

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

Mohammad Shokrzadeh¹

Parvaneh Rahbari Jeyd²

Abbas Mohammadpour³

Fatemeh Zaboli⁴

Fatemeh Zahra Mohammadnejad²

Maryam Ghaffari Charati²

Yahya Saleh Tabari⁵

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)

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 *exoT* 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

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

محمد شکرزاده^۱
پروانه رهبری جید^۲
عباس محمدپور^۳
فاطمه زابلی^۴
فاطمه زهرا محمدنژاد^۲
مریم غفاری چراتی^۲
یحیی صالح طبری^۵

چکیده

سابقه و هدف: سودوموناس آنروژینوزا، یکی از عوامل مهم عفونت زخم سوختگی در بیمارستان ها می باشد که با تولید برخی فاکتورهای بیماری زا (سیتوتوکسین های $ExoS$ و $ExoT$) باعث ایجاد عفونت می شود. هدف مطالعه حاضر بررسی فراوانی ژن های $exoS$ و $exoT$ در سودوموناس آنروژینوزای جدا شده از عفونت زخم سوختگی و ارتباط مقاومت آنتی بیوتیکی با حضور این ژن ها می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه توصیفی-مقطعی، در طی سه ماه اول سال ۱۳۹۵، از زخم ۸۰ بیمار سوختگی بیمارستان زارع ساری نمونه برداری شد. و با تست های بیوشیمیایی، ۱۸ ایزوله سودوموناس آنروژینوزا شناسایی گردید. وجود ژن های $exoS$ و $exoT$ ، با روش PCR و هم چنین مقاومت به ۸ آنتی بیوتیک با روش دیسک آنگار دیفیوژن بررسی شد. داده ها با نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ و روش آماری کای اسکور آنالیز شدند. و سطح معنی دار، $p > 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها: از ۱۸ ایزوله سودوموناس آنروژینوزا، ۱۵ نمونه (۸۳/۵ درصد) ژن $exoT$ ، ۱۴ نمونه (۷۷/۸ درصد) ژن $exoS$ و ۱۳ نمونه (۷۲/۵ درصد) هم زمان هر دو ژن را دارا بودند. از لحاظ آماری بین حضور ژن های $exoS$ و $exoT$ و مقاومت به آمپی سیلین، سفازولین و تری متوپریم به ترتیب $(p=0/0184)$ و $(p=0/0047)$ ، و هم چنین مقاومت به ایمی پنم و حضور $exoT$ $(p=0/0489)$ اختلاف معناداری مشاهده گردید.

استنتاج: حضور بالای ژن های $exoS$ و $exoT$ در اکثر ایزوله های سودوموناس آنروژینوزا و مشاهده اختلاف معنادار بین وجود این ژن ها و مقاومت آنتی بیوتیکی، اهمیت این ژن ها را در عفونت زخم سوختگی نشان می دهد.

واژه های کلیدی: سودوموناس آنروژینوزا، عفونت سوختگی، $exoS$ ، $exoT$ ، مقاومت آنتی بیوتیکی

مقدمه

عوامل پاتوژن دخیل در عفونت های بیمارستانی در مقابل آنتی بیوتیک ها و مواد ضد میکروبی، مقاومت قابل توجه ای پیدا کرده اند به طوری که درصد سویه های سودوموناس آنروژینوزای مقاوم به ایمی پنم و

زخم های سوختگی، یکی از عمده ترین شرایط مستعد به عفونت است به طوری که شیوع عفونت های زخم سوختگی تا ۲۱ درصد متغیر است. به دلیل مصرف بی رویه و غیر ضروری آنتی بیوتیک ها، اغلب

مؤلف مسئول: پروانه رهبری جید - ساری، کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم (ص)، دانشکده پیراپزشکی
۱. دانشیار، گروه سم شناسی و فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. کارشناس 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

کارباپنم در این عفونت‌ها شدیداً در حال افزایش است (۱،۴).

در مطالعات اپیدمیولوژی بیان شده است که سودوموناس آئروژینوزا ۱۰ درصد از عفونت‌های بیمارستانی و ۱۱ درصد از عفونت‌های خون را به خود اختصاص می‌دهد اما فقط ۴ درصد از اپیدمی‌های بیمارستانی را موجب شده است (۴).

بیماری‌زایی سودوموناس آئروژینوزا، در ارتباط با تولید تعداد زیادی از فاکتورهای بیماری‌زایی ترش‌حی و مرتبط با ساختار دیواره سلولی است (۳). اغلب توکسین‌های ترش‌حی در باکتری‌ها از طریق سیستم ترش‌حی تیپ ۱ تا ۵ منتقل می‌گردد (۵). سیستم ترش‌حی نوع ۳ یکی از مهم‌ترین سیستم‌های ترش‌حی در باکتری‌ها می‌باشد که فاکتورهای ویروالانس را به درون سلول میزبان وارد می‌کند. از لحاظ ساختاری، سیستم ترش‌حی تیپ ۳ شبیه سرنگ است که در تماس بین باکتری و سلول‌های یوکاریوتی میزبان، توکسین‌های باکتریایی را به درون این سلول‌ها وارد می‌کند. این سیستم ترش‌حی در تماس با سلول‌های یوکاریوتی فعال می‌شود (۶).

