Archive of SID

فصلنامه

دانش میکروب شناسی

سال دوم، شماره ۶، بهار ۱۳۸۹

بررسی ژن mexX در سویه های سودوموناس آئروجینوزا جدا شده از نمونه‌های بالینی

مهرناز ذوالعلی[۱]، میترا صالحی سیرجانی[۱*]، نادر مصوری[۲]، مهدی بلفیون[۱]، محمد طاهری[۲] و مونا میرزایی[۱]

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال،۲. موسسه واکسن و سرم سازی رازی، کرج

چکیده

سودوموناس آئروجینوزا یک پاتوژن فرصت طلب است که به بسیاری از آنتی‌بیوتیک ها مقاوم می باشد. گزارشات دهه اخیر بخشی از حساسیت ضعیف دارویی این باکتری را مربوط به سیستم های افلوکس فعال از جمله MexXY-OprM می دانند. سیستم MexXY-OprM در سودوموناس آئروجینوزا منحصر به فرد است زیرا این اپرن در معرض آنتی‌بیوتیک هایی که به بیرون پمپ می‌کند، القا می‌شود. جالب است که نه همه سوبستراهای آنتی‌بیوتیکی بلکه عواملی که ریبوزوم را هدف قرار می‌دهند می‌توانند این اپرن را القا کنند. در این بررسی ۱۰۲ ایزوله از بیماران بستری در بیمارستان سوختگی جمع آوری گردید. با انجام آزمون‌های بیوشیمیایی،۵۸ ایزوله سودوموناس آئروجینوزا شناسایی شدند و تست حساسیت به آنتی بیوتیک روی آنها انجام شد. سویه های دارای مقاومت چند دارویی برای تعیین MIC و انجام PCR انتخاب شدند. بیشترین درصد مقاومت سویه ها به آنتی بیوتیک های جنتامیسین، توبرامایسین، آمیکاسین و سیپروفلوکساسین مشاهده گردید. با توجه به اینکه حضور ژن *mexX* از سیستم MexXY-OprM در ایزوله های MDR مورد مطالعه، مشاهده شد. می‌توان نتیجه گرفت که در سویه‌های جداشده احتمال بیان سیستم MexXY-OprM به میزان بالایی وجود دارد همانطور که نتایج MIC نیز تایید کننده این مطلب است.

واژگان کلیدی: سودوموناس آئروجینوزا- ژن *mexX*- مقاومت دارویی

مقدمه

باکتری سودوموناس آئروجینوزا، پاتوژن فرصت طلبی است که امروزه به عنوان یکی از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی نام برده می‌شود. مقاومت سویه‌های این باکتری به عوامل ضد میکروبی، می‌تواند در ارتباط با عدم نفوذپذیری غشاء خارجی و فعالیت چندین سیستم افلوکس دارو باشد(۱). در حقیقت انتشار دارو به بیرون سلول بر پایه انرژی، یکی از دلایل عمده مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه های سودوموناس آئروجینوزا گزارش شده است. زیرا این توانایی در باکتری های پاتوژن فرصت طلب با چندین مکانیسم مقاومت به دارو، باعث می شود که در مقابل فشار محیطی ایجاد شده توسط حضور دائم آنتی بیوتیک ها مقابله نمایند. در دو دهه اخیر تحقیقات مولکولی در مورد عوامل انتقال دهنده های دارو (کروموزوم و پلاسمید) در انواع مختلف میکروارگانیسم ها شرح داده شده است. خانواده RND به عنوان انتقال دهنده‌های دارو و به علت فراوانی و ارتباط آنها با مقاومت آنتی بیوتیکی، در ارگانیسم های گرم منفی مورد توجه هستند (۱). خصوصا پمپ‌های MexAB-OprM و MexXY-OprM که در ارتباط با مقاومت ذاتی سودوموناس آئروجینوزا هستند بیشتر مورد توجه می‌باشند. ژنهای کد کننده سیستم‌های افلوکس دارویی (multidrug efflux)، در مقاومت ذاتی یا به دنبال یک موتاسیون،در مقاومت اکتسابی شرکت دارند (۲). همکاری اینگونه ژنها و انتشار دارو به بیرون سلول با هم به طور سینرژیکی مقاومت را ایجاد می کنند (۳). در مقاومت سودوموناس

