

## ***Multidrug-Resistant Virulence Genes in Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Iranian Clinical Samples: A Review-Meta-Analysis***

Negin Mesgar Saravi<sup>1</sup>,  
Tahoora Mousavi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> MSc Student in Genetics, Molecular and Cell Biology Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor, Molecular and Cell Biology Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received September 7, 2022 ; Accepted November 15, 2022)

### ***Abstract***

**Background and purpose:** *Pseudomonas* infections include urinary tract infections (UTIs), respiratory infections, soft tissue infections, dermatitis, bacteremia, gastrointestinal, bone and joint infections, and systemic types of infections, especially in hospitalized patients with severe burns, or patients with immunosuppression such as cancer or AIDS. Considering the importance of the virulence genes of *Pseudomonas aeruginosa* and the drug resistance that can be caused by this bacterium, the purpose of this study was to investigate the prevalence of multidrug-resistant virulence genes in isolates of *P. aeruginosa* in Iranian clinical samples.

**Materials and methods:** Using Scopus, ISI, Web of science, Pubmed, and Web of science databases, the following were used as keywords: *phzM*, *phzH*, *phzII*, *phzI*, *phzS*, *plcH*, *plcN*, *algD*, *algU*, *pilB*, and *pilA*. After limiting the search strategy and removing duplicates, the remaining articles were screened by examining the titles and abstracts. Finally, the heterogeneity index between studies was determined using Cochran's test (Q) and I<sup>2</sup>. Based on this information, the fixed effect model was used to estimate the prevalence of *Pseudomonas* infection.

**Results:** In 26 studies included in the meta-analysis, the frequencies of *phzM*, *phzH*, *phzII*, *phzI*, *phzS*, *plcH*, *plcN*, *algD*, *algU*, *pilB*, and *pilA* genes based on random effect model were 39.6%, 38.5%, 57%, 53.1%, 41%, 77.8%, 58.3%, 61.6%, 74%, 25.5%, and 25.5%, respectively.

**Conclusion:** This study showed presence of genes encoding virulence factors (*phzM*, *phzH*, *phzII*, *phzI*, *phzS*, *plcH*, *plcN*, *algD*, *algU*, *pilB*, and *pilA*) in clinical strains of *P. aeruginosa*. In general, different types of virulence genes of this bacterium indicate that these genes are linked to severity of pathogenicity.

**Keywords:** virulence genes, drug resistance, *Pseudomonas aeruginosa*, clinical samples, meta-analysis

**J Mazandaran Univ Med Sci 2022; 32 (215): 176-188 (Persian).**

**Corresponding Author:** Tahoora Mousavi - Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.  
(E-mail: stm.jmums@gmail.com)

## شیوع ژن های ویروالانس مقاوم به چند دارو در ایزوله های جدا شده از سودوموناس آئروژینوزا در نمونه های بالینی ایرانی: مروری - متا آنالیز

نگین مسگر ساروی<sup>1</sup>

طهورا موسوی<sup>2</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** عفونت سودوموناس شامل عفونت دستگاه ادراری (UTIs)، عفونت تنفسی، عفونت بافت نرم، درماتیت، باکتری، عفونت های گوارشی، استخوانی و مفصلی و انواع سیستمیک عفونت ها به ویژه در بیماران بستری شده در بیمارستان با سوختگی شدید، یا بیماران سرکوب شده سیستم ایمنی مبتلا به سرطان یا ایدز است. با توجه به اهمیت ژن های ویروالانس باکتری سودوموناس آئروژینوزا و هم چنین مقاومت دارویی که می تواند توسط این باکتری صورت گیرد، این مطالعه با هدف بررسی شیوع ژن های ویروالانس مقاوم به چند دارو در ایزوله های جدا شده از سودوموناس آئروژینوزا در نمونه های بالینی ایرانی، انجام پذیرفت.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه مروری، با استفاده از پایگاه های اطلاعاتی Pubmed، Scopus، ISI، Web of sciene، کلید واژه های مرتبط pilA، pilB، algU، algD، plcN، plcH، phzS، phzI، phzII، phzH، phzM گرفت. پس از محدود نمودن استراتژی جستجو و حذف موارد تکراری، مطالعات باقیمانده با بررسی عنوان و چکیده مورد غربالگری قرار گرفتند. در نهایت شاخص هتروژنیته بین مطالعات با استفاده از آزمون کوکران (Q) و I<sup>2</sup> تعیین گردید. بر اساس نتایج هتروژنیته از مدل اثر تصادفی برای برآورد شیوع عفونت استفاده گردید.

**یافته ها:** در 26 مطالعه وارد شده به متاآنالیز، فراوانی ژن های plcN، plcH، phzS، phzI، phzII، phzH، phzM، pilA و pilB براساس مدل اثر تصادفی ترتیب 39/6، 38/5، 57، 53/1، 41، 77/8، 58/3، 61/6، 74، 25/5 و 25/5 درصد بوده است.

**استنتاج:** در مجموع، نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده حضور انواع ژن های کدکننده فاکتورهای ویروالانس phzM، pilA و pilB، algU، algD، plcN، plcH، phzS، phzI، phzII، phzH است. به طور کلی انواع مختلفی از ژن های ویروالانس این باکتری نشان دهنده این است که این ژن ها با شدت بیماری زایی ارتباط دارند.

**واژه های کلیدی:** ژن های ویروالانس، مقاومت دارویی، سودوموناس آئروژینوزا، نمونه های بالینی، متاآنالیز

### مقدمه

باکتری سودوموناس آئروژینوزا (*P.aeruginosa*)، یک باسیل کوچک گرم منفی، هوازی، غیر تخمیری و پاتوژن فرصت طلب انسانی است که طیف وسیعی از عفونت های حاد و مزمن را شامل می شود. این

E-mail: stm.jmums@gmail.com

**مؤلف مسئول:** طهورا موسوی - ساری: جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی

1. دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

2. استادیار، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی مولکولی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: 1400/6/16 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1400/7/17 تاریخ تصویب: 1401/8/24