سه سم موثر در بیماری‌زایی در سودوموناس آئروژینوزا که مورد شناسایی قرار گرفته است شامل توکسین‌های ExoT، ExoS و ExoU می‌باشد که توسط سیستم ترش‌حی نوع ۳ به درون سلول میزبان ترشح می‌گردد (۷).

توکسین‌های ExoT و ExoS توکسین‌های دو عملکردی هستند که هم فعالیت ADP ریبوزیل ترانسفراز (ADPRT) و هم فعالیت فعال‌کنندگی GTPase (GAP) دارند (۸). فعالیت‌های ADPRT و GAP باعث تخریب اکتین اسکلت سلولی و مرگ سلولی می‌گردد (۹، ۸).

این پروتئین‌ها می‌توانند بر روی مسیرهای انتقال الکترون اثر بگذارند و ایمنی ذاتی را خنثی نمایند (۵). ExoS آنزیمی است که ۴۵۳ اسید آمینه دارد، دومین

(Domain) ترش‌حی این آنزیم، در ۱۵ اسید آمینه ابتدایی ناحیه آمینی قرار دارد. دومین متصل‌شونده به چارپون از اسید آمینه، از شماره ۱۵ تا ۵۱ تشکیل شده است. اسید آمینه شماره ۵۱ تا ۷۲ در اتصال توکسین به غشا نقش دارد و سیگنال ترش‌حی، این توکسین افکتوری را به درون ساختار سیستم ترش‌حی تیپ ۳ هدایت می‌کند (۵). فعالیت GTPase این دومین، به اسید آمینه آرژنین در موقعیت ۱۴۶ وابسته است (۱۱، ۱۰).

آنزیم ExoT با ۴۵۷ اسید آمینه، دارای ساختاری شبیه به آنزیم ExoS است که در ۵۰ اسید آمینه ابتدایی ناحیه آمینی آن، ۳ دومین ترش‌حی متصل‌شونده به چارپون و متصل‌شونده به غشا حضور دارند. فعالیت GTPase این اگزوتوکسین مانند ExoS، به اسید آمینه آرژنین وابسته است و اسید آمینه گلوتامات در موقعیت ۳۸۳ و ۳۸۵ برای فعالیت ADP ریبوزیلاسیون، ضروری است (۱۲).

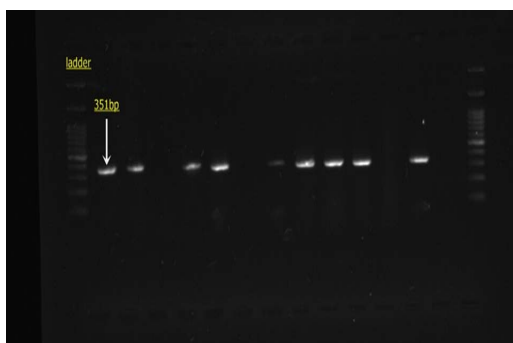
با توجه به این که مطالعات اندکی در ارتباط با فراوانی ژن‌های exoT و exoS در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا و ارتباط آن‌ها با الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری در ایران انجام شده است. نیاز به انجام مطالعات بیش‌تر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد. لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی فراوانی ژن‌های exoT و exoS سودوموناس آئروژینوزای به دست آمده از بیماران سوختگی بیمارستان زارع ساری و هم‌چنین ارتباط این ژن‌ها با الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع مقطعی-توصیفی می‌باشد و جامعه آماری این پژوهش ۸۰ نفر از بیماران سوختگی بستری در بیمارستان زارع ساری است. نمونه‌گیری به صورت تصادفی و بدون در نظر گرفتن سن و جنس بیمار، از ترشحات سبز رنگ زخم‌های بیماران در بخش‌های مختلف بیمارستان طی سه ماه اول سال ۱۳۹۵ انجام شد. ۱۸ ایزوله از ۸۰ نمونه زخم سوختگی با

باکتری به روش جوشاندن و SDS جداسازی شد. برای انجام PCR از ویال های آماده PCR premix تهیه شده از شرکت Bioneer کره که درون آن ها dNTP، TaqDNA Polymerase و dy Tracking به صورت لیوفلیزه قرار داشت استفاده گردید. برای آماده سازی ترکیب PCR mix به حجم ۲۵ میکرولیتر، برای هر واکنش ۲۱/۵ میکرو لیتر آب مقطر، ۰/۷ میکرو لیتر از هر یک از پرایمرها و ۲ میکرو لیتر از DNA مکمل استفاده شد. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر بدین شرح است: دناتوراسیون اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ °C و ۹۵ و به دنبال آن ۳۳ سیکل شامل دناتوراسیون به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ °C، مرحله اتصال پرایمر در دمای ۷۰ °C برای ژن *exoT*، دمای ۶۲ °C برای ژن *exoS* به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله گسترش در دمای ۷۲ °C به مدت ۳۰ ثانیه و سپس یک سیکل گسترش نهایی در دمای ۷۲ °C به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد.