www.SID.ir

Archive of SID

آئروجینوزا حداقل ۵ پمپ انتشار دارو از خانواده RND با عنوان‌های MexCD-OprJ، MexAB-OprM، MexXY-OprM، MexEF-OprN، MexJK-OprM و شناخته شده اند. اگر چه پمپ های افلوکس در سودوموناس آئروجینوزا شناخته شده اند و به نظر می رسد که سازمان ساختاری مشترکی دارند اما در بسیاری جهات از جمله سوبسترای آنتی بیوتیکی و تنظیم اپران کاملا متفاوت عمل می کنند. به هر حال فقط سیستم MexXY هم در ارتباط با عدم نفوذپذیری و هم مقاومت انطباقی با آمینوگلیکوزید در این ارگانیسم ها یافت شده است (۴ و۵).

ژن‌های *mex*X (multidrug efflux X) و *mex*Y (multidrug efflux Y) (Genebank: AB015853.1) توسط اپرن سیستم تراوشی MexXY کد می شوند و جزء غشاء خارجی برای این سیستم احتمالا OprM است که محصول سومین ژن کد کننده نوع RND اپرن سه جزئی MexAB-OprM نیز می باشند (۵ و۶). سیستم MexXY-OprM در سودوموناس آئروجینوزا منحصر به فرد است زیرا زمانی که اپرن MexXY در معرض بسیاری از آنتی بیوتیک هایی قرار میگیرد که توسط این سیستم خارج میشوند، القا میشود. جالب توجه است که عواملی که ریبوزوم را هدف قرار میدهند، بیان سیستم MexXY را القا میکنند. حذف MexXY از سویه وحشی سودوموناس آئروجینوزا حساسیت این باکتری را به جنتامیسین، تتراسایکلین و اریترومایسین افزایش میدهد. این پمپ قادر است با سوبستراهای آنتی بیوتیکی نظیر تتراسایکلین و جنتامیسین القا شود و قادر است فلوئوروکینولونها، ماکرولیدها وکارباپنم ها را به بیرون پمپ کند (۸ و۷).

بیان ژنهای *mex*X و *mex*Y به شدت توسط عوامل مداخله گر در سنتز پروتئین از جمله آمینوگلیکوزید ها یا تتراسایکلین القا می شود (۹). اگر چه غیر فعال سازی این پمپ در سویه های مقاوم، حساسیت را افزایش می دهد و در سویه مقاوم به آمینوگلیکوزید، این پروتئین پمپ به شدت بیان می شود ولی همیشه ارتباط روشنی بین میزان بیان و مقاومت وجود ندارد (۱۱و۱۰).

مطالعات نشان داده‌اند که سلول سودوموناس آئروجینوزا وقتی در معرض غلظت‌های مهاری تتراسایکلین، اریترومایسین یا جنتامیسین قرار می‌گیرد، تولید پروتئین MexX، (لیپوپروتئین فضای پری پلاسمیک) افزایش می‌یابد (۱۲). این تحقیق جهت شناسایی ژن *mexX* در ایزوله های جدا شده و ارتباط آن با مقاومت آنتی بیوتیکی انجام شد.

مواد و روش ها

نمونه گیری

در این بررسی، ۱۰۲ ایزوله از بیماران سوختگی جمع آوری شد. ایزوله‌ها بعد از انتقال به آزمایشگاه تحت تست‌های میکروسکوپی و بیوشیمیایی قرار گرفتند. به همین منظور، ابتدا کشت ایزوله‌ها بر روی محیط‌های سیتریمید آگار، TSI، سیمون سیترات آگار انجام و رشد سویه ها در دماهای ۳۷ و ۴۲ درجه مورد بررسی قرار گرفت. سپس کلنی ها با توجه به رنگ آمیزی گرم، کشت SIM، آزمون های کاتالاز واکسیداز و MRVP تعیین هویت شدند.

تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیک

بررسی حساسیت دارویی سویه‌های بالینی با روش‌های انتشار در آگار (Kirby-Bauer) وطبق استاندارد NCCLS و همراه با سویه استاندارد ۲۷۸۵۳ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC به عنوان شاهد انجام شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک مورد استفاده در این تحقیق طبق جدول ۱ از شرکت پادتن طب تهیه شدند.

در روش دیسک گذاری ابتدا از هر ایزوله ۱۶ ساعته در فاز رشد، سوسپانسیون میکروبی برابر با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند (غلظت تقریبی $۵/۱ \times ۱۰^{۸}$ CFU/ml) تهیه و در شرایط کاملا سترون با سوآب به صورت سطحی بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. سپس دیسک های آنتی بیوتیک مورد نظر با رعایت فاصله بر روی محیط کشت قرار گرفتند. پلیت ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شدند (۱۳). قطر هاله عدم رشد که نشان دهنده میزان تاثیر آنتی بیوتیک است با کولیس اندازه‌گیری و در نهایت الگوی مقاومت آنتی-بیوتیکی سویه‌ها بر اساس درصد گزارش شد.

www.SID.ir

Archive of SID

در ایـن مطالعـه بعـد از تعیـین الگـوی مقاومـت آنتی‌بیوتیکی، سویه هـای سـودوموناس آئروجینـوزا دارای مقاومت چند گانه، جهـت تعیـین MIC بـه روش مـاکرو بـراث دیلوشـن انتخـاب و بـا آنتـی بیوتیـک‌هـای سیپروفلوکساسـین، جنتامیسـین سـولفات، آمیکاسـین سـولفات و توبرامایسـین (شـرکت دارویـی اکسـیر) مـورد ارزیابی قرار گرفتند.

واکنش پلی مراز PCR

بـرای تکثیـر ژن *mexX*، در سـویه هـای انتخـابی بـا خصوصیات MDR پرایمـر هـای اختصاصـی زیـردر نظـر گرفته شدند. با توجه به توالی نوکلوئیدی پرایمر ها، قطعـه bp ۳۳۶ نشانه حضور ژن مذکور است.

Forward - 5: GTCCTTATCCCGCTGGT-3

Reverse - 5`-:GCTGTTCGAGTTCCGCA-3`

DNA سویه های سودوموناس توسط کیـت تخلـیص شرکت metabion استخراج شـدند. پرایمرهـا بـا غلظـت ۰/۲ پیکومول به ازای هر میکرولیتر در مخلوط واکـنش بـا حجم نهایی ۱۰۰ میکرو لیتر استفاده شدند. برنامـه زمـان بندی دسـتگاه ترموسـایکلر بـا دناتوراسـیون اولیـه در ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت چهار دقیقه و سـپس تکثیـر در ۳۵ سیکل به تر تیب با دناتوراسیون در ۹۴ درجه سـانتی-گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصـال پرایمـر هـا در ۶۳/۱ درجـه سانتی گراد به مدت یک دقیقه و در نهایت پلیمراسیون در دمای ۷۲به مدت ۱ دقیقه تنظیم شد.

نتایج و بحث

در مجمـوع بـین ۵۸ سـویه سـودوموناس آئروجینـوزا جداشده از زخـم هـای سـوختگی میـزان مقاومـت بـالای آنتی بیوتیکی مشاهده شدند. به طوری که مقاومت نسـبت بـه آنتـی بیوتیـک هـای رایـج درمـان بـه ترتیـب شـامل توبرامایسـین (۱۰۰٪)، جنتامیسـین (۱۰۰٪)، سیپروفلوکسـین (۹۵٪)، آمیکاسـین (۹۰٪)، تتراسایـکلین (۸۰٪)، پیپراسـیلین/تازوباکتـام (۸۰٪)، سفتازیدیم (۷۰٪) و ایمی پنم (۳۱٪) بوده است.