میکروارگانسیم در همه جا وجود دارد و در محیط‌های بیمارستانی زنده باقی می‌ماند (3-1). عفونت سودوموناس شامل عفونت دستگاه ادراری (UTIs)، عفونت تنفسی، عفونت بافت نرم، درماتیت، باکتری می، عفونت‌های گوارشی، استخوانی و مفصلی و انواع سیستمیک عفونت‌ها به ویژه در بیماران بستری شده در بیمارستان با سوختگی شدید، یا بیماران سرکوب شده سیستم ایمنی مبتلا به سرطان یا ایدز است (4،1). این باکتری مسئول 9 درصد عفونت‌های ادراری در کودکان و 77/8 و 22/2 درصد عفونت‌های شدید دستگاه ادراری در پسران و دختران زیر 12 سال است (5). به‌طور کلی سودوموناس میزان مرگ و میر بالایی دارد که این میزان عفونت بیمارستانی بین 18 تا 61 درصد گزارش شده است (1). هم‌چنین این باکتری عامل حدود 35 درصد از عفونت‌های دستگاه ادراری به‌ویژه در بیماران مبتلا به عفونت‌های دستگاه ادراری مرتبط با کاتتر (CAUTI) است و چهارمین پاتوژن شایع جدا شده در عفونت‌های محل جراحی (8 درصد) و هفتمین علت اصلی عفونت‌های خونی (6-2 درصد) می‌باشد (6). این باکتری به شدت در برابر مواد ضد میکروبی و آنتی‌بیوتیک‌های مختلف مقاومت می‌کند که به دلیل نفوذپذیری کم غشای خارجی، و هم‌چنین تولید آنزیم‌های غیر فعال‌کننده آنتی‌بیوتیک (مانند سفالوسپورینازها)، مقاومت ذاتی به چندین آنتی‌بیوتیک نشان می‌دهد (6). ظهور سودوموناس مقاوم به چند دارو (MDR) به یک مشکل جدی در محیط‌های مراقبت‌های بهداشتی در کشورهای در حال توسعه تبدیل شده است. اگر چه برخی از گونه‌های سودوموناس به جنتامایسین، توبرامایسین، کولیسین، سیپروفلوکساسین، نورفلوکساسین و آمیکاسین پاسخ می‌دهند، اما عموماً نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج مقاوم‌تر هستند و این مقاومت چند دارویی گاهی غیرقابل درمان است (7،6،3،1). علاوه بر این، مطالعات نشان داد که سویه‌های جدا شده سودوموناس آئروژنیوزا از نمونه‌های بیماران ایرانی به میزان 100 درصد در برابر تری متوپریم، آموکسی‌سیلین،

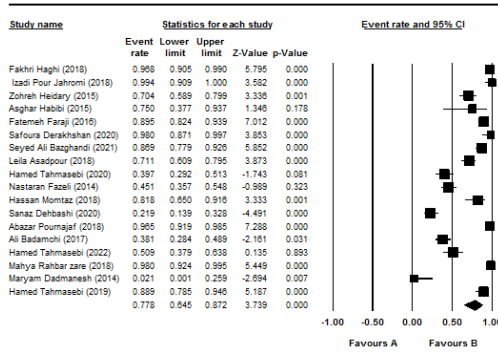
آمپی‌سیلین، تتراسایکلین، تیکارسیلین، کاربنی‌سیلین (90 درصد)، سفتازیدیم (80 درصد)، کلاوونیک اسید (69/2 درصد)، ایمی‌پنم (60 درصد)، سفیم (52 درصد)، جنتامایسین (50 درصد) و سیپروفلوکساسین (40 درصد) مقاوم بودند (5). عوامل بیماری‌زای *P.aeruginosa* را می‌توان به عفونت‌های حاد و مزمن طبقه‌بندی کرد. بیماری‌زایی سودوموناس تا حدودی به دلیل تولید یک سری فاکتورهای ویروالانس‌های خارج سلولی است که پس از کلونیزاسیون می‌تواند باعث آسیب بافت و هم‌چنین تهاجم به جریان خون و انتشار گردد. به‌طور کلی فاکتورهای بیماری‌زای سودوموناس شامل ژنات، فسفولیپاز، پیلی، و پیگمان‌ها می‌باشد که این فاکتورها مربوط به چسبندگی و سایر سموم ترشح شده است (8،7،1). هم‌چنین اوپرون‌های فن‌ازین *phzH*، *phzII*، *phzI*، *phzS* و *phzM* از جمله فاکتورهای ویروالانس‌های سودوموناس به حساب می‌آید که توسط این باکتری ترشح می‌شوند و در افزایش استرس اکسیداتیو داخل سلولی نقش دارد (1). از دیگر عوامل بیماری‌زایی سودوموناس فسفولیپیدهای *plcN* و *plcH* هستند، که در سورفکتانت‌های ریوی وجود دارند که در مرحله حاد بیماری مهم بوده و توسط دو فسفولیپاز C هیدرولیز می‌شوند. *PlcH* در دستگاه ادراری با لیز گلبول‌های قرمز و فعالیت همولیتیک می‌تواند به تداوم و افزایش سودوموناس کمک کند (9،6). پیلی و آلترنات از دیگر عوامل بیماری‌زای سودوموناس هستند. آلترنات یک پلیمر خطی بدون انشعاب و یک کپسول‌اگزوپلی ساکارید است که توسط ژن‌های *algD* و *algU* رمزگذاری شده و نقش اساسی در بقای باکتری‌ها در برابر پاسخ ایمنی میزبان و داروها دارد که می‌تواند سیستم ایمنی را در برابر عفونت ریوی فیروز سیستمیک (CF) مختل کند و در فاز مزمن عفونت سودوموناس آئروژنیوزا ضروری است (10،8). با توجه به اهمیت ژن‌های ویروالانس باکتری سودوموناس آئروژنیوزا و هم‌چنین مقاومت دارویی که می‌تواند توسط این باکتری صورت گیرد، این مطالعه با



## یافته‌ها

در جستجوی اولیه پایگاه‌های اطلاعاتی، 414 مطالعه یافت شد. ابتدا با افزایش ویژگی جستجو 309 مطالعه پس از محدودسازی اولیه حذف شدند. پس از محدود نمودن مطالعات، 69 مطالعه به دلیل تکراری بودن در پایگاه‌های اطلاعاتی از مطالعه خارج شدند. 36 مطالعه مرتبط با موضوع یافت شد که واجد شرایط جهت متاآنالیز بودند. در نهایت 10 مطالعه به دلیل مرتبط نبودن با موضوع پژوهش و پس از ارزیابی عناوین و خلاصه مطالعات از مطالعه خارج شدند. در پایان 26 مطالعه جهت تحلیل و آنالیز وارد این مطالعه شدند (فلوچارت شماره 1). در این متاآنالیز شیوع ژن‌های ویروالانس مقاوم به چند دارو در ایزوله‌های جدا شده از سودوموناس آئروژینوزا در نمونه‌های بالینی ایرانی مورد بررسی قرار گرفت (جدول شماره 1). تمامی مطالعات از نوع مطالعات مقطعی بوده است.

