Archive of SID

فصلنامه

دانش میکروب شناسی

سال دوم، شماره ۶، بهار ۱۳۸۹

بررسی مقاومت نسبت به نقره در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از سوختگی‌ها نسبت به نقره به دو روش تعیین MIC و مولکولی

مونا میرزایی*[۱]، فرزانه حسینی[۲] و میترا صالحی[۱]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال mona604@yahoo.com *،۲. استادیار گروه میکروبیولوژی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال،*

چکیده

پایداری پاتوژن‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک همواره پژوهشگران را به فکر یک بیوساید جایگزین مناسب انداخته است. شیوع پلاسمید-های حاوی مقاومت نقره و آنتی بیوتیک در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا تهدیدی جدی در جهت کنترل و درمان عفونت‌های زخمی بیمارستانی است. در این بررسی سویه‌های مقاوم بالینی را از زخم های سوختگی جدا نموده و بعد از شناسایی و تعیین هویت سویه ها، MIC نیترات نقره برای سویه‌های جدا شده تعیین شده است. حضور ژن مقاومت نقره (*silS*) در پلاسمید سویه‌های جدا شده از طریق PCR مورد بررسی قرار گرفته است. از ۷۰ سویه ی باکتریایی جدا شده، حدود٪۸۵ سویه‌ها دارای MIC ۰/۰۱–۳۵ میلی گرم در میلی لیتر نسبت به نیترات نقره بودند. ٪۳۶ سویه‌ها به نیترات نقره مقاوم بودند. حضور ژن *silS* با باند ۱۵۰۰جفت باز در پلاسمید ٪۳ سویه های جدا شده تایید گردید. در این بررسی مشخص گردید که مقاومت به نیترات نقره در سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک مشاهده می شود و در سویه های حساس چنین ارتباطی مشاهده نگردید. کاربرد بی رویه بیوساید های حاوی ترکیبات نقره می تواند منجر به افزایش سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک شده و درمان عفونت های سوختگی را با مشکل جدی مواجه سازد.

واژگان کلیدی: نقره، مقاومت، عفونت سوختگی، پروتئین متصل شونده به نقره.

مقدمه

با پیدایش مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک، مجددا از نقره برای درمان بیماری‌های سوختگی در دهه ۱۹۶۰استفاده شد، اما این بار به صورت محلول ۰/۵٪ نیترات نقره بکار گرفته شد(۲و۳). در آن هنگام سویه های *Pseudomonas aeruginosa* مقاوم به آنتی‌بیوتیک مشاهده شده بود، ولی گزارشی در مورد سویه های مقاوم به نقره در دست نبود (۱). کاسون و همکارانش مقاومت باکتریایی به نقره را در باسیل‌های گرم منفی در اوایل سال ۱۹۶۶در زخم‌های سوختگی گزارش کردند(۳۸). محصولات نقره بخاطر تاثیرات مفید هزاران سال است که در بهداشت و درسالهای اخیر به عنوان آنتی‌میکروبیال استفاده شده اند. عوارض مرتبط با نیترات نقره (ایجاد فرسایش در پوست انسان)، در سال ۱۹۶۸، منجر به استفاده از سولفادیازین نقره (نقره در ترکیب با سولفونامید) شد و طیف فعالیت آنتی‌باکتریایی وسیعتری برای درمان سوختگی بوجود آمد (۴و۵). در همین زمان، کرم‌های مختلف دیگری مانند فلامازین، سیلوازین، سیلورلون، Acticoat وActisorb که از نقره تشکیل شده بود تهیه و به عنوان گزینه‌های درمانی مفیدتری برای درمان عفونت‌ها مورد استفاده قرار گرفتند (۶). مطالعات نشان می‌دهد که یون های نقره (Ag^{+}) در غلظت های