سویه های بیمارستانی در مقایسه بـا سـویه اسـتاندارد نسبت به آنتی بیوتیک هـای جنتامیسـین و توبرامایسـین مقاومت بسیار بیشتری نشان دادنـد. در نهایـت تعـداد ۱۸ سویه بالینی (۳۱٪) با مقاومت چند گانه نسبت بـه آنتـی-بیوتیکهای جنتامیسین، توبرامایسـین، سیپروفلوکساسـین، آمیکاسین، تتراسایکلین، پیپراسیلین/تازوباکتام، سفتازیدیم و ایمی‌پنم شناسایی شدند.

نتـایج تعیـین حـداقل غلظـت بـاز دارنـده بـا روش مـاکروبراث دیلوشـن بـرای آنتـی‌بیوتیـک هـای سیپروفلوکساسین، توبرامایسـین و آمیکاسـین بـه ترتیـب برابر۱۲/۵، ۲۵۰ و ۳۱۲/۵ میلی گرم در لیتـر بـود. MIC جنتامیسین بیش از ۳۱۲/۵ میلی گرم در لیتر بود. چنانچه MIC جنتامیسین و آمیکاسین یکی از سویه‌ها به ترتیـب ۲۵۰۰ و ۱۲۵۰ میلی گرم در لیتر بود.

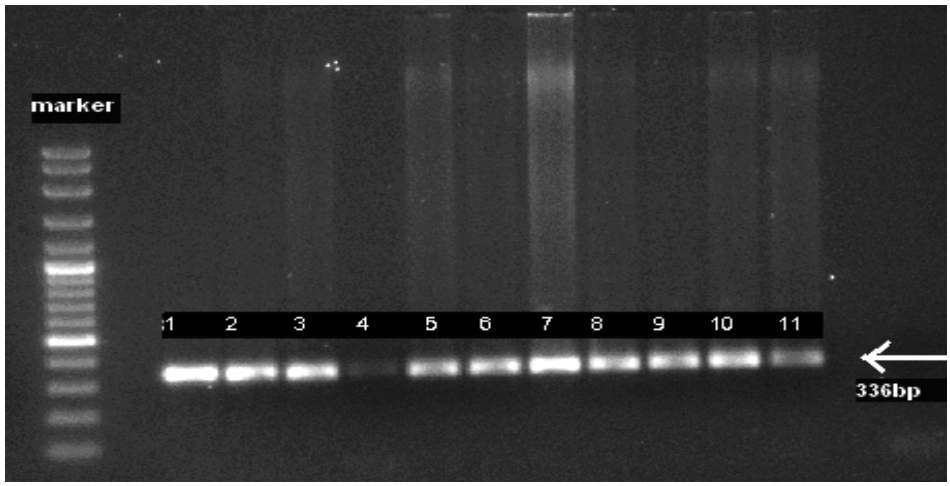
جدول۱. آنتی بیوتیک های مورد استفاده در این تحقیق

آنتی بیوتیک ها	غلظت دیسک ها (µg/L)
جنتامیسین(GM)	۱۰
آمیکاسین(AN)	۳۰
سیپروفلوکساسین(CP)	۵
توبرامایسین(TOB)	۱۰
تتراسایکلین(TE)	۳۰
سفتازیدیم(CAZ)	۳۰
پیپراسیلین/تازوباکتام(TZP)	۱۰+۱۰۰
ایمیپنم(IPM)	۱۰

تعداد ۱۸ سویه ی بالینی که بیشترین MIC را نسبت به آنتی بیوتیک‌ها نشان دادند جهت بررسـی مولکـولی در نظـر گرفتـه شـدند. مشـاهده قطعـه bp ۳۳۶ در ژل الکتروفورز ۱٪ نشانه عملکرد پرایمر هـای اختصاصـی و در نتیجه حضور ژن *mexX* در تمام ۱۸سـویه سـودوموناس آئروجینوزا(۱۰۰٪) بود (شکل ۱).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. الکتروفورز در ژل ٪۱، ستونهای ۱۱-۱قطعه تکثیر یافته bp ۳۳۶ از ژن *mex*X و مارکر از bp ۱۰۰ تا bp ۱۵۰۰ با فواصل bp ۱۰۰را نشان می‌دهد.

