

بررسی ارتباط بین ژن سیتوتوکسین و مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها نشان داد که از لحاظ آماری بین ژنexoS و مقاومت به آنتی‌بیوتیک آمپی سیلین، سفازولین و تری متوپریم (P = ۰/۰۱۸۴) و ژن exoT و مقاومت به آنتی‌بیوتیک ایمی پنم (P = ۰/۰۴۸۹)، سفازولین، تری متوپریم، آمپی‌سیلین (P = ۰/۰۰۴۷)، اختلاف معنی‌داری وجود داشت در حالی‌که در مورد حضور این ژن‌ها و مقاومت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها از لحاظ آماری رابطه معنی‌داری وجود نداشته است.

بحث

سودوموناس یکی از مهم‌ترین باکتری‌های فرصت طلب بیماری‌زا در بیمارستان‌ها می‌باشد. لذا جدا سازی و

www.SID.ir

شناسایی این باکتری از نمونه‌های بالینی بخصوص زخم‌های سوختگی و گزارش آن‌ها به مراجع بهداشتی بسیار مهم می‌باشد. از طرفی به علت وجود فاکتورهای ویرولانس مختلفی نظیر اگزوتوکسین‌های سیستم ترشحی تیپ ۳، این باکتری تهدید جدی برای بیماران بستری در بیمارستان‌های مختلف بخصوص بیمارستان‌های سوانح سوختگی می‌باشد. چرا که بیماران در بیمارستان‌های سوانح سوختگی به‌دلیل نوع آسیبی که دارند متحمل حضور طولانی‌تر در بیمارستان هستند. در نتیجه وجود این باکتری باعث تخریب بیشتر زخم‌ها در این بیماران شده و روند درمان و بهبودی را به تعویق می‌اندازد.

در این مطالعه که بر روی ۸۰ نمونه زخم سوختگی بیمارستان زارع ساری انجام گردید فراوانی وجود سودوموناس آئروژینوزا ۲۲/۵ درصد اعلام شد. در این بیمارستان شیوع باکتری اسینتوباکتر نسبت به سودوموناس آئروژینوزا بیش‌تر بوده است به عبارت دیگر، از ۷۷/۵ درصد عفونت‌های دیگر به غیر از سودوموناس آئروژینوزا درصد زیادی مربوط به اسینتوباکتر بوده است. در حالی که در مطالعه‌ای که صالح و همکاران در سال ۲۰۱۶ بر روی عفونت‌های زخم بیماران سوختگی انجام دادند از ۵۱ بیمار مبتلا به باکتریمی ۳۱/۷ درصد آلوده به سودوموناس آئروژینوزا بودند. که به عنوان شایع‌ترین باکتری آلوده‌کننده اعلام گردید بعد از آن از استافیلوکوک اورئوس، کلبسیلا و اسینتوباکتر شایع‌ترین باکتری آلوده‌کننده نام برده شد(۱۴). حبیبی و همکاران در سال ۲۰۱۶ در بررسی فراوانی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا از بیماران بخش‌های مختلف بیمارستان‌های تهران، از ۱۸۰ نمونه زخم، ۴۴/۱ درصد سودوموناس آئروژینوزا به دست آوردند که بالاترین درصد آلودگی بوده است(۱۵).

با توجه به درصد فراوانی‌ها در این مطالعات، به نظر می‌رسد که سودوموناس آئروژینوزا بیش‌ترین درصد فراوانی را در آلوده‌کردن زخم‌های بیماران سوختگی به خود اختصاص داده است(۱۵،۱۴)، در حالی که در بیمارستان مورد بررسی این مطالعه، با توجه به درصد فراوانی سودوموناس آئروژینوزا، شایع‌ترین باکتری آلوده‌کننده زخم‌های بیماران سوختگی نمی‌باشد.

در این مطالعه بعد از انجام آزمایشات مختلف و دریافت نتایج، ۷۲/۵ درصد ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم سوختگی حاوی هر دو ژن exoT و exoS، حدود ۸۳/۵ درصد ژن exoT و ۷۷/۸ درصد حاوی ژن exoS گزارش گردید. در حالی‌که خرم روز و همکاران در سال ۲۰۱۵، در مطالعه مشابه‌ای، اعلام کردند که تمامی ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم‌های سوختگی حاوی ژن exoT بوده اند وکم‌ترین درصد فراوانی را به ژن exoS (۳۵/۸ درصد) نسبت دادند(۱۶). هم‌چنین آقایی و همکاران در سال ۲۰۱۶، در مطالعه مشابه‌ای، فراوانی ژن exoTو exoS را به ترتیب ۳۷ و ۲۹/۹ درصد اعلام کردند درحالی‌که در مطالعه حاضر درصد فراوانی این دو ژن بیش‌تر است(۱۷). در مطالعه جابل عاملی وهمکاران در سال ۲۰۱۲، فراوانی ژن exoT ۱۰۰ درصد و فراوانی ژن exoS ۲۹درصد گزارش شد(۱۳). در حالی‌که در مطالعه حاضر درصد فراوانی ژن exoSبیش‌تر از این مقدار است. استراتوا و همکاران در سال ۲۰۱۰، در بررسی این دو ژن در سودوموناس آئروژینوزای جدا شده بیان کردند که ژن exoT دارای ۱۰۰ درصد فراوانی و ژن exoS دارای ۶۱/۹ درصد فراوانی می‌باشد که با درصد فراوانی ژن‌های مطالعه حاضر مشابهت بیش‌تری دارد(۱۸).