در بررسی مطالعات فراوانی ژن plcH در بین مطالعات اولیه از 0 درصد در مطالعه Dadmanesh الی 100 درصد در مطالعه Izadi Pour Jahromi متغیر بوده است (16,5). ضمناً با توجه به وجود هتروژنیسیته در مطالعات انجام شده  $P=0/00$ ،  $Q: 277/37$ ،  $I^2: 93/87\%$  از مدل اثر تصادفی جهت برآورد کلی استفاده شد که میزان آن با فاصله اطمینان 95 درصد برابر (64/5-87/2) 77/8 درصد بوده است (تصویر شماره 1).



تصویر شماره 1: نمودار انباشت (Plot Forest) فراوانی ژن plcH

## ارزیابی کیفیت

در این بررسی به منظور ارزیابی کیفیت مطالعات از چک لیست (Newcastle Ottawa Scale) NOS استفاده گردید که شامل 7 سوال بود که نوع مطالعه، حجم نمونه، اهداف مطالعه، جمعیت مورد مطالعه، روش نمونه‌گیری، نحوه آنالیز داده‌ها، ارائه یافته‌ها به شکل مناسب و ارائه نتایج براساس اهداف را پوشش می‌دهد. در این چک لیست تعداد امتیاز 10 ارائه گردید که به سه دسته، مطالعات خوب (7-8)، مطالعات رضایت بخش (5-6)، مطالعات غیر قابل رضایت (0-4)، تقسیم گردید. چنانچه مطالعه‌ای حداقل امتیاز (8-5) را کسب نموده بود، وارد این مطالعه گردید (12).

## استخراج داده‌ها

داده‌های مطالعات اولیه براساس بررسی و مطالعه عناوین مطالعه، نام مولف و یا مولفین، سال انتشار، نام شهر، منبع عفونت، و ژن‌های مورد بررسی استخراج گردید. لازم به ذکر است که نرم‌افزار مورد استفاده جهت ورود داده‌های مطالعات اولیه، اکسل بوده است.

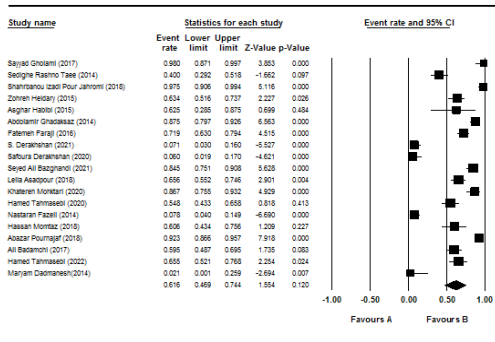
## آنالیز آماری

برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار CMA و برای تعیین هتروژنیته بین مطالعات از آزمون کوکران (Q) و  $I^2$  استفاده گردید. بر اساس نتایج هتروژنیته از مدل اثر تصادفی استفاده گردید و برآورد نقطه‌ای شیوع عفونت با فاصله اطمینان 95 درصد در نمودار انباشت (forest plots) محاسبه شدند که در این نمودار اندازه مربع نشان‌دهنده وزن هر مطالعه و خطوط دو طرف آن فاصله اطمینان 95 درصد را نشان می‌دهد. هم‌چنین در این مطالعه جهت بررسی publication bias از آزمون Egger تست استفاده شد و نمودار قیفی با سطح معنی‌داری کم‌تر از 0/1 برای ارزیابی سوگیری انتشار استفاده شد.

جدول شماره 1: مطالعات وارد شده در رابطه با ژن‌های ویروالانس مقاوم به چند دارو در ایزوله‌های جدا شده از سودوموناس آئروژینوزا در نمونه‌های بالینی ایرانی