امروزه به علت استفاده از آنتی‌بیوتیک های وسیع الطیف در مراکز درمانی، گزارشات مبنی بر جدا سازی سویه های سودوموناس آئروجینوزا با مقاومت چندگانه به دارو و در نهایت پایداری عفونت، رو به افزایش است. در این راستا تحقیقات بسیاری در جهت آگاهی و شناخت عوامل مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری ها، در دست بررسی می باشند.

آمینوگلیکوزیدها گروه مهمی از آنتی بیوتیک های وسیع الطیف و همواره یکی از مهمترین انتخاب ها برای درمان عفونت‌های تهدید کننده از جمله سودوموناس به شمار آمده اند چنانچه در دودهه اخیر، ترکیبات طبیعی از قبیل جنتامیسین و توبرامایسین وارد عرصه شدند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سویه‌های سودوموناس آئروجینوزا ایزوله شده از بیماران نسبت به آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در بیماران دچار سوختگی از جمله جنتامیسین، آمیکاسین، توبرامایسین و سیپروفلوکساسین دارای درصد مقاومت بالایی می باشد که البته در مطالعات همواره مقاومت سویه های جدا شده از مراکز سوختگی بیشتر از سایر سویه ها گزارش شده است (۱۴). در سال ۸۴ بیشترین مقاومت به لینکومایسین (٪۱۰۰) و بیشترین حساسیت به ایمی‌پنم (٪۱) گزارش شد (۱۵). در سال ۸۸بیشترین مقاومت سویه‌های سودوموناس آئروجینوزا به سفتی‌زوکسیم (٪۸۷) و بیشترین حساسیت به ایمی‌پنم (٪۶۹/۵) بود (۱۶) و در این مطالعه بیشترین مقاومت به جنتامیسین و توبرامایسین (٪۱۰۰) و بیشترین حساسیت به ایمی‌پنم (٪۳۱) دیده شد. بنابراین در بین آنتی‌بیوتیک های رایج در درمان سودوموناس آئروجینوزا به نظر می‌رسد که ایمی‌پنم موثرترین آنتی‌بیوتیک است.

درمان عفونتهای ناشی از سودوموناس آئروجینوزا یکی از مشکلات بهداشتی می باشد که به علت طیف وسیعی از مقاومت آنتی بیوتیکی در این باکتری است. این مقاومت به علل مختلف از جمله وجود سیستم‌های افلوکس (multidrug efflux)، نفوذپذیری کم سلول، تولید بیوفیلم ،اکتساب ژن از طریق پلاسمید و اینتگرون‌ها کسب می‌شود (۱۴). اختصاصی بودن سوبسترا برای سیستم افلوکس دارویی نسبتا گسترده است (۸ و۷).

یک آنتی بیوتیک ممکن است یک سوبسترا برای انواع مختلف پمپ ها باشد و همچنین یک پمپ ممکن است نه فقط آنتی بیوتیک های مختلف از کلاس یکسان، بلکه کلاس های مختلف آنتی بیوتیک را به بیرون دفع کند. نهایتا، یک سلول می تواند یک انبار بزرگ و پیچیده از پمپ های افلوکس داشته باشد تا طیف وسیعی از داروها را به بیرون دفع کند (۱۷).

اخیرا سیستم‌های افلوکس به عنوان یکی از مکانیسم‌های کارامد و موثر در مقاومت سودوموناس آئروجینوزا شناخته شده اند.یکی از این سیستم ها به نام MexXY دلیل بر مقاومت سویه‌های سودوموناس

www.SID.ir

Archive of SID

آئروجینوزا نسبت به آمینوگلیکوزید است. این پمپ به عنوان مقاومت بر پایه عدم نفوذپذیری (AGIR)، تنها مکانیسم معمول در ٪۹۰ از سویه های جداشده از بیماران CF گزارش شده است (۶). در مطالعات حذف MexXY از سویه سودوموناس آئروجینوزا حساسیت آن را نسبت به جنتامیسین، تتراسایکلین و اریترومایسین افزایش داده است (۵).