با توجه به تفاوت میزان فراوانی ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه با فراوانی این ژن‌ها در سایر مطالعات، به نظر می‌رسد که فراوانی این ژن‌ها تحت

www.SID.ir

تاثیر عواملی نظیر: محل وجود باکتری، نوع عارضه بیمار، مکان بستری شدن بیمار و تعداد نمونه‌های مورد بررسی می‌باشد(۱۸، ۱۶، ۱۳).

بیش‌ترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این مطالعه مربوط به آنتی‌بیوتیک تری متوپریم، سفازولین و آمپی سیلین به میزان ۱۰۰ درصد، و سفالکسین به میزان ۹۴/۴ درصد و کم‌ترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به سفتازیدیم ۵۰ درصد و سیپروفلوکساسین ۴۴/۴ درصد و آمیکاسین ۳۸/۸ درصد می‌باشد. در مطالعه خرم روز و همکاران بر روی ۹۵ نمونه سودوموناس آئروژینوزا، بیش‌ترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به سفپیم، افلوکساسین و آزترونام به ترتیب با ۹۶/۸ و ۹۵/۸ و ۹۴/۷ درصد و کمترین میزان مقاومت مربوط به پیپراسیلین، تازوباکتام، سیپرومروپنم به ترتیب با ۲۸/۴ و ۳۴/۷ و ۴۲/۱ درصد بوده است(۱۶).

جابل عاملی و همکاران در مطالعه خود بر روی ۹۶ نمونه سودوموناس آئروژینوزا، بیش‌ترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی را به سفکسیم و سفتریاکسون به میزان ۱۰۰ درصد و آمیکاسین، کاربنی سیلین، سفپیم، سفوتاکسیم، جنتامایسین، پیپراسیلین تازوباکتام، تیکارسیلین و توبرامایسین به میزان ۹۰ درصد نسبت دادند(۱۳).

در مطالعه آذرگون و همکاران در سال ۲۰۱۳، بر روی ۵۱ نمونه سودوموناس آئروژینوزا، بیش‌ترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به تری‌متوپریم، جنتامایسین، آمیکاسین، سفپیم، توبرامایسین به ترتیب با ۶۶ و ۳۷ و ۲۱/۵ و ۲۱/۵ و ۱۹/۶ درصد و کم‌ترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به سفتازیدیم، ایمپنم، سیپروفلوکساسین به ترتیب با ۹/۸ و ۱۳/۷ و ۱۵/۷ درصد بوده است(۱۱). این مطالعه با توجه به درصد مقاومت و حساس بودن آنتی‌بیوتیک‌ها و حساس‌تر بودن سودوموناس آئروژینوزا به آنتی‌بیوتیک سفتازیدیم، با مطالعه آذرگون و همکاران مطابقت داشت.

با توجه به این مطالعه و سایر مطالعات، در این مطالعه ارتباط معنی‌داری بین ژن exoT و مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی پنم، آمپی سیلین، تری متوپریم و سفازولین یافت شد. از طرفی ارتباط معنی‌داری بین ژن exoS و مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آنتی بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، سفازولین و تری متوپریم دیده شد. که این ارتباط نشان می‌دهد که ایزوله‌هایی از سودوموناس آئروژینوزا که حاوی این دو ژن مربوط به سیتو توکسین‌های سیستم ترشحی تیپ ۳ می‌باشند، در مقاوم شدن این باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها نقش مهمی دارند.

در اکثر ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا هر دو ژن exoT و exoS حضور دارند که درصد فراوانی ژن exoT بیش‌تر بوده است. و هم‌چنین مقاومت بالایی در این ایزوله‌ها دیده شد به‌طوری‌که به بیش از نیمی از آنتی‌بیوتیک‌هایی که در این مطالعه استفاده شد مقاوم بودند. البته با توجه به درصد بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی سودوموناس آئروژینوزا در سایر مطالعات، می‌توان به این نتیجه دست یافت که ایزوله‌هایی از سودوموناس آئروژینوزا که حامل این ژن‌ها هستند، مقاومت بالایی به آنتی‌بیوتیک‌ها دارند. با توجه به بستری شدن دراز مدت بیماران سوختگی به دلیل عارضه سوختگی در بیمارستان‌ها و کاهش سد دفاعی این بیماران و فرصت طلب بودن باکتری سودوموناس آئروژینوزا و وجود فاکتورهای بیماری‌زایی چون سیتوتوکسین‌های ترشحی که در اکثر سوش‌های این باکتری موجود است، این باکتری به عنوان تهدید جدی برای بیماران سوختگی محسوب می‌شود. شناسایی عوامل موثر در بیماری‌زایی سودوموناس آئروژینوزا می‌تواند در انتخاب روش‌های پیشگیری و درمان مناسب عفونت‌های این باکتری کاربرد داشته باشد.

www.SID.ir

سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد زیست‌شناسی گرایش میکروبیولوژی خانم پروانه رهبری جید می‌باشد.بدین وسیله از زحمات تمامی افراد شرکت‌کننده در این مطالعه بالاخص کارکنان آزمایشگاه بیمارستان سوختگی زارع ساری نهایت قدردانی و سپاس را داریم.