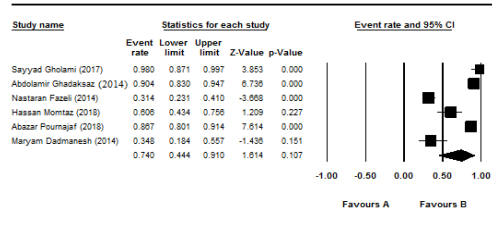
درفس	نویسنده / رفرنس	Location	Isolate	منبع جدا سازی نمونه	Number of isolates	pkH (درصد)	pkN (درصد)	AlgD (درصد)	algU (درصد)	pitB (درصد)	pitA (درصد)	pitM (درصد)	pitH (درصد)	pitI (درصد)	pitJ (درصد)	phzI (درصد)	phzS (درصد)	
(13)	Sayyad Gholami (13) / (2017)	Shiraz	P.aeruginosa	ادرار، سوختگی و عفونت های تنفسی	50	-	-	49 (98)	49 (98)	-	-	-	-	-	-	-	-	
(7)	Fakhri Haghi (7) / (2018)	Zanjan	P.aeruginosa	عفونت زخم سوختگی	93	90 (96/8)	43 (46/2)	-	-	-	-	-	-	-	-	26 (27/95)	90 (96/7)	
(14)	Sedighe Rashno Taei (14) / (2014)	Khoramabad	P.aeruginosa	زخم، خون، ادرار، خلط، آبسه، یوپی، مایع مغزی نخاعی، ترشح ریه، مایع سینوویال	70	-	-	28 (40)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(15)	Hosein Sharifi (15) / (2019)	Shiraz, Kerman	P.aeruginosa	NICU، ICU، مراقبت های تنفسی، بخش های عمومی پزشکی و جراحی، اورژانس و بخش های یونید کلیه	208	-	-	-	17 (8/17)	-	-	-	-	-	-	-	-	
(16)	Izadi Pour Jahromi (16) / (2018)	hiraz and Yasuj	P.aeruginosa	سوختگی، پزشکی داخلی عمومی، ICU، اطفال نوزادان، جراحی، و بخش زنان	80	80 (100)	-	78 (97/5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(17)	Zohreh Heidary (17) / (2016)	Tehran	P. aeruginosa	نمونه های ادرار	71	50 (70/4)	-	45 (63/3)	-	52 (73/2)	-	-	-	-	-	-	-	
(18)	Asghar Habibi (18) / (2015)	Birjand	P. aeruginosa	عفونت مجاری ادراری	8	6 (75)	-	5 (62/5)	-	6 (75)	-	-	-	-	-	-	-	
(19)	Abdolamir Ghadaksaz (19) / (2015)	Tehran	P. aeruginosa	ادرار، مجاری تنفسی، زخم، پولیوال، فیوزن، آنتی بیوتیک، گوش، خون، شستشوی پروزش (تایز، نای، BAL، خلط، لوله قفسه سینه، استخوان، حلق	104	102 (98/4)	75 (65/7)	82 (71/9)	91 (87/5)	94 (90/4)	-	-	-	-	-	-	-	-
(2)	Fatemeh Faraji (2) / (2016)	Tehran	P. aeruginosa	CF (سیستیک فیبروزیس)، زخم سوختگی، خلط، سواب دهن و حلق، شستشوی پروزش آنتی بیوتیک (BAL)	114	102 (98/4)	75 (65/7)	82 (71/9)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(20)	S. Derakhshan (20) / (2021)	Kurdistan	P. aeruginosa	نمونه های مختلف بیمارستان	70	-	-	5 (7/14)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(9)	Safoua Derakhshan (9) / (2020)	Kurdistan	P. aeruginosa	عفونت مجاری ادراری	50	49 (98)	-	3 (6)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(10)	Seyed Ali Bazghandi (10) / (2021)	Ardabil	P. aeruginosa	زخم، خون، ادرار، خلط و مایع مغزی نخاعی (CSF)	84	73 (86/9)	73 (86/9)	71 (84/5)	28 (33/3)	-	-	-	-	-	-	-	-	
(4)	Leila Asadpour (4) / (2018)	Rasht	P. aeruginosa	زخم های سوختگی	90	64 (71/1)	48 (53/3)	59 (65/5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(21)	Khatereh Mohktari (21) / (2020)	Saveh	P. aeruginosa	نمونه های سوختگی	60	-	-	52 (86/6)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(22)	Hamed Tahmaebi (22) / (2020)	Hamadan	P. aeruginosa	نمونه های سوختگی	73	36 (49/3)	36 (49/3)	41 (54/7)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(1)	Nastaran Fazeli (1) / (2014)	Tehran	P. aeruginosa	زخم، مجاری تنفسی و ادراری، زخم بستر و سوختگی	102	46 (45/09)	34 (33/3)	8 (7/8)	32 (31/4)	18 (17/6)	35 (34/3)	37 (36/3)	21 (20/5)	29 (28/4)	13 (12/7)	20 (19/6)	-	
(3)	Hassan Momtaz (3) / (2018)	Shahrekord	P. aeruginosa	زخم ها، عفونت های تنفسی، عفونت های دستگاه ادراری، زخم بستر و سوختگی	33	27 (81/8)	25 (75/7)	20 (60/6)	20 (60/6)	14 (42/4)	15 (45/4)	17 (51/5)	17 (63/6)	13 (51/5)	17 (39/3)	17 (51/5)	-	
(23)	Sanaz Dehbashi (23) / (2020)	Hamadan	P. aeruginosa	زخم سوختگی، کشت خون، کاتر ها و UC (کشت ادرار)	73	16 (21/9)	-	-	-	-	-	23 (31/5)	-	-	21 (28/7)	-	-	
(8)	Abazar Pourmajid (8) / (2018)	Tehran, Mazandaran, Fars, Razavi Khorasan, Yazd, Hormozgan, West Azerbaijan, and Lorestan	P. aeruginosa	نمونه خلط بیمارستان CF	143	138 (96/5)	47 (32/8)	132 (92/3)	124 (86/7)	13 (9/1)	23 (16/1)	-	-	-	-	81 (56/6)	92 (64/3)	
(6)	Ali Badamchi (6) / (2017)	Tehran	P. Aeruginosa	نمونه های ادرار	84	32 (38/1)	32 (38/1)	50 (59/5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(24)	Hamed Tahmasebi (24) / (2022)	Hamadan	P. aeruginosa	عفونت زخم	55	28 (50/9)	37 (67/2)	36 (65/4)	-	-	-	32 (58/1)	-	-	-	-	-	
(25)	Mahya Rahbar zare (25) / (2018)	Tehran	P. Aeruginosa	زخم های سوختگی	100	98 (98)	98 (98)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(5)	Maryam Dadnanesht (5) / (2014)	Tehran	P. Aeruginosa	مجاری ادراری	23	0 (21/7)	5 (0)	0 (0)	8 (34/7)	1 (4/3)	1 (4/3)	1 (4/3)	3 (13/04)	6 (26/1)	7 (30/4)	11 (47/8)	-	
(26)	Hamed Tahmasebi (26) / (2019)	Hamadan	P. aeruginosa	زخم های سوختگی	63	56 (88/8)	41 (65/1)	-	-	-	-	-	-	30 (47/6)	38 (60/3)	53 (84/1)	-	
(27)	Sayyad Gholami (27) / (2019)	Tehran	P. aeruginosa	منابع انسانی	100	-	-	-	-	-	-	8 (16)	-	-	-	-	-	
	Total				2001	984	594	854	327	165	97	198	193	275	278	166		

در مطالعه Sayyad Gholami متغیر بوده است (13,5).  
 ضمناً با توجه به وجود هتروژنیسی در مطالعات انجام شده  $P=0/00$ ،  $Q: 290/88$ ،  $I^2: 93/81\%$  از مدل اثر تصادفی جهت برآورد کلی استفاده شد که میزان آن با فاصله اطمینان 95 درصد برابر (74-46/9) 61/6 درصد بوده است (تصویر شماره 3).