مقالات موجود در ۱۰ سال اخیر رابطه بین مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری سودوموناس آئروجینوزا را با پمپ های مختلف تراوشی در باکتری مذکور بررسی نموده است (۶). از آنجایی که آمینوگلیکوزیدها در درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط سودوموناس آئروجینوزا در بیماران سوختگی با ارزش می باشند، در سویه های بالینی دارای مقاومت چند گانه نسبت یه آمینوگلیکوزیدها، به بررسی حضور ژن *mex*X از پمپ تراوشی پرداخته شد. نتایج مولکولی حاکی از وجود این ژن در تمام سویه های MDR بود. یکی از دلایل آن را می توان اینگونه ذکر کرد که آنتی بیوتیک‌های آمینو کلیکوزیدی سوبسترای مناسب را یرای القاء سیستمMexXY ایجاد نموده‌اند که تاکیدی بر مقاومت بالای این سویه‌ها نسبت به آمینوگلیکوزیدها است. در ایران، خانم آزاده رحمانی در سال ۲۰۰۷ رابطه بین MexAB-OprM با مقاومت ذاتی سودوموناس آئروجینوزا در ایزوله‌های بالینی را مورد بررسی قرار داد. ایشان با روش مولکولی PCR بر روی ۲۳ سویه MDR تنها در ۴ سویه mexAB مثبت را مشاهده کرد (۱۸).

Arno Muller در سال ۲۰۰۸ به رابطه بین مصرف آنتی بیوتیک و پیدایش MexXY-OprM در بین ایزوله‌های بالینی سودوموناس آئروجینوزا پرداخته است (۱۹). نتایج مطالعه وی نشان می‌دهد که در سویه‌هایی که به طور غیر آنزیمی به آمینوگلیکوزیدها مقاوم هستند، مکانیسم دیگری که باعث مقاومت به این گروه دارویی می‌شود بیشتر به علت تولید پروتئینهای سیستم MexXY-OprM است. بنابر این در این مطالعه که هر ۱۸ ایزوله دارای ژن *mexX* بودند بایستی حضور آنزیمهای تغییر دهنده آمینوگلیکوزیدها و نیز بیان پروتئینهای سیستم MexXY-OprM بررسی شود. از طرفی برخی از مطالعات بیان سیستم تراوشی MexXY را تحت کنترل منفی با پروتئین دیگری به نام MexZ گزارش می‌کنند bp ۲۶۳ بالا دست *mexX* قرار دارد (۲۰).

نتایج تحقیق حاضر بیانگر این مطلب است که اولا سویه‌های بالینی سودوموناس با مقاومت بسیار بالا آنتی‌بیوتیکی در بین بیماران شایع است. دوم اینکه، بخشی از یک سیستم تراوشی در تمام ایزوله های مورد مطالعه وجود دارد، بنا براین به نظر می رسد که سیستم MexXY در ایزوله ها بالینی با توجه به مصرف نوع آنتی بیوتیک نسبت به دیگر پمپ‌ها بیشتر القاء شده باشد. البته روش‌های مولکولی دیگر از جمله SDS_PAGE برای بررسی بیان پروتئین های سیستم MexXY و مطالعه این پمپ تراوشی لازم است.

تشکر و قدر دانی

بدین وسیله از همکاران آزمایشگاه محمودیه (واحد تهران-شمال)، موسسه رازی و آقای مهندس توحید پور که در تامین امکانات لازم جهت انجام پروژه ما را یاری نمودند سپاسگزاری می نماییم.

منابع

1. Li XZ, Zhang L, Poole K. (2000). Interplay between the MexA– MexB–OprM multidrug efflux system and the outer membrane barrier in the multiple antibiotic resistance of pseudomonas aeruginosa. J Antimicrob Chemother. **45**, 433-436.
2. Pool K. (2005). Efflux- mediated antimicrobial resistance.J Antimicrob Chemother. **56**: 20-51.
3. Germ M, Yoshihara E, Yoneyama H, Nakae T. (1999). Interplay between the efflux pump and the outer membrane permeability bariier in fluorescent dye accumulation in Pseudomonas aeruginosa.Biochem Biophys Res Commun. **261**:452-455.
4. Aries JR, Kohler T, Nikaido H, Plesiat P. (1999). Involvement of an active efflux system in the natural resistance of Pseudomonas aeruginosa to aminoglycosides.Antimicrob Agents Chemother **43**:2624-2628.

