

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

Negin Mesgar Saravi¹,
Tahoora Mousavi²

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

² 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 I². 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 ویرو لانس مقاوم به چند دارو در ایزوله های جدا شده از سودوموناس آئروژینوزا در نمونه های بالینی ایرانی: مروری - متا آنالیز

نگین مسگر ساروی¹

طهرا موسوی²

چکیده

سابقه و هدف: عفونت سودوموناس شامل عفونت دستگاه ادراری (UTIs)، عفونت تنفسی، عفونت بافت نرم، درماتیت، باکتری می، 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 ویرو لانس باکتری سودوموناس آئروژینوزا و هم چنین مقاومت دارویی که می تواند توسط این باکتری صورت گیرد، این مطالعه با هدف بررسی شیوع ژن های ویرو لانس 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 I² 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 ویرو لانس phzM، phzH، phzII، phzI، phzS، plcH، plcN، algD، algU، pilB و pilA در سویه های بالینی سودوموناس آئروژینوزا بوده است. به طور کلی انواع مختلفی از ژن های ویرو لانس این باکتری نشان دهنده این است که این ژن ها با شدت بیماری زایی ارتباط دارند.

واژه های کلیدی: ژن های ویرو لانس، 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: طهرا 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

میکروارگانیزم در همه جا وجود دارد و در محیط های بیمارستانی زنده باقی می ماند (3-1). عفونت سودوموناس شامل عفونت دستگاه ادراری (UTIs)، عفونت تنفسی، عفونت بافت نرم، درماتیت، باکتری می، 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 (1،4). این باکتری مسئول 9 درصد عفونت های ادراری در کودکان و 77/8 و 22/2 درصد عفونت های شدید دستگاه ادراری در پسران و دختران زیر 12 سال است (5). به طور کلی سودوموناس میزان مرگ و میر بالایی دارد که این میزان عفونت بیمارستانی بین 18 تا 61 درصد گزارش شده است (1). هم چنین این باکتری عامل حدود 35 درصد از عفونت های دستگاه ادراری به ویژه در بیماران مبتلا به عفونت های دستگاه ادراری مرتبط با کاتتر (CAUTI) است و چهارمین پاتوژن شایع جدا شده در عفونت های محل جراحی (8 درصد) و هفتمین علت اصلی عفونت های خونی (6-2 درصد) می باشد (6). این باکتری به شدت در برابر مواد ضد میکروبی و آنتی بیوتیک های مختلف مقاومت می کند که به دلیل نفوذپذیری کم غشای خارجی، و هم چنین تولید آنزیم های غیر فعال کننده آنتی بیوتیک (مانند سفالوسپورینازها)، مقاومت ذاتی به چندین آنتی بیوتیک نشان می دهد (6). 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. اگر چه برخی از گونه های سودوموناس به جنتامایسین، توبرامایسین، کولیسین، سیپروفلوکساسین، نورفلوکساسین و آمیکاسین پاسخ می دهند، اما عموماً نسبت به آنتی بیوتیک های رایج مقاوم تر هستند و این مقاومت چند دارویی گاهی غیر قابل درمان است (1،3،6،7). علاوه بر این، مطالعات نشان داد که سویه های جدا شده سودوموناس آئروژینوزا از نمونه های بیماران ایرانی به میزان 100 درصد در برابر تری متوپریم، آموکسی سیلین،