www.SID.ir

Archive of SID

پایین بر علیه طیف وسیعی از میکرو ارگانیسم‌ها موثرند و فعالیت تراپوتیک دارند (۷). امروزه به خاطر اثرات ضد میکروبی و سمیت کم آن‌ها برای سلول‌های انسانی تعداد زیادی از محصولات پزشکی حاوی نقره تهیه شده است. محصولاتی مانند کاتترها، باند های زخم بندی و سیستم های آبرسانی پوششی از نقره دارند (۸-۱۲). با وجود منافع پزشکی استفاده از نقره یونی برای درمان عفونت‌ها نگرانی‌هایی در رابطه با خطر پیشرفت مقاومت باکتریایی و ارتباط با مقاومت آنتی‌بیوتیکی وجود دارد. گزارشات حاکی از حضور باکتری های مقاوم به نقره از سال ۱۹۷۵شروع شد و روز به روز این تعداد افزایش داشته است (۱۳). بحث ژنتیکی مقاومت به نقره از حدود سال ۱۹۹۸آغاز گردید (۱۴و ۱۵). اساسا حضور سویه‌های باکتریایی بالینی مقاوم به نقره در بیمارستان‌ها است بخصوص در بخش‌های سوختگی، یعنی مکانی که از املاح نقره (به شکل نیترات نقره) بعنوان عوامل آنتی سپتیک استفاده می شود (۱۶ و ۱۷). یون های نقره با گروه‌های تیول در آنزیم های حیاتی واکنش داده و آنها را غیر فعال می‌کنند، یا با DNA واکنش داده ومنجر به افزایش دیمریزاسیون پیریمیدین از طریق واکنش فتودینامیک گشته و احتمالا مانع همانندسازی می‌شوند. همچنین نقره، با آمینواسیدهای نوکلئوفیلیک در پروتئین‌ها واکنش میدهد و به سولفیدریل، آمینو، ایمیدازول، فسفات و گروههای کربوکسیل غشا یا آنزیم‌های پروتئینی متصل شده و منجر به دناتوره شدن پروتئین می‌شود(۳۶و۳۷) ثابت شده است که ایجاد مقاومت نسبت به فلزات سنگین در باکتری‌های محیطی می‌تواند منجر به کسب مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ها شود (۷). ارتباط ژنتیکی مقاومت به جیوه و آنتی بیوتیک ها در انتروباکتریاسه ها گزارش شده است. سویه‌های مقاوم *Salmonella abortus* نسبت به آمپی سیلین و آرسنیک، کادمیوم و جیوه توسط Ghosh نشان داده شد. ارتباط مابین مقاومت به آنتی‌بیوتیک و مقاومت به سایر آلوده کننده‌های محیطی مانند درجنت ها را هم می توان مشاهده کرد(۱۸). کسب مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک از طریق کروموزومی یا عناصر ژنتیکی متحرک (مثل پلاسمیدها) انجام می‌پذیرد. بطور کلی بنظر می رسد که مشخصات ساختمانی و عملکردی مقاومت به آنتی بیوتیک ها با فلزات سنگین مشترک باشد (۱۹). تعدادی از گزارشات مهم حاکی از این بوده است که آلودگی محیط با فلزات نقش مهمی در ایجاد مقاومت به آنتی‌بیوتیک بازی می‌کنند (۲۰و۲۱). واقعیت این است که میزان فلزات سنگین در محیط خیلی بیشتر از آنتی بیوتیک ها است و برخلاف آنتی بیوتیک‌ها، فلزات مورد تجزیه قرار نمی‌گیرند و مدت طولانی در محیط باقی می‌مانند (۲۱). به این ترتیب آلودگی با فلزات بالقوه مخزنی از ژن‌های مقاوم به آنتی بیوتیک در هر دو منبع محیطی و بالینی را ایجاد می‌کند. اهداف بیوسایدهایی مانند نقره در جایگاه های متعددی بر روی باکتری ها است و فعالیت وسیع الطیف تری دارند در حالیکه آنتی بیوتیک ها با جایگاه هدف خاص و طیف فعالیت محدود تری مشخص می گردند (۷). مقاومت باکتری ها نسبت به بیوسایدها با دخالت پلاسمید در استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوک های کواگولاز منفی، اعضاء انتروباکتریاسه و سودوموناس ها گزارش شده است(۲۲-۲۴). پیشنهاد شده‌است که در محیط بیمارستانی در معرض قرار گیری مداوم با مقادیر تحت مهاری آنتی بیوتیک بیش از انتقال از طریق پلاسمیدی در کسب مقاومت نقش دارد و تماس سلول با سلول می تواند محرک بروز تغییراتی در ساختمان خارجی باکتری ها گردد(۲۵). در موقعیت‌های بالینی مقادیر اضافی بیوسایدها هم می‌توانند همان اثر را ایجاد کنند (۲۶). گزارشات زیادی از ژن های مقاومت دوگانه (Co-resistance) واقع بر روی پلاسمید ها وجود دارد. مکانیسم مقاومت دوگانه در نتیجه ترانسفورماسیون، انتقال پلاسمید در توالی های نزدیک رخ می‌دهد. به این ترتیب پلاسمیدهایی که ژنهای مقاوم به نقره را کدگذاری می کنند ممکن است مقاومت در مقابل آنتی بیوتیک را نیز کد گذاری کنند (۱۸). McHugh و همکارانش، عامل ژنتیکی مقاومت به نقره را در پلاسمید سالمونلایی pMG101 شناسایی کردند. در این باره مشخص گردید که این پلاسمید حاوی ۹ ژن است و عملکرد ۸ ژن از آنها و محصولات پروتئینی مرتبط با آنها، عمدتاً بر پایه همولوژی پروتئین های شناخته شده مقاومت به فلزات دیگر می باشد. پروتئین SilE پروتئین متصل شونده به Ag(I) پری پلاسمیک است (۲۶) که همولوگ پروتئین مقاوم به مس در *E.coli* PcoE می باشد (۱۴و ۱۵). SilCBA تشکیل دهنده