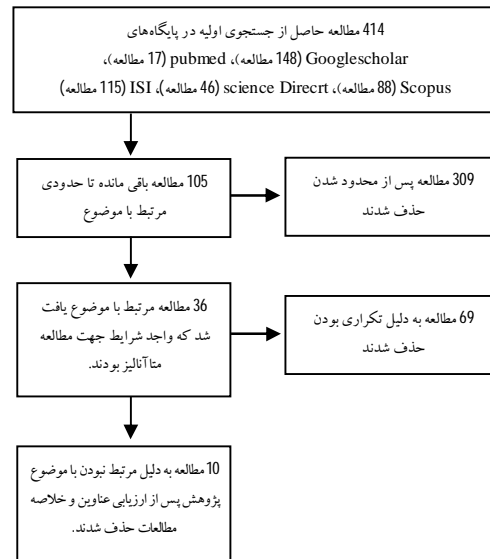
تصویر شماره 3: نمودار انباشت (Plot Forest) فراوانی ژن AlgD

در بررسی مطالعات فراوانی ژن AlgU در بین مطالعات اولیه از 31/4 درصد در مطالعه Nastaran Fazeli الی 98 درصد در مطالعه Sayyad Gholami متغیر بوده است (13,1). ضمناً با توجه به وجود هتروژنیسی در مطالعات انجام شده  $P=0/00$ ،  $Q: 111/84$ ،  $I^2: 95/52\%$  از مدل اثر تصادفی جهت برآورد کلی استفاده شد که میزان آن با فاصله اطمینان 95 درصد برابر (91-44/4) 74 درصد بوده است (تصویر شماره 4).



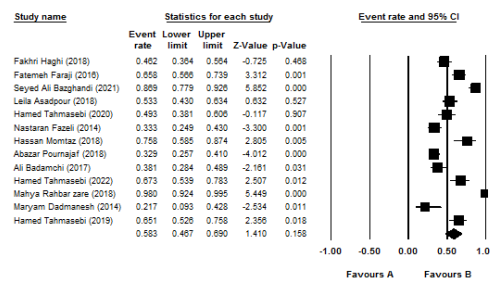
تصویر شماره 4: نمودار انباشت (Plot Forest) فراوانی ژن AlgU

در بررسی مطالعات فراوانی ژن PhzM در بین مطالعات اولیه از 16 درصد در مطالعه Sayyad Gholami الی



فلوجارت شماره 1: فلوجارت بررسی و جستجوی مطالعات وارد شده در متاآنالیز

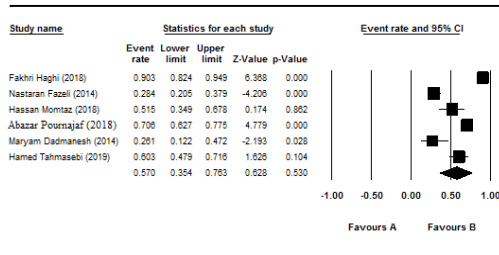
در بررسی مطالعات فراوانی ژن plcN در بین مطالعات اولیه از 21/7 درصد در مطالعه Dadmanesh الی 98 درصد در مطالعه Mahya Rahbar zare متغیر بوده است (25,5). ضمناً با توجه به وجود هتروژنیسی در مطالعات انجام شده  $P=0/00$ ،  $Q: 132/79$ ،  $I^2: 90/96\%$  از مدل اثر تصادفی جهت برآورد کلی استفاده شد که میزان آن با فاصله اطمینان 95 درصد برابر (69-46/7) 58/3 درصد بوده است (تصویر شماره 2).



تصویر شماره 2: نمودار انباشت (Plot Forest) فراوانی ژن plcN

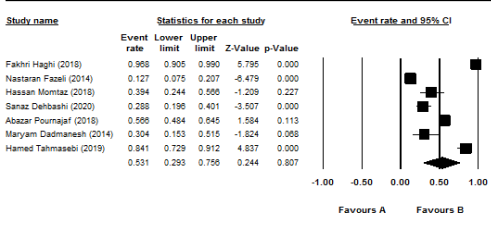
در بررسی مطالعات فراوانی ژن AlgD در بین مطالعات اولیه از 0 درصد در مطالعه Dadmanesh الی 98 درصد

مطالعات انجام شده  $I^2: 93/74$  %  $Q: 79/98$ ،  $P= 0/00$  از مدل اثر تصادفی جهت برآورد کلی استفاده شد که میزان آن با فاصله اطمینان 95 درصد برابر (35/4-76/3) 57 درصد بوده است (تصویر شماره 7).



تصویر شماره 7: نمودار انباشت (Plot Forest) فراوانی ژن Phz11

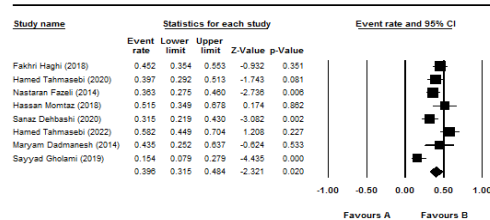
در بررسی مطالعات فراوانی ژن Phz1 در بین مطالعات اولیه از 12/7 درصد در مطالعه Nastaran Fazeli الی 96/7 درصد در مطالعه Fakhri Haghi متغیر بوده است (7،1). ضمناً با توجه به وجود هتروژنیسیته در مطالعات انجام شده  $I^2: 94/89$  %  $Q: 117/49$ ،  $P= 0/00$  از مدل اثر تصادفی جهت برآورد کلی استفاده شد که میزان آن با فاصله اطمینان 95 درصد برابر (29/3-75/8) 53/1 درصد بوده است (تصویر شماره 8).



تصویر شماره 8: نمودار انباشت (Plot Forest) فراوانی ژن Phz1

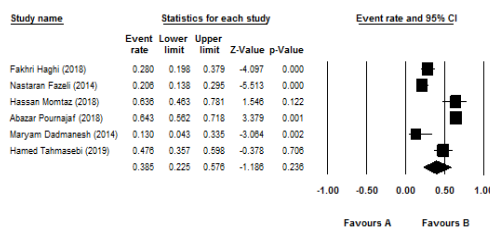
در بررسی مطالعات فراوانی ژن PhzS در بین مطالعات اولیه از 19/6 درصد در مطالعه Nastaran Fazeli الی 64/3 درصد در مطالعه Abazar Pournajaf متغیر بوده است (8،1). ضمناً با توجه به وجود هتروژنیسیته در مطالعات انجام شده  $I^2: 92/70$  %  $Q: 54/85$ ،  $P= 0/00$  از مدل اثر تصادفی جهت برآورد کلی استفاده شد که

58/1 درصد در مطالعه Hamed Tahmasebi متغیر بوده است (24،13). ضمناً با توجه به وجود هتروژنیسیته در مطالعات انجام شده  $I^2: 71/26$  %  $Q: 24/36$ ،  $P= 0/00$  از مدل اثر تصادفی جهت برآورد کلی استفاده شد که میزان آن با فاصله اطمینان 95 درصد برابر (31/5-48/4) 39/6 درصد بوده است (تصویر شماره 5).