در نهایت محصولات هر ژن توسط دستگاه الکتروفورز و ژل آگارز ۱ درصد مشاهده گردید. اندازه باندها ۳۵۱ جفت باز برای ژن *exoT* و اندازه باندها ۱۶۹ جفت باز برای ژن *exoS* نشان دهنده حضور هر یک از ژن های مورد بررسی بود (شکل ۱ و ۲).



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

استفاده از مورفولوژی کلنی، تولید رنگ دانه، رنگ آمیزی گرم، تست های بیوشیمیایی مانند تست اکسیداز، کاتالاز، اکسیداسیون-تخمیر (OF)، توانایی رشد در ۴۲ درجه سانتی گراد، سیترات، SIM و TSI تعیین هویت شدند. ایزوله ها نسبت به آنتی بیوتیک های ایمی پنم، آمیکاسین، آمپی سیلین، سفتریاکسون، سفالکسون، سفازولین، سیپروفلوکساسین، کوتریموکسازول از شرکت پادتن طب با استفاده از روش دیسک آگار دیفیوژن و بر اساس دستورالعمل CISI بررسی شد. با استفاده از محیط کشت Brain Heart Infusion Agar (BHIA) که در لوله با شیب کم تهیه شد نمونه های جدا شده تلقیح گردید. و بر سطح محیط، گلیسرول استریل شده ریخته شد. و در دمای محیط نگهداری شد.

به منظور شناسایی ژن های *exoS* و *exoT*، بخشی از این ژن ها برای طراحی پرایمرها مورد استفاده قرار گرفت. توالی پرایمر ژن *exoT* از مطالعه جابل عاملی و همکاران در سال ۲۰۱۲ گرفته شد (۱۳). توالی ژن *exoS* 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 تعیین کننده ژن های *exoS* و *exoT* را نشان می دهد.

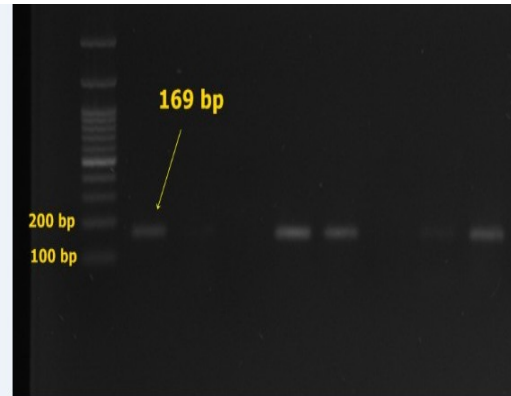
جدول شماره ۱: توالی پرایمر ژن *exoS* و *exoT*

نام ژن	توالی پرایمر	اندازه محصول
<i>exoT</i>	F: 5'-CAGCTCGCTCGCCTTGCCAAGT-3'	351 bp
	R: 5'-AGAACCCTCTTTCGTGGCTGAGTT-3'	
<i>exoS</i>	F: 5'-ATGCGGGACAAAAGCTGATC-3'	169 bp
	R: 5'-CAGGGAGGTGGAGAGATAGC-3'	

برای جدا سازی DNA الگو و انجام روش PCR، از کشت تازه ۲۴ ساعته باکتری استفاده گردید و DNA