www.SID.ir

Archive of SID

مجموعه‌ای از یک سیستم تعویض کاتیون/ پروتون هستند که به صورت پلی پپتید سه تایی مشتق شده از غشا مشاهده می‌شوند. SilP، یک ATPase تیپ P می باشد، عضوی از یک خانواده بزرگ دیگر که مشابه eZux Atpase مقاومت به کاتیون فلزات سنگین است. گمان می‌رود که پروتئین چاپرون پری پلاسمیکSilF به عنوان بخشی از کمپلکس SilCBA باشد که نقره را از مکان آزاد شدن پری پلاسمیک خود به منطقه جذب پری پلاسمیک SilA حمل می‌کند (۲۶). استفاده از روش‌های اپیدمیولوژی مولکولی میزان و تنوع سیستم های مقاومت در منابع بالینی و غیر بالینی را نشان دادند. از آنجایی که در حال حاضر بطور متداول برای درمان عفونت های سودوموناسی از آنتی بیوتیک های جدید تری مانند ایمی پنم ها و فلوروکینولون ها استفاده می شود، جستجوی مولکولی ژن های مسئول مقاومت در سویه های بیمارستانی در افزایش آگاهی نسبت به مکانیسم های کسب مقاومت و پیشگیری بنظر مفید می رسد. در بررسی حاضر سویه‌های *Ps. aeruginosa* جدا شده از زخم‌های سوختگی از نظر مقاومت به نقره و آنتی بیوتیک‌های متداول در درمان عفونت های زخمی سودوموناسی مورد بررسی قرار گرفت. حضور ژن کد کننده پروتئین متصل شونده به نقره در این سویه ها از طریق روش مولکولی تایید گردید.

مواد و روش ها

جدا سازی و شناسایی

تعداد ۱۰۶سویه ی باکتریایی از بیماران سوختگی مرکز سوختگی شهید مطهری در شهر تهران توسط سواب استریل برای هر نمونه جمع آوری شد و توسط محیط ناقل به آزمایشگاه منتقل گردید. برای جداسازی و شناسایی سویه های *Ps. aeruginosa* از محیط کشت ستریماید آگار و آزمون های بیوشیمیایی مانند تست اکسیداز، محیط O/F، تخمیر قندها، تجزیه‌ی سیترات، تولید آرژی نین دکربوکسیلاز و تولید رنگدانه پیوسیانین استفاده گردید (۲۷). سویه‌ها در درجه حرارت ۲۰- درجه سانتیگراد در محیط نوترینت آگار حاوی ٪۳۰ گلیسرول ذخیره شدند.

تعیین الگوی حساسیت سویه ها

میزان مقاومت سویه‌های *Ps. aeruginosa* جدا شده از نمونه‌های بالینی و سویه‌ی کنترل *Pseudomonas aeruginosa* ATTC ۲۷۸۵۳ نسبت به نیترات نقره بررسی شد. محیط‌های کشت مولر-هینتون آگار (شرکت Difco) (pH در ۲۵°C معادل ۴/۷-۲/۷ در نظر گرفته می شود) در پلیت های با قطر ۹ سانتی متر به عمق ۴ میلیمتر (معادل تقریباً ۲۰میلی لیتر) تهیه گردید. دیسک های تجاری تهیه شده از شرکت پادتن طب با قطر حدود ۳۵/۶میلیمتر و قدرت مناسب (potency) مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا محلول نیترات نقره را در اتوکلاو قرار داده تا استریل شود، سپس دیسکهای بلانک را در مقادیر مختلف نیترات نقره (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰و ۵۰میلی‌مولار) غوطه ور کرده و پس از جذب کردن نیترات نقره، دیسکها در پلیت‌های استریل قرار گرفتند تا خشک شوند. سوسپانسیون باکتریایی با جذب نوری معادل ۱/۰برابر با کدورت ۵/۰ مک فارلند (تعداد تقریبی $۵/۱ \times ۱۰^{۸}$ CFU/ml) در طول موج ۶۵۰ نانومتر جذب نوری معادل ۸/۰ تا ۱ برای هر نمونه تنظیم شد. پس از آغشته کردن کامل سواب استریل به سوسپانسیون میکروبی و کشت متراکم بر روی محیط مولر-هینتون آگار دیسک گذاری در شرایط استریل انجام پذیرفت. پلیت‌ها در۳۵^{0}C به مدت ۱۸-۲۴ ساعت گرماگذاری شدند. اندازه هاله های عدم رشد مورد ارزیابی قرار گرفت (۲۹). از سویه ۲۷۸۵۳ *Pseudomonas aeruginosa* ATTC بعنوان کنترل استفاده گردید (۲۹).