آمپی سیلین، تتراسایکلین، تیکارسیلین، کاربنی سیلین (90 درصد)، سفتازیدیم (80 درصد)، کلاوونیک اسید (2/69 درصد)، ایمپنم (60 درصد)، سفیم (52 درصد)، جنتامایسین (50 درصد) و سیپروفلوکساسین (40 درصد) مقاوم بودند (5). عوامل بیماری زای *P.aeruginosa* را می توان به عفونت های حاد و مزمن طبقه بندی کرد. بیماری زایی سودوموناس تا حدودی به دلیل تولید یک سری فاکتورهای ویروالانس های خارج سلولی است که پس از کلونیزاسیون می تواند باعث آسیب بافت و هم چنین تهاجم به جریان خون و انتشار گردد. به طور کلی فاکتورهای بیماری زای سودوموناس شامل الزینات، فسفولیپاز، پیلی، و پیگمان ها می باشد که این فاکتورها مربوط به چسبندگی و سایر سموم ترشح شده است (1،7،8). هم چنین اوپرون های فنالین *phzH*، *phzII*، *phzI* و *phzM* و *phzS* از جمله فاکتورهای ویروالانس های سودوموناس به حساب می آید که توسط این باکتری ترشح می شوند و در افزایش استرس اکسیداتیو داخل سلولی نقش دارد (1). از دیگر عوامل بیماری زایی سودوموناس فسفولیپیدهای *plcN* و *plcH* هستند، که در سورفکتانت های ریوی وجود دارند که در مرحله حاد بیماری مهم بوده و توسط دو فسفولیپاز C هیدرولیز می شوند. *PlcH* در دستگاه ادراری با لیز گلبول های قرمز و فعالیت همولیتیک می تواند به تداوم و افزایش سودوموناس کمک کند (6،9). پیلی و آلزینات از دیگر عوامل بیماری زای سودوموناس هستند. آلزینات یک پلیمر خطی بدون انشعاب و یک کپسول اگزوپلی ساکارید است که توسط ژن های *algD* و *algU* رمزگذاری شده و نقش اساسی در بقای باکتری ها در برابر پاسخ ایمنی میزبان و داروها دارد که می تواند سیستم ایمنی را در برابر عفونت ریوی فیروز سیستمیک (CF) مختل کند و در فاز مزمن عفونت سودوموناس آئروژینوزا ضروری است (8،10). 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 ژن‌های ویروالانس مقاوم به چند دارو در ایزوله‌های جدا شده از سودوموناس آئروژینوزا در نمونه‌های بالینی ایرانی، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مروری، جهت انجام مطالعه متاآنالیز حاضر طبق پروتکل‌های متاآنالیز مطالعات مشاهده‌ای از چک لیست PRISMA-P استفاده گردید (11). استراتژی جستجو در این مطالعه، از مطالعات انتشار یافته از دسامبر 2000 الی نوامبر 2022 از مطالعات چاپ شده در مجلات خارجی و از پایگاه‌های اطلاعاتی نظیر Science direct، Pub med، ISI، Scopus، Google scholar استفاده شد. استراتژی جست و جوی مقالات با استفاده از کلید واژه‌های انگلیسی و هم‌چنین ترکیب کلمات مهم و اصلی و حساس انجام شد. جست‌وجو با استفاده از پایگاه‌های اطلاعاتی ISI، Scopus، Web of science، Pubmed، Web of science، کلید واژه‌های مرتبط phzM، algU، algD، plcN، plcH، phzS، phzI، phzII، pilA، pilB مورد جستجو قرار گرفت و با افزودن and و or در عنوان و چکیده انجام شد. از طرفی جهت افزایش حساسیت جستجو رفرنس مطالعات مرتبط هم مورد بررسی قرار گرفت.

معیارهای ورود به مطالعه

بر اساس PICO(S)، همه مطالعات مقطعی که به بررسی شیوع ژن‌های phzM، phzH، phzI، phzS، plcH، plcN، algD، algU، pilB، pilA پرداخته شده بود، بیماران مبتلا به زخم، خون، ادرار، خلط، آبسه، بیوپسی، مایع مغزی نخاعی، ترشح ریوی، مایع سینوویال و که نمونه سودوموناس از آن‌ها جداسازی گردید و شیوع انواع ژن‌های phzM، phzH، phzI، phzS، plcH، plcN، algD، algU، pilB، pilA در نمونه‌های بالینی مطالعات توصیفی، وارد مطالعه شدند.