تصویر شماره 5: نمودار انباشت (Plot Forest) فراوانی ژن Phzm

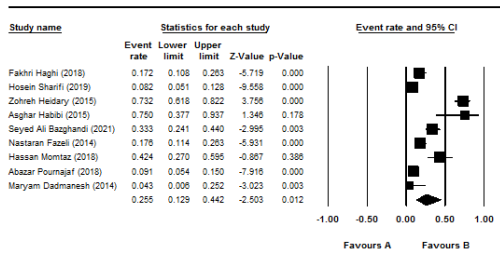
در بررسی مطالعات فراوانی ژن PhzH در بین مطالعات اولیه از 13/04 درصد در مطالعه Maryam Dadmanesh الی 64/3 درصد در مطالعه Abazar Pournajaf متغیر بوده است (8،5). ضمناً با توجه به وجود هتروژنیسیته در مطالعات انجام شده  $I^2: 92/29$  %  $Q: 64/87$ ،  $P= 0/00$  از مدل اثر تصادفی جهت برآورد کلی استفاده شد که میزان آن با فاصله اطمینان 95 درصد برابر (22/5-57/6) 38/5 درصد بوده است (تصویر شماره 6).



تصویر شماره 6: نمودار انباشت (Plot Forest) فراوانی ژن PhzH

در بررسی مطالعات فراوانی ژن phzII در بین مطالعات اولیه از 26/1 درصد در مطالعه Maryam Dadmanesh الی 90/32 درصد در مطالعه Fakhri Haghi متغیر بوده است (7،5). ضمناً با توجه به وجود هتروژنیسیته در





تصویر شماره 11: نمودار انباشت (Plot Forest) فراوانی ژن PiliB

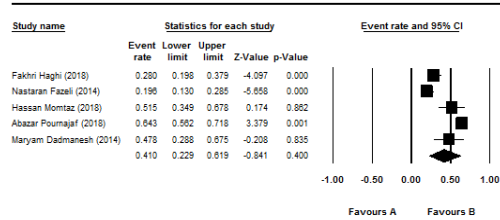
هم چنین نتایج publication bias با استفاده از Egger test نشان می دهد که publication bias در بین ساب گروه ها وجود دارد ( $P < 0/05$ ).

## بحث

در مطالعه حاضر شیوع ژن های ویروالانس مقاوم به دارو سودوموناس آئروژینوزا phzII, phzH, phzM, pilA و pilB, algU, algD, plcN, plcH, phzS, phzI در نمونه های بالینی ایرانی مورد بررسی قرار گرفته است. به طور کلی سودوموناس آئروژینوزا یک باسیل کوچک گرم منفی، هوازی، غیر تخمیری و یک پاتوژن فرصت طلب انسانی است که طیف وسیعی از عفونت های حاد و مزمن را شامل می شود. این میکروارگانیسم در همه جا وجود دارد و در محیط های بیمارستانی زنده می ماند. سودوموناس میزان مرگ و میر بالایی دارد و به دلیل نفوذپذیری کم غشای خارجی، بیان سازنده پمپ های جریان مختلف و تولید آنزیم های غیر فعال کننده آنتی بیوتیکی (مانند سفالوسپورینازها)، مقاومت ذاتی در برابر چندین آنتی بیوتیک از خود نشان می دهد. این باکتری به شدت در برابر مواد ضد میکروبی و آنتی بیوتیک های مختلف مقاومت می کند، به طور کلی ظهور سودوموناس مقاوم به چند دارو (MDR) به یک مشکل جدی در محیط های مراقبت های بهداشتی در کشورهای در حال توسعه تبدیل شده است (1-3).

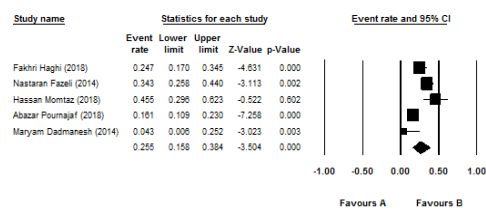
مطالعه حقی و همکاران که روی 93 ایزوله سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از عفونت های زخم سوختگی را برای حساسیت ضد میکروبی و توزیع

میزان آن با فاصله اطمینان 95 درصد برابر (22/9-61/9) 41 درصد بوده است (تصویر شماره 9).



تصویر شماره 9: نمودار انباشت (Plot Forest) فراوانی ژن PhzS

در بررسی مطالعات فراوانی ژن PiliA در بین مطالعات اولیه از 4/3 درصد در مطالعه Maryam Dadmanesh الی 45/4 درصد در مطالعه Hassan Momtaz متغیر بوده است (3،5). ضمناً با توجه به وجود هتروژنیسیته در مطالعات انجام شده  $P=0/00$ ,  $Q: 20/85$ ,  $I^2: 80/82\%$  از مدل اثر تصادفی جهت برآورد کلی استفاده شد که میزان آن با فاصله اطمینان 95 درصد برابر (15/8-38/4) 25/5 درصد بوده است (تصویر شماره 10).



تصویر شماره 10: نمودار انباشت (Plot Forest) فراوانی ژن PiliA

در بررسی مطالعات فراوانی ژن PiliB در بین مطالعات اولیه از 4/3 درصد در مطالعه Maryam Dadmanesh الی 75 درصد در مطالعه Asghar Habibi متغیر بوده است (5،18). ضمناً با توجه به وجود هتروژنیسیته در مطالعات انجام شده  $P=0/00$ ,  $Q: 130/97$ ,  $I^2: 98/89\%$  از مدل اثر تصادفی جهت برآورد کلی استفاده شد که میزان آن با فاصله اطمینان 95 درصد برابر (12/9-44/2) 25/5 درصد بوده است (تصویر شماره 11).