بررسی مولکولی:

سویه‌های باکتریایی جدا شده و کنترل در محیط LB بمدت یک شب در°C ۳۵ گرما گذاری گردید و سپس پلاسمید باکتری‌ها در کشت تازه با استفاده از کیت تجاری (شرکت Fermentas) استخراج شدند. برای حذف RNA به آن محلول RNaseI به همراه محلول رسوب دهنده پروتئین اضافه شد. بعد از دو بار سانترفیوژ کردن، رسوب DNA خشک شده در ۱۰۰میکرو لیتر آب دو بار تقطیر استریل حل‌گردید. برای اطمینان از خلوص DNA جذب نوری در طول موج های ۲۶۰و ۲۸۰ نانومتر قرائت

www.SID.ir

Archive of SID

گردید. از بافر آنزیم Taq DNA polymerase با تراکم ۱۰ بار تغلیظ شده به میزان ۵/۲ میکرو لیتر، آنزیم Taq به میزان ۲/۰میکرو لیتر، د اکسی نوکلئوتید تری فسفات (dNTP) (شرکت Metabion) به میزان ۵/۲ میکرولیتر و بافر PCR مخلوط با $MgCl_2$ به میزان۵/۲ میکرو لیتر استفاده‌گردید. مشخصات پرایمرهای اختصاصی مورد استفاده در جدول(۱) آمده‌است (شرکت آرمین طب نوین). حجم نهایی با آب فاقد DNase به ۵۰ میکرو لیتر رسانده شد. مخلوط واکنش PCR در یک میکروتیوب ۵۰ µl آماده شد: Mastermix ۴۱µl مقادیر مورد استفاده برای هر پرایمر ۳میکرو لیتر بوده است.

جهت برنامه ریزی شرایط PCR، دناتوراسیون اولیه در ۹۵درجه سانتی گراد به مدت دو دقیقه در نظر گرفته شد و سپس تکثیر در ۴۰سیکل به تر تیب با دناتوراسیون در ۹۵درجه سانتی گراد به مدت ۱دقیقه، اتصال پرایمر ها در۵۵ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه و در نهایت پلیمراسیون در دمای ۷۲به مدت ۳دقیقه انجام شد.

جدول۱. مشخصات پرایمر های مورد استفاده در PCR

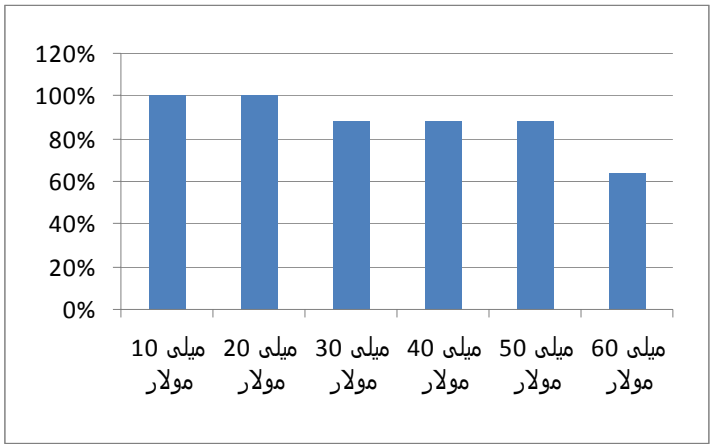
نام	توالی الیگونوکلئوتید('3–'5)
RR22	GGAGATCCCGGATGCATAGCAA
FF22	GATGTCATTAGCCTGTCATGCAGCAAAC

محصولات PCR از طریق الکتروفورز برروی ژل آگارز ۱ ٪ مورد بررسی قرارگرفتند و وزن ملکولی باندهای بدست آمده از طریق مارکر لدر ۲۵۰ bp (شرکت Metabion) محاسبه گردید. رنگ آمیزی در محلول اتیدیوم بروماید با غلظت ۰/۸ میکروگرم در میلی لیتر به مدت ۱۰دقیقه انجام پذیرفت. ژل مورد نظر بعد از رنگ‌زدایی بر روی دستگاه UV منتقل شد و عکس برداری گردید.