معیارهای خروج مطالعه

معیارهای خروج از مطالعه در این بررسی شامل، آن دسته از مطالعاتی که بر اساس چک لیست ارزیابی کیفیت، نمره پایین‌تر از حد نصاب را کسب نمودند (بیش‌ترین امتیاز 7-8، امتیاز رضایت بخش 5-6، کم‌ترین امتیاز 4-0)، مطالعات ارائه شده در کنفرانس‌ها که فاقد متن کامل بودند، مطالعاتی که در آن‌ها بررسی شیوع ژن‌ها به جز ژن‌های مورد نظر بوده است، مطالعاتی که به زبان غیر انگلیسی بود، مطالعاتی که فاقد اطلاعات کافی بودند و مطالعات گزارش مورد، مروری و نامه به سردبیر، می‌باشد.

انتخاب مطالعات

تمام متون کامل و چکیده مطالعات، از پایگاه‌های موردنظر خارج گردیده و مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا پس از محدود کردن جستجو، مطالعات غیرمرتبط و تکراری حذف شدند. سپس مطالعات پس از بررسی عناوین، چکیده‌ها و متون کامل غربالگری شدند. نهایتاً مطالعات مناسب در مطالعه متاآنالیز مورد نظر گنجانده شدند. این مطالعه با هدف تخمین شیوع ژن‌های ویروالانس مقاوم به چند دارو در ایزوله‌های جدا شده از سودوموناس آئروژینوزا در نمونه‌های بالینی ایرانی انجام شد.

انتخاب مطالعات

در این بررسی، متن کامل یا خلاصه مقالات و مستندات و گزارش‌ها توسط دو محقق (T.M، N.M) به صورت مجزا استخراج گردید. در صورت اختلاف نظر از دانش شخص سوم و با تجربه در این زمینه استفاده شد. ابتدا عناوین مقالات، چکیده مقالات با استفاده از معیارهای ورود و خروج مورد بررسی قرار گرفته و سپس با استفاده از نرم‌افزار اندنوت موارد تکراری حذف گردید و مقالات مرتبط انتخاب شد. ضمناً بررسی یافته‌ها برای شناسایی و حذف مطالعات تکراری به صورت عرضی هم در دستور کار محققین بوده است.

یافته‌ها

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

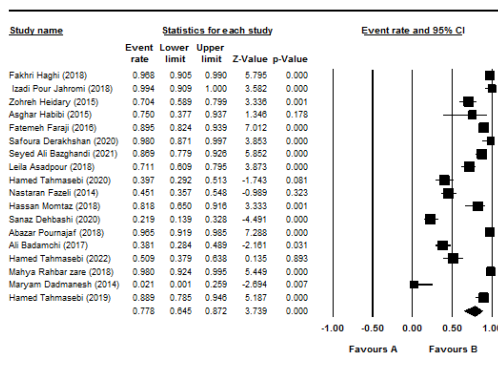
داده‌های مطالعات اولیه براساس بررسی و مطالعه عناوین مطالعه، نام مولف و یا مولفین، سال انتشار، نام شهر، منبع عفونت، و ژن‌های مورد بررسی استخراج گردید. لازم به ذکر است که نرم‌افزار مورد استفاده جهت ورود داده‌های مطالعات اولیه، اکسل بوده است.

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.

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.

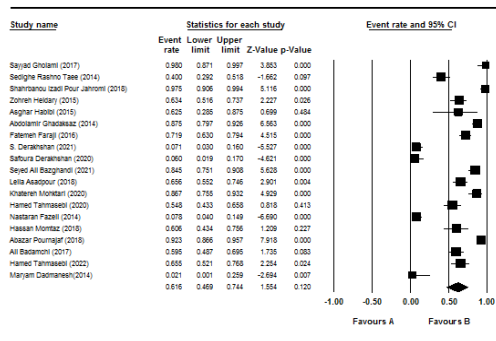
در بررسی مطالعات فراوانی ژن $plcH$ در بین مطالعات اولیه از 0 درصد در مطالعه Dadmanesh الی 100 درصد در مطالعه Izadi Pour Jahromi متغیر بوده است (16,5). ضمناً با توجه به وجود هتروژنیستی در مطالعات انجام شده $I^2: 93/87\%$ ، $Q: 277/37$ ، $P=0/00$ از مدل اثر تصادفی جهت برآورد کلی استفاده شد که میزان آن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