www.SID.ir

Archive of SID

5. Westbroc –Wadman S, Sherman DR, Hickey MJ, Coulter SN, Zhu YQ, Warrener Pl. (1999). characterization of a Pseudomonas aeruginosa efflux pump contributing to aminoglycoside impermeability. Antimicrob Agents Chemother. **43**:2975-2983.Okamoto K, Gotoh N, Nishino T. (2002). Alterations of susceptibility of Pseudomonas aeruginosa by overproduction of multidrug efflux systems, MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY/OprM to carbapenems: substrate specificities of the efflux systems.Infect Chemother. **8**:371-373.
6. Masuda N, Sakagawa E, Ohya S, Gotoh N, Tsujimoto H, Nishino T. (2000). Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-OprM efflux pumps in Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother, **44**:2975-2983.
7. Mine T, Morita Y. Kataoka A, Mizushima T, Tsuchiya T. (1999). Expression in Escherichia coli of a new multidrug efflux pump, MexXY, from Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother, **43**:415-417.
8. Sobel ML, Mckay GA, Poole K. (2003). Contribution of the MexXY multidrug transporter to aminoglycoside resistance in Pseudomonas aeruginosa clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother, **47**:3202-3207.
9. Rosenberg EY, Ma D, Nikaido H. (2000). AcrD of Escherichia coli is an aminoglycoside efflux pump.J Bacteriol, **182**:1754-1756.
10. Jo JTH, Brinkman FSL, Hancock REW. (2003). Aminoglycoside Efflux in Pseudomonas aeruginosa : Involvement of Novel Outer Membrane Proteins. Antimicrob Agents Chemother, **47**:1101-1111.
11. Masuda, N., E. Sakagawa, S. Ohya, N. Gotoh, H. Tsujimoto, and T. Nishino. (2000). Contribution of the MexX-MexY-OprM efflux system to intrinsic resistance in Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob. Agents Chemother, **44**:2242-2246.
12. Bauer A W; Kirby W M M; Sherris J C; Turck M. (1996). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single Disk Method. Am. J. Clin. Pathol. **45**(4): 493-496.
13. Shahcherraghi F, Feizabadi MM, Yamin V, Abiri R, Abedian Z. (2003). Serovar determination, drug resistance patterns and plasmid profiles of Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients at two hospitals of Tehran (Iran). Burns. **29**:547-551.
14. Abdi-Ali A,Nikbin V, Feizabadi MM,Ghrori S and Falahi Z. (2005). Study of plasmid profile and antibiotic resistant in clinical Pseudomonas aeruginosa.Biology magazine, **18**:141-149.
15. Sami H,Olia P, Yakhchali B and Lari A. (2009). Investigation of drug susceptibility and molecular epidemiology of Pseudomonas aeruginosa isolated patients. Biology magazine.
16. Jeannot K, Sobel ML, El Garch F, Pool K, Plesiat P. (2005). Induction of MexXY efflux pump in Pseudomonas aeruginosa is dependent on drug-ribosome interaction.J Bacteriol, **187**:5341-5346.
17. Abdi-Ali A, Rahmani-Badi A Falsafi T and Nikname V. (2007). Study of Antibiotic Resistance by Efflux in Clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa.Pakistan Journal of Biological Sciences, 924-927.
18. Arno Muller, Didier Hocquet , Karine Blanc, Patrick Plésiat, Daniel Talon, Dominique Louis Monnet, and Xavier Bertrand. (2008). Relationship between Antibiotic Use and Incidence of MexXY-OprM Overproducers among Clinical Isolates of Pseudomonas aeruginosa.Antimicrob Agent Chemother. **52**:1173-1175.
19. Yasuhiro Matsuo , Shima Eda , Nobuyuki Gotoh , Eisaku Yoshihara, Taiji Nakae. (2006). MexZ-mediated regulation of mexXY multidrug efflux pump expression in Pseudomonas aeruginosa by binding on the mexZ-mexX intergenic DNA.FEMS Microbilogy Letters, **1**:23-28.

www.SID.ir