نتایج و بحث

از تعداد کل ۱۰۶سویه‌ی باکتریایی جدا شده از بیماران سوختگی ۷۰سویه (۶۶٪) متعلق به *Ps. Aeruginosa*، ۳۰سویه متعلق به *S.aureus* (۲۸٪) و ۶سویه متعلق به *E.coli* (۶٪) بودند. حدود ۸۵ ٪ سویه ها دارای MIC ۳۵– ۰۱/۰ میلی گرم در میلی لیتر نسبت به نیترات نقره بودند.

از بین سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای مورد مطالعه۱۰۰ ٪ سویه‌ها به دیسک‌های ۱۰و ۲۰میلی‌مولار نیترات نقره حساس بودند. ۵/۸۸ ٪ سویه‌ها به دیسک‌های ۳۰و ۴۰و ۵۰ میلی‌مولار حساس بودند. همچنین ٪۶۴ سویه‌ها به دیسک ۶۰میلی‌مولار حساس بودند. ۳۶ ٪ سویه‌ها به نیترات نقره مقاوم بودند (شکل ۱).

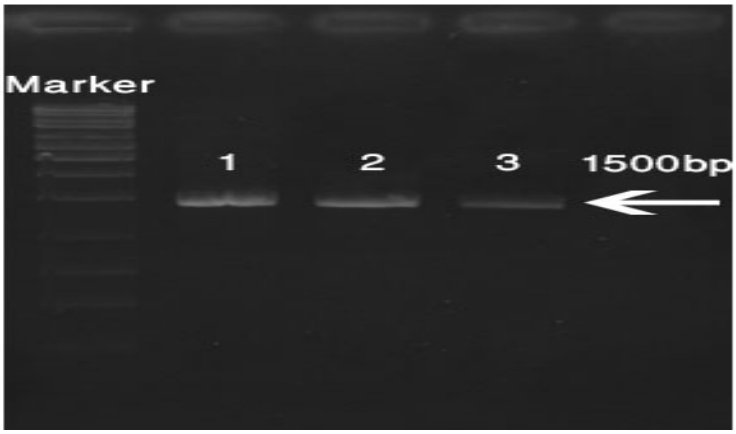


شکل ۱. حساسیت سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا به دیسک‌های نیترات نقره

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج حاصل از بررسی مولکولی سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* نسبت به نقره نشان‌داد ۳٪ دارای ژن *silS* بر روی پلاسمید خود بودند (شکل ۲).



شکل۲. نتیجه‌ی الکتروفورز محصولات PCR *Pseudomonas aeruginosa* برروی ژل آگارز ۱٪ (ردیف۱،۲،۳: ژن*silP* با ۱۵۰۰bp در *Ps.aeruginosa* می باشد مارکر در سمت چپ تصویر مشخص شده است)

نقره یک عامل موثر ضد میکروبی است که به صورت معمول در پمادهای موضعی برای درمان زخم‌های عفونی به ویژه در سوختگی‌های پوستی به کارمی رود (۲). بطور کلی عفونت‌های شدیدی که به وسیله سودوموناس آئروژینوزا ایجاد می‌شود یک مشکل عمومی در بیماران سوختگی است و افزایش میزان مرگ و میر به سبب سوختگی به آن نسبت داده می‌شود. طبق گزارشات منتشر شده در رابطه با عفونت‌های بیمارستانی در ایران عفونت‌های ناشی از *Ps. aeruginosa* بویژه در سوختگی‌ها و عفونت های ادراری مقام نخستین را بخود اختصاص داده اند. مشکل جدی در این مورد مربوط به مقاومت بالای این سویه ها نسبت به درمان ضد میکروبی است(۳۰). تحقیقات نشان داده است که باکتری های بالقوه بیماریزای یافت شده در زخم های سوختگی اغلب از دهان و کولون منشاء می‌گیرند (۷). Annear و همکارانش ارتباط مابین تخمیر سریع لاکتوز و تشکیل کلنی های موکوئیدی در سویه‌های *E.cloacae* مقاوم به نقره جدا شده از زخم های سوختگی را نشان دادند (۳۱).