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

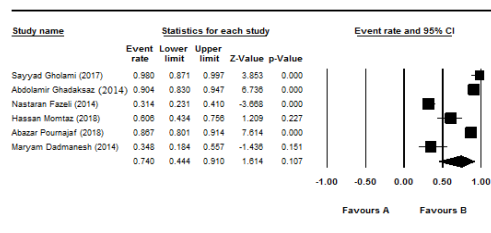
ردفس	توسنده / رفرنس	Location	Isolate	منبع جدا سازی نمونه	Number of isolates	plcH (درصد)	plcN (درصد)	AlgD (درصد)	algU (درصد)	pilB (درصد)	pilA (درصد)	phzM (درصد)	phzH (درصد)	phzI (درصد)	phzS (درصد)
(13)	Sayyad Gholami (13)/(2017)	Shiraz	P.aeruginosa	ادرار، سوختگی و عفونت های تنفسی	50	-	-	49 (98)	49 (98)	-	-	-	-	-	-
(7)	Fakhri Haghi (7)/(2018)	Zanjan	P.aeruginosa	عفونت زخم سوختگی	93	90 (96/8)	43 (46/2)	-	-	-	-	26 (27/95)	48 (90/32)	90 (96/7)	26 (27/95)
(14)	Sedighe Rashno Taei (14)/(2014)	Khoramabad	P.aeruginosa	زخم، خون، ادرار، خلط، آبسه، یو، سی، مایع مغزی نخاعی، ترشح ریه، مایع سینوئید	70	-	-	28 (40)	-	-	-	-	-	-	-
(15)	Hosein Sharifi (15)/(2019)	Shiraz, Kerma	P.aeruginosa	NICU ICU، بخش مراقبت های تنفسی، بخش های عمومی پزشکی و جراحی، اورژانس و بخش های پیوند 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 بخشی 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 فیوژن اتروکس جینی، گوش، خون، ششهای پرونش (نایزده)، نای، BAL، خلط، لوله قفسه سینه، استخوان، حلق	104	-	-	91 (87/5)	94 (90/4)	-	-	-	-	-	-
(2)	Fatemeh Faraji (2)/(2016)	Tehran	P. aeruginosa	CF (سیستیک فیبروزیس)، زخم سوختگی، خلط، سواب دهان و حلق، ششهای پرونش آلوتولار (BAL)	114	102 (98/4)	75 (65/7)	82 (71/9)	-	-	-	-	-	-	-
(20)	S. Derakhshan (20)/(2021)	Kurdistan	P. aeruginosa	نمونه های مختلف بیماران	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 (86/8)	73 (86/8)	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	29 (39/7)	36 (49/3)	41 (54/7)	-	-	-	29 (39/7)	-	-	-
(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)	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 (39/3)	17 (51/5)
(23)	Sanaz Dehbashi (23)/(2020)	Hamadan	P. aeruginosa	زخم سوختگی، کشت خون کاتتر 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 بیماران CF	143	138 (96/5)	47 (32/8)	132 (92/3)	124 (86/7)	13 (9/1)	23 (16/1)	-	92 (64/3)	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 Dadmanesh (5)/(2014)	Tehran	P. Aeruginosa	مجاری ادراری	23	0 (21/7)	5 (21/7)	0 (0)	8 (34/7)	1 (4/3)	1 (4/3)	10 (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)		P. aeruginosa	منابع انسانی	100	-	-	-	-	-	-	8 (16)	-	-	-
	Total				2001	984	594	854	327	165	97	198	193	275	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 $(46/9-74)$ 61/6 درصد بوده است (تصویر شماره 3).



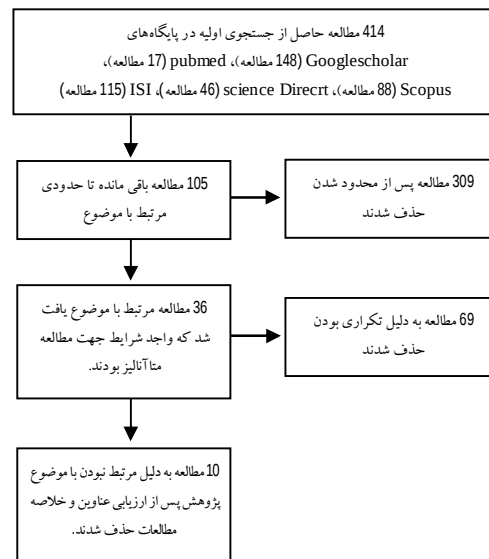
تصویر شماره 3: نمودار انباشت (Plot Forest) فراوانی ژن AlgD

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 $(44/4-91)$ 74 درصد بوده است (تصویر شماره 4).



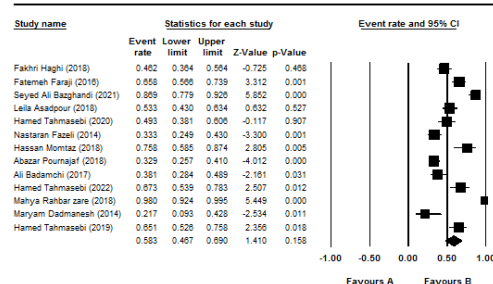
تصویر شماره 4: نمودار انباشت (Plot Forest) فراوانی ژن AlgU

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



فلوچارت شماره 1: فلوچارت بررسی و جستجوی مطالعات وارد شده در متا آنالیز

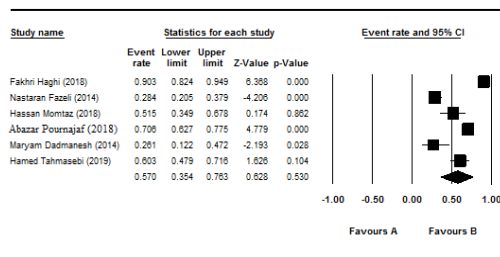
در بررسی مطالعات فراوانی ژن plcN در بین مطالعات اولیه از 21/7 درصد در مطالعه Dadmanesh الی 98 درصد در مطالعه Mahya Rahbar zare متغیر بوده است (25.5). ضمناً با توجه به وجود هتروژنیسی در مطالعات انجام شده $P=0/00$, $Q=132/79$, $I^2=90/96\%$ از مدل اثر تصادفی جهت برآورد کلی استفاده شد که میزان آن با فاصله اطمینان 95 درصد برابر $(46/7-69)$ 58/3 درصد بوده است (تصویر شماره 2).



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

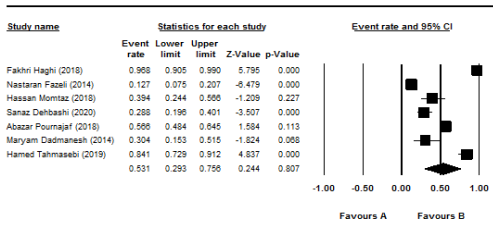
در بررسی مطالعات فراوانی ژن AlgD در بین مطالعات اولیه از 0 درصد در مطالعه Dadmanesh الی 98 درصد

مطالعات انجام شده $P=0/00$ ، $Q: 79/98$ ، $I^2: 93/74\%$ 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

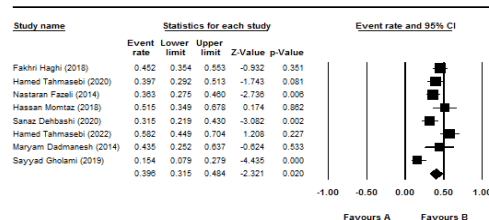
در بررسی مطالعات فراوانی ژن Phz1 در بین مطالعات اولیه از 12/7 درصد در مطالعه Nastaran Fazeli الی 96/7 درصد در مطالعه Fakhri Haghi متغیر بوده است (7،1). ضمناً با توجه به وجود هتروژنیسیته در مطالعات انجام شده $P=0/00$ ، $Q: 117/49$ ، $I^2: 94/89\%$ از مدل اثر تصادفی جهت برآورد کلی استفاده شد که میزان آن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