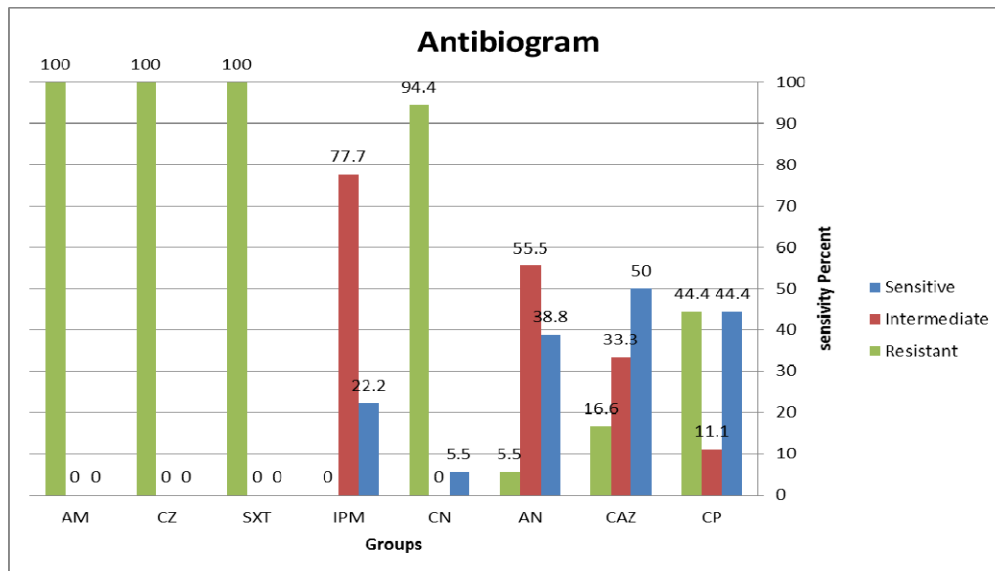
یافته ها

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 ایمی‌پم، 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 آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی

مقاومت به آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم ($P = ۰/۰۴۸۹$)، سفازولین، تری‌متوپریم، آمپی‌سیلین ($P = ۰/۰۰۴۷$)، اختلاف معنی‌داری وجود داشت در حالی که 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

با توجه به نتایج الکتروفورز به دست آمده از محصولات PCR فراوانی ژن exoS، 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 ژن exoS و مقاومت به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین، سفازولین و تری‌متوپریم ($P = ۰/۰۱۸۴$) و ژن exoS

شناسایی این باکتری از نمونه‌های بالینی بخصوص زخم‌های سوختگی و گزارش آن‌ها به مراجع بهداشتی بسیار مهم می‌باشد. از طرفی به علت وجود فاکتورهای ویروالانس مختلفی نظیر آگزوتوکسین‌های 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 به دلیل 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 اسیتوباکتر نسبت به سودوموناس آئروژینوزا بیش تر بوده است به عبارت دیگر، از ۷۷/۵ درصد عفونت‌های دیگر به غیر از سودوموناس آئروژینوزا درصد زیادی مربوط به اسیتوباکتر 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 باکتری ۳۱/۷ درصد آلوده به سودوموناس آئروژینوزا بودند. که به عنوان شایع‌ترین باکتری آلوده‌کننده اعلام گردید بعد از آن از استافیلوکوک اورئوس، کلبسیلا و اسیتوباکتر 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 آلوده کردن 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 *exoS* و *exoT*، حدود ۸۳/۵ درصد ژن *exoT* و ۷۷/۸ درصد حاوی ژن *exoS* گزارش گردید. در حالی که 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* بوده‌اند و کم‌ترین درصد فراوانی را به ژن *exoS* (۳۵/۸ درصد) نسبت دادند (۱۶). هم‌چنین آقایی و همکاران در سال ۲۰۱۶، در مطالعه مشابه‌ای، فراوانی ژن *exoT* و *exoS* را به ترتیب ۳۷ و ۲۹/۹ درصد اعلام کردند در حالی که در مطالعه حاضر درصد فراوانی این دو ژن بیش‌تر است (۱۷). در مطالعه جابل‌عاملی و همکاران در سال ۲۰۱۲، فراوانی ژن *exoT* ۱۰۰ درصد و فراوانی ژن *exoS* ۲۹ درصد گزارش شد (۱۳). در حالی که در مطالعه حاضر درصد فراوانی ژن *exoS* بیش‌تر 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

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 آمپی‌سیلین به میزان ۱۰۰ درصد، و سفالکسین به میزان ۹۴/۴ درصد و کمترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به سفنازیدیم 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 پیراسیلین، 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، کاربنی‌سیلین، سفپیم، سفوتاکسیم، جنتامایسین، پیراسیلین تازوباکتام، تیکارسیلین و تویرامایسین 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، تویرامایسین به ترتیب با ۶۶ و ۳۷ و ۲۱/۵ و ۲۱/۵ و ۱۹/۶ درصد و کمترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به سفنازیدیم، 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 سفنازیدیم، 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 ایمپنم، آمپی‌سیلین، تری‌متوپریم و سفازولین یافت شد. از طرفی ارتباط معنی‌داری بین ژن *exoS* و مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، سفازولین و تری‌متوپریم 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 به طوری که 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 سیتو توکسین‌های 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.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد زیست شناسی گرایش میکروبیولوژی خانم پروانه رهبری جید می باشد. بدین وسیله از زحمات تمامی افراد

شرکت کننده 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, et al. 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, et al. Orf1/SpcS chaperones ExoS for type three secretion by *Pseudomonas aeruginosa*. Biomed Environ Sci. 2008; 21(2): 103-109.
11. Azargoon R, Doustdar F, Khanbabaee 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

- 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, 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): 1192-1197.
 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.