دخالت پلاسمیدی در بروز مقاومت نسبت به فلزات سنگین در *E. coli*، *S.aureus* و سودوموناس‌ها ثابت شده است(۱۶). در یک بررسی، Vishnu Prasad نشان داد که مقاومت نسبت به فلزات سنگین و آنتی بیوتیک ها در *Ps. aeruginosa* مشترک نیست و ارتباطی مابین مقاومت و حساسیت به آنتی بیوتیک ها و یون‌های فلزی به غیر از یون‌های نقره در سویه‌های مولتی رزیستانت وجود ندارد (۲۹). سویه‌های*Salmonella typhimurium* مقاوم به نیترات نقره، کلرامفنیکل و آمپی سیلین که توسط Mc Hugh از سوختگی ها جدا شد مشخص گردید که الگوی مقاومت چند گانه (در*in vitro*) به سویه‌های حساس *E. coli* و *S. typhimurium* انتقال پیدا می‌کنند. به نظر این محقق خطر پیدایش چنین سویه‌هایی که نسبت به آنتی بیوتیک‌های انتخابی مقاومت کسب می‌کنند در نتیجه‌ی کاربرد گسترده‌ی محلول های نیترات نقره بر سطح سوختگی ها است(۱۶). Ugur و Ceylan افزایش شیوع پلاسمیدی استافیلوککی مقاوم به آنتی بیوتیک ها و فلزات سنگین مانند نیترات نقره و کلرید جیوه را در نمونه های بالینی در سال ۲۰۰۳ گزارش نمودند (۳۲). پژوهش های بالینی زیادی در مورد این که چگونه کاربرد نقره منجر به ایجاد مقاومت متقاطع با آنتی بیوتیک ها می‌شود انجام گرفته است. به عقیده‌ی برخی از دانشمندان احتمالا مصرف بی رویه و بدون کنترل Ag^+ منجر به توسعه ی باکتری های مقاوم بیشتری می‌شود. هر چند امکان انتقال ژن های مقاومت به نقره کم است. بررسی فرکانس رخداد مقاومت به نقره نشان داده که این میزان متغیر بوده و بیشتر در بین سویه‌های *E.coli* *Entrobacter cloacae*, *Klebsiella pneumonia* دیده شده است (۷). طبق گزارشی از بیمارستانی در ماساچوست امریکا ژن های مقاومت به چند آنتی بیوتیک و Ag^+ از سویه های سالمونلا در سپتیسمی ناشی از سوختگی بدست آمده منجر به مرگ سه بیمار

www.SID.ir

Archive of SID

شده است (۳۳). پلاسمیدی تحت عنوان pMG107 مسئول افزایش مقاومت به نقره را بعد از کلونینگ تعیین توالی نمودند و ۹ ژن مسئول در این رابطه شناخته شدند (*silP,ORF105, silAB, ORF98, silC, silSR, silE*) (۷). ژن *silE* کد کننده پروتئین متصل شونده به +Ag در فضای پری پلاسمیک است. در یک بررسی نشان داده شد که از بین ۷۰سویه جدا شده تصادفی انتریک بیمارستانی ۱۰سویه حاوی ژن های *sil* بودند(۲۷). نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که بیش از ٪۷۲ سویه های جدا شده از موارد سوختگی متعلق به *Ps. aeruginosa* بوده است. Bridge در بررسی سودوموناس های جدا شده از سوختگی سویه هایی با MIC ۸ mg/l یا کمتر را حساس به جنتامیسین و سویه هایی با MIC ۳۲- mg/l ۱۶مقاوم را در نظر گرفت. وی دخالت پلاسمیدی را در بروز مقاومت نسبت به نقره، جنتامیسین و کربنی سیلین را نشان داد(۱). در این بررسی سویه ها دارای MIC نسبت به نقره بترتیب۰۱-۰/۸۰ میلی گرم در میلی لیتر بدست آمد. استخراج پلاسمیدی سویه ها و انجام PCR نشان داد که درصد کمی از سویه ها (٪۳) ژن*silS* با وزن مولکولی ۱۵۰۰جفت باز حضور دارند و این سویه‌ها دارای MIC ۸۰mg/ml نسبت به نیترات نقره بودند. این نتایج با یافته‌های Percival و همکارانش در سال ۲۰۰۹ مطابقت دارد. Percival و همکارانش در یک بررسی نشان دادند که ژن های *sil* در تمام سویه های انتروباکتر جدا شده از زخم پای دیابتی حضور دارند (۳۴). بخاطر اشتراک مکان‌های هدف مابین بیوسایدها و آنتی‌بیوتیک‌ها، موتانت‌هایی که در محیط انتخاب می‌شوند و باقی می‌مانند خطری جدی برای سلامتی بیماران مبتلا بشمار می‌آیند. مجوز کاربرد بیوسایدها و نگهدارنده‌ها در محصولات عمومی سلامتی مانند مواد آرایشی، غذایی و صنعتی توسط تعدادی از دانشمندان می‌تواند عامل مشارکت کننده‌ای در توسعه و انتخاب سویه های مقاوم به آنتی‌بیوتیک باشد (۳۵). بطور کلی جهت پیشگیری، کنترل و درمان موثر عفونت های زخمی جدا سازی و شناسایی سویه‌های حاوی پلاسمیدهای مقاومت و تعیین مقاومت متقاطع سویه‌های جدا شده اقدامی موثر و کارآمد می باشد.

منابع

1. Bridges K, KidsonA, Lowbury E J L, Wilkins M D, (1979). Gentamicin- and silver-resistant pseudomonas in a burns unit, British Medical Journal, **1**: 446-449.
2. Hugo WB and Russell AD. (1982) Types of antimicrobial agents. In Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ (Eds.). Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilisation(Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK), 8–106.
3. Demling RH and DeSanti L. (2001) Effects of **silver** on wound management. *Wounds* **13**:Suppl A, 4.
4. Price WR and Wood M. (1966) Silver nitrate burn dressing. Treatment of seventy burned persons. *Am J Surg*, **112**:674–80.
5. Moyer CA, Brentano L, Gravens DL, et al. (1965) Treatment of large human burns with 0.5 per cent **silver** nitrate solution. *Arch Surg*, **90**:812–67.
6. Fox CL Jr. (1968). **Silver** sulfadiazine—a new topical therapy for *Pseudomonas* in burns. Therapy of *Pseudomonas* infection in burns. *Arch Surg*, **96**:184–8.
7. Percival L. S., Bowler P. G. and Russell D., (2005). Bacterial resistance to silver in wound care, Journal of hospital infection, **60**: 1-7.
8. Sampath L. A., Chowdhury N., Caraos L. and Modak S. M., (1995). Infection resistance of surface modified catheters with either short-lived or prolonged activity, *J Hosp Infect*, **30**: 201–210.
9. M. K. Dasgupta, (1994). Silver peritoneal catheters reduce bacterial colonization, *Adv Perit Dial* **10**:195–198.
10. Brook I., (1996). Microbiology and management of sinusitis, *J Otolaryngol*, **25**: 249–256.
11. Kool J. L., Bergmire-Swear D. and Butler J. C. (1999). Hospital characteristics associated with colonization of water systems by *Legionella* and risk of nosocomial legionnaires' disease: a cohort study of 15 hospitals, *Infect Control Hosp Epidemiol* **20**: 798–805.

www.SID.ir

Archive of SID

12. Adams A. P., Santschi E.M. and Mellencamp M.A. (1999). Antibacterial properties of a silver chloride-coated nylon wound dressing, *Vet Surg*, **28**: 219–225.
13. Silver S., (2003). Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds, *FEMS Microbiol Rev* **27**: 341–353.
14. Gupta and Silver S., (1998). Silver as a biocide: will resistance become a problem? *Nat Biotechnol*, **16**: 888.
15. Silver S., Lo J.-F.and Gupta A., (1999). Silver cations as an antimicrobial agent: clinical uses and bacterial resistance, *APUA Newsl*, **17**: 1–3.
16. Klasen H. J., (2000). A historical review of the use of silver in the treatment of burns. II. Renewed interest for silver, *Burns*, **26**:131–138.
17. Ghosh A, Singh A, Ramteke P, Singh V. (2000). Characterization of large plasmids encoding resistance to toxic heavy metals in *Salmonella.abortus equi*. Biochem. Biophys. Res. Commun. **272**:6-11.
18. R. Choudhury and Srivastava S., (2001).Zinc resistance mechanisms in bacteria, CURRENT SCIENCE, **81**: (7):768-775.
19. Alonso, A. et al. (2001) Environmental selection of antibiotic resistance genes. Environ. Microbiol. **3**: 1–9.
20. Stepanauskas, R. et al. (2005). Elevated microbial tolerance to metals and antibiotics in metal-contaminated industrial environments.Environ. Sci. Technol. **39**: 3671–3678.
21. Tennent J.M., Lyon B.R., Gillespie M. T., May J.W. and Skurray R. A., (1985). Cloning and expression of *Staphylococcus aureus* plasmid-mediated quaternary ammonium resistance in *Escherichia coli*, *Antimicrob Agents Chemother*, **27**:79–83.
22. Lyon B.R. and Skurray R., (1987). Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus*: genetic basis, *Microbiol Rev*, **51**: 88–134.
23. Leelaporn A., Paulsen I.T., Tennent J.M., Littlejohn T. G. and Skurray R. A. (1994). Multidrug resistance to antiseptics and disinfectants in coagulase-negative staphylococci, *J Med Microbiol*, **40**: 214–220.
24. McDonnell G. and Russell A.D. (1999). Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance, *Clin Microbiol Rev*, **12**: 147–179.
25. Simon Silver, (2003). Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver Compounds, FEMS microbiology reviews, **27**: 341-353.
26. Douglas MW, Mulholland K, Denyer V and Gottlieb T. (2001). Multi-drug resistant Pseudomonas aeruginosa outbreak in a burn unit- and infection control study. Burns; **2**:131-5.
27. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2000). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 5th ed. Approved standard. NCCLS publication no. M7-A5. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa
۲۸. فصلنامه بیماری‌های عفونی و گرمسیری وابسته به انجمن متخصصین بیماری‌های عفونی و گرمسیری، سال یازدهم ، شماره ۳۵، صفحات ۱۳ تا ۱۸، زمستان ۱۳۸۵،الگوی حساسیت و مقاومت متقاطع آنتی بیوتیک‌ها علیه سودوموناس ائروژینوزا جداشده از بیماران سوختگی در جنوب ایران ،عزیز ژاپونی، شهره فرشاد، عبدالوهاب البرزی، مهدی کلانی، جلیل نصیری
29. Annear D I, Mee B J and Bailey M, (1976). Instability and linkage of silver resistance, lactose fermentation, and colony structure in *Enterobacter cloacae* from burn wounds, *J. Clin. Pathol.*; **29**: 441-443.
30. Ugur A, Ceylan O, (2003). Occurrence of resistance to antibiotics, metals, and plasmids in clinical strains of Staphylococcus spp, ARCHIVES OF MEDICAL RESEARCH, **34**(2): 130-136.
31. Gupta, K. Matsui, J.-F. Lo and Silver S., (1999). Molecular basis for resistance to silver cations in Salmonella, *Nat Med*, **5**: 183–188.
32. Steven L. Percival, Emma Woods, Moses Nutekpor, Phil Bowler, Alan Radford, and Christine Cochrane, Prevalence of Silver Resistance in Bacteria Isolated from Diabetic Foot

www.SID.ir

Archive of SID

Ulcers and Efficacy of Silver-Containing Wound Dressings, **54** :(3).

33. Peter Gilbert and Andrew J. McBain (2003). Potential Impact of Increased Use of Biocides in Consumer Products on Prevalence of Antibiotic Resistance. Clinical Microbiology Reviews, **16**(2):189-208.
34. Russell A.D. and Hugo W.B. (1994). Antimicrobial activity and action of silver, *Prog Med Chem*, **31**: 351–370.
35. Nies P. Kaur, Saxena M. and Vadehra D.V., (1985). Plasmid mediated resistance to silver ions in *Escherichia coli*, *Ind J Med Res* **82**:122–126
36. 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.
37. 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.
38. 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.
39. 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.
40. Rosenberg EY, Ma D, Nikaido H. (2000). AcrD of Escherichia coli is an aminoglycoside efflux pump.J Bacteriol, **182**:1754-1756.
41. Jo JTH, Brinkman FSL, Hancock REW. (2003). Aminoglycoside Efflux in Pseudomonas aeruginosa : Involvement of Novel Outer Membrane Proteins. Antimicrob Agents Chemother, **47**:1101-1111.
42. 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.
43. 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.
44. 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.
45. 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.
46. Sami H,Olia P, Yakhchali B and Lari A. (2009). Investigation of drug susceptibility and molecular epidemiology of Pseudomonas aeruginosa isolated patients. Biology magazine.
47. 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.
48. 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.
49. 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-

www.SID.ir

Archive of SID

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.

50. Yasuhiro Matsuo, Shima Eda, Nobuyuki Gotoh, Eisaku Yoshihara, OprM Overproducers among Clinical Isolates of Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agent Chemother. **52**:1173-1175.

www.SID.ir