مطالعه دادمنش و همکاران، هشت نمونه از 90 نمونه ادرار مرد (8/88 درصد) و 15 نمونه از 130 نمونه ادرار زنانه (11/53 درصد) سودوموناس آئروژینوزا مثبت گزارش شد. بالاترین سطوح مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا در مورد آمپی‌سیلین (52/17 درصد)، جنتامایسین (47/82 درصد)، سپیروفلوکساسین (39/13 درصد) و نتیل مایسین (34/78 درصد) مشاهده شد، در حالی که مقاومت در برابر پمپراسیلین و ای‌می‌پنم به ترتیب 4/34 درصد و 17/39 درصد مشاهده شد. هم‌چنین شایع‌ترین فاکتورهای ویروالانس شناسایی شده exoS (73/91 درصد)، toxA (69/56 درصد)، exoT (65/21 درصد) و phzM (43/47 درصد) گزارش گردید (5).

از محدودیت‌های مطالعه می‌توان به کم بودن تعداد نمونه‌های بالینی جدا شده از ادرار، سوختگی و عفونت‌های تنفسی اشاره کرد که می‌تواند نتایج را تحت تاثیر قرار دهد. با این حال، در کنار این محدودیت این مطالعه نتایجی در بر داشت، که در این بررسی حضور انواع ژن‌های کدکننده فاکتورهای ویروالانس در سویه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا و نقش مهم ژن‌های  $\text{pilC}$ ،  $\text{pilH}$ ،  $\text{algU}$ ،  $\text{algD}$  و  $\text{pilA}$  و مقاومت به چند دارویی سودوموناس آئروژینوزا در نمونه‌های بالینی ایرانی مورد ارزیابی قرار گرفت که این ژن‌ها ارتباط زیادی با مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین سویه‌های این باکتری دارد. محدودیت بعدی می‌تواند به جداسازی سویه‌ها از نمونه‌های مختلف بالینی باشد، به طوری که منبع می‌تواند منجر به کسب ژن خاص و هم‌چنین عفونت خاص گردد. این نتایج نشان دهنده خطر بالقوه این سویه‌ها در عفونت‌های بیمارستانی است که البته نیازمند مطالعات بیشتر با حجم نمونه بیشتر و هم‌چنین بررسی جامع‌تر در سایر نقاط کشور برای رسیدن به یک نتیجه جامع‌تر می‌باشد.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تشکر و قدردانی می‌گردد.

ژن‌های ویروالانس تجزیه و تحلیل کردند نشان دادند که تمامی جدایه‌ها (100 درصد) به یک یا چند عامل ضد میکروبی مقاوم بودند. بیش‌ترین مقاومت در برابر آمپی‌سیلین (91/4 درصد)، کو‌تریموکسازول (77/4 درصد)، جنتامایسین (68/8 درصد)، سفوتاکسیم (50/5 درصد)، آزترونام و پمپراسیلین (41/9 درصد) مشاهده شد. شایع‌ترین ژن ویروالانس (96/7 درصد)  $\text{plcH}$ ، (96/7 درصد)  $\text{phzI}$  و (90/3 درصد)  $\text{phzII}$  بود. فراوانی (2/17 درصد)  $\text{pilB}$ ، (24/7 درصد)  $\text{pilA}$  و  $\text{phzS/phzH}$  (27/9 درصد) کم‌تر از سایر ژن‌های ویروالانس بود. 29 ایزوله (31/2 درصد) به‌طور هم‌زمان دارای 8 ژن ویروالانس، 22 سویه (23/7 درصد) دارای 6 ژن ویروالانس و 19 سویه (20/4 درصد) دارای 7 ژن ویروالانس بودند (7).

در مطالعه فاضلی و همکاران، آن‌ها به بررسی توزیع فاکتورهای بیماری‌زا و خواص مقاومت آنتی‌بیوتیکی سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از انواع مختلف عفونت‌های بیمارستانی در ایران پرداختند. پنجاه و هشت مورد از 127 (45/66 درصد) نمونه عفونت مرد و 44 مورد از 90 (48/88 درصد) نمونه عفونت زن دارای سودوموناس آئروژینوزا بودند. هم‌چنین 65 درصد (در نمونه‌های مرد) و 21 درصد (در نمونه‌های زن) عفونت‌های دستگاه تنفسی، سودوموناس آئروژینوزا مثبت گزارش گردید. ژن کدکننده فسفولیپازهای C (45/09 درصد) شایع‌ترین ژن ویروالانس یافت شده در بین سویه‌ها بود. سطوح مقاومت بالا به پنی‌سیلین (100 درصد)، تتراسایکلین (90/19 درصد)، استرپتومایسین (64/70 درصد) و اریترومایسین (43/13 درصد) نیز مشاهده شد (1). در مطالعه انجام شده دیگر توسط پورنجف و همکاران، 8/4 درصد از سویه‌ها، MDR در نظر گرفته شدند که به ترتیب شیوع ژن‌های ویروالانس  $\text{lasB}$  (100 درصد) و  $\text{plcB}$  (100 درصد)،  $\text{plcH}$  (96/5 درصد) گزارش گردید. اکثر ژن‌های کدکننده آلزینات به ترتیب 92/3، 86/7 و 67/1 درصد برای ژن‌های  $\text{algU}$ ،  $\text{algD}$  و  $\text{algL}$  بودند. ژن‌های  $\text{ppvR}$ ،  $\text{psIA}$  و  $\text{pelA}$  به ترتیب در 98/6، 89/5 درصد و 57/3 درصد از سویه‌ها شناسایی شدند (8). در