References

1. Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, Hartigan P, Fanning S, FitzPatrick ES. Veterinary microbiology and microbial disease. New Jersey, John Wiley & Sons; 2011.
2. Jabalameli F, Mirsalehian A, Sotoudeh N, Jabalameli L, Aligholi M, Khoramian B, etal. Multiple-locus variable number of tandem repeats (VNTR) fingerprinting (MLVF) and antibacterial resistance profiles of extended spectrum beta lactamase (ESBL) producing Pseudomonas aeruginosa among burnt patients in Tehran. Burns. 2011;37(7):1202-1207.
3. Ramos JL, Filloux A. Pseudomonas: vol6 ;Molecular Microbiology, Infection and Biodiversity. Netherlands ,Springer 2010.
4. Jefferies JM, Cooper T, Yam T, Clarke SC. Pseudomonas aeruginosa outbreaks in the neonatal intensive care unit–a systematic review of risk factors and environmental sources. J Med Microbiol. 2012;61(8):1052-1061.
5. Engel J, Balachandran P. Role of Pseudomonas aeruginosa type III effectors in disease. Curr Opin Microbiol. 2009; 12(1): 61-66.
6. Galle M, Carpentier I, Beyaert R. Structure and function of the Type III secretion system of Pseudomonas aeruginosa. Curr Protein Pept Sci. 2012;13(8):831-842.
7. Sun Y, Karmakar M, Taylor PR, Rietsch A, Pearlman E. ExoS and ExoT ADP ribosyltransferase activities mediate Pseudomonas aeruginosa keratitis by promoting neutrophil apoptosis and bacterial survival. J Immunol .2012; 188: (4):1884-1895.
8. Galle M, Carpentier I, Beyaert R. Structure and function of the Type III secretion system of Pseudomonas aeruginosa. Curr Protein Pept Sci. 2012 ;13(8):831-842.
9. Hauser AR. The type III secretion system of Pseudomonas aeruginosa: infection by injection. Nat Rev Microbiol 2009; 7(9): 654-665.
10. Shen DK , Quenee L, Bonnet M, Kuhn L, Derouazi M, Lamotte D,etal. Orf1/SpcS chaperones ExoS for type three secretion by Pseudomonas aeruginosa. Biomed Environ Sci. 2008; 21(2): 103-109.
11. Azargoon R, Doustdar F, Khanbabaei G, Ghazi M, Mehrnejad F, Goudarzi H. Type III secretion system characterization of Pseudomonas aeruginosa isolates associated with cystic fibrosis. Research in Medicine 2013; 37 (3): 1890-1193.(persian)
12. Sun Y, Karmakar M, Taylor PR, Rietsch A, Pearlman E. ExoS and

Archive of SID

www.SID.ir

ExoT ADP ribosyltransferase activities mediate Pseudomonas aeruginosa keratitis by promoting neutrophil apoptosis and bacterial survival. J Immunol. 2012;188(4):1884-1895.

13. Jabalameli F, Mirsalehian A, Khoramian B, Aligholi M, Khoramrooz SS, Asadollahi P, etal. Evaluation of biofilm production and characterization of genes encoding type III secretion system among Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients. Burns 2012; 38(8): 1192-1197.
14. Saleh P, Afsharjoo HR, Noshad H, Mallah F. Bacteriology of Burned Patients Admitted to Burn Unit in Northwest of Iran. Med J Tabriz Univ MedSci Health Services. 2016; 38(4): 38-43.
15. Habibi A, Amir Mozafari N, Fallah Mehrabadi J, Kazemi Darsanky R. The frequency and antibiotic resistance modeling in clinical strains of Pseudomonas aeruginosa isolated from different parts of Tehran hospitals. RJMS 2016, 23(146): 10-16.
16. 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. ZUMS Journal 2015; 23(99): 52-63.
17. Aghaei SS, Javadi A, Sharifi Y, Morovvati A. Detection of ExoT oxin A, Y, T, U, S genes of Pseudomonas aeruginosa Isolates Resistant to Third-Generation Cephalosporins in Clinical Samples of Hospitalized Patients in Hospitals of Qom City, Iran. Qom Univ Med Sci J 2016, 10(1): 48-55.
18. Strateva T, Markova B, Ivanova D, Mitov I. Distribution of the type III effector proteins-encoding genes among nosocomial Pseudomonas aeruginosa isolates from Bulgaria. Ann Microbiol .2010; 60(3): 503- 509.

Archive of SID

www.SID.ir