## References

1. Fazeli N, Momtaz H. Virulence gene profiles of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Iranian hospital infections. *Iran Red Crescent Med J* 2014; 16(10): e15722.
2. Faraji F, Mahzounieh M, Ebrahimi A, Fallah F, Teymournejad O, Lajevardi B. Molecular detection of virulence genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from children with Cystic Fibrosis and burn wounds in Iran. *Microb Pathog* 2016; 99: 1-4.
3. Momtaz H, Eskandari M, Zabihi F. Distribution of virulence factors in biofilm formation strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospital infections in Shahrekord Township. *Navid No* 2018; 21(67): 30-40 (Persian).
4. Asadpour L. Antimicrobial resistance, biofilm-forming ability and virulence potential of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in northern Iran. *J Global Antimicrob Resist* 2018; 13: 214-220.
5. Dadmanesh M, Pilehvarzadeh M, Eramabadi M, Eramabadi P, Moghadam MB, Mashayekhi F. Community acquired *Pseudomonas aeruginosa* urinary tract infections in children hospitalized in a Baqiatallah hospital, Tehran, Iran: Virulence profile and antibiotic resistance properties. *Biosc Biotechnol Res Asia* 2014; 11(2): 417-426.
6. Badamchi A, Masoumi H, Javadinia S, Asgarian R, Tabatabaee A. Molecular detection of six virulence genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolates detected in children with urinary tract infection. *Microb Pathog* 2017; 107: 44-47.
7. Haghi F, Zeighami H, Monazami A, Toutouchi F, Nazaralian S, Naderi G. Diversity of virulence genes in multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn wound infections. *Microb Pathog* 2018; 115: 251-256.
8. Pournajaf A, Razavi S, Irajian G, Ardebili A, Erfani Y, Solgi S, et al. Integron types, antimicrobial resistance genes, virulence gene profile, alginate production and biofilm formation in Iranian cystic fibrosis *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Infez Med* 2018; 26(3): 226-236.
9. Derakhshan S, Hosseinzadeh A. Resistant *Pseudomonas aeruginosa* carrying virulence genes in hospitalized patients with urinary tract infection from Sanandaj, west of Iran. *Gene Reports* 2020; 20(1): 100675.
10. Bazghandi SA, Arzanlou M, Peeridogaheh H, Vaez H, Sahebkar A, Khademi F. Prevalence of Virulence Genes and Drug Resistance Profiles of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Clinical Specimens. *Jundishapur Journal of Microbiology* 2021; 14(8): e118452.
11. Panic N, Leoncini E, De Belvis G, Ricciardi W, Boccia S. Evaluation of the endorsement of the preferred reporting items for systematic reviews and meta-analysis (PRISMA) statement on the quality of published systematic review and meta-analyses. *PloS One* 2013; 8(12): e83138.
12. Luchini C, Stubbs B, Solmi M, Veronese N. Assessing the quality of studies in meta-analyses: Advantages and limitations of the Newcastle Ottawa Scale. *World J Meta-Anal* 2017; 5(4): 80-84.
13. Gholami S, Tabatabaee M, Sohrabi N. Comparison of biofilm formation and antibiotic resistance pattern of *Pseudomonas aeruginosa* in human and environmental isolates. *Microb Pathog* 2017; 109: 94-98.
14. Tae SR, Khansarinejad B, Abtahi H,

- Najafimosleh M, Ghaznavi-Rad E. Detection of *algD*, *oprL* and *exoA* genes by new specific primers as an efficient, rapid and accurate procedure for direct diagnosis of *Pseudomonas aeruginosa* strains in clinical samples. *Jundishapur J Microbiol* 2014; 7(10): e13583.
15. Sharifi H, Pouladfar G, Shakibaie MR, Pourabbas B, Mardaneh J, Mansouri S. Prevalence of  $\beta$ -lactamase genes, class 1 integrons, major virulence factors and clonal relationships of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospitalized patients in southeast of Iran. *Iran J Basic Med Sci* 2019; 22(7): 806-812.
  16. Jahromi SIP, Mardaneh J, Sharifi A, Pezeshkpour V, Behzad-Behbahani A, Seyyedi N, et al. Occurrence of a multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains in hospitalized patients in southwest of Iran: Characterization of resistance trends and virulence determinants. *Jundishapur J Microbiol* 2018; 11(4): e57341.
  17. Heidary Z, Bandani E, Eftekhary M, Jafari AA. Virulence genes profile of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Iranian children with UTIs. *Acta Med Iran* 2016; 54(3): 201-210.
  18. Habibi A, Honarmand R. Profile of Virulence Factors in the multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains of human urinary tract infections(UTI). *Iran Red Crescent Med J* 2015; 17(12): e26095.
  19. Ghadaksaz A, Fooladi AAI, Hosseini HM, Amin M. The prevalence of some *Pseudomonas* virulence genes related to biofilm formation and alginate production among clinical isolates. *J Appl Biomed* 2015; 13(1): 61-68.
  20. Derakhshan S, Rezaee A, Mohammadi S. Relationship between type III secretion toxins, biofilm formation, and antibiotic resistance in clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Russian Journal OF Infection AND Immunity* 2021; 11(6): 1075-1082.
  21. Mokhtari K, Amini K. Identification of virulence genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from human and animal samples by multiplex-PCR and their antibiotic resistance pattern. *Iran J Med Microbiol* 2019; 13(4): 294-301 (Persian).
  22. Tahmasebi H, Dehbashi S, Alikhani MY, Porbaran M, Arabestani MR. Prevalence and molecular typing of Metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* with adhesion factors: a descriptive analysis of burn wounds isolates from Iran. *Gene Reports* 2020; 21: 100853.
  23. Dehbashi S, Pourmand MR, Alikhani MY, Asl SS, Arabestani MR. Coordination of las regulated virulence factors with Multidrug-Resistant and extensively drug-resistant in superbug strains of *P. aeruginosa*. *Mol Biol Rep* 2020; 47(6): 4131-4143.
  24. Tahmasebi H, Dehbashi S, Nasaj M, Arabestani MR. Molecular epidemiology and collaboration of siderophore-based iron acquisition with surface adhesion in hypervirulent *Pseudomonas aeruginosa* isolates from wound infections. *Sci Rep* 2022; 12(1): 1-11.
  25. Rahbar ZM, Noorbakhsh F, Honarmand JS. Assessment of virulence factors (elastase and phospholipase) and antibiotic susceptibility in *pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical samples. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal* 2018; 29(8): 31-38 (Persian).
  26. Tahmasebi H, Maleki F, Dehbashi S, Arabestani MR. Role and Function of KPC and MBL Enzymes in Increasing the Pathogenicity of *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Burn Wounds. *J Babol Univ Med Sci* 2019; 21:

127-134 (Persian).  
27. Gholami S, Tabatabaei M. The Prevalence of  
Virulence Factors in Human and Environmental

Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Avicenna  
Journal of Clinical Microbiology and Infection  
2019; 6(1): 9-14 (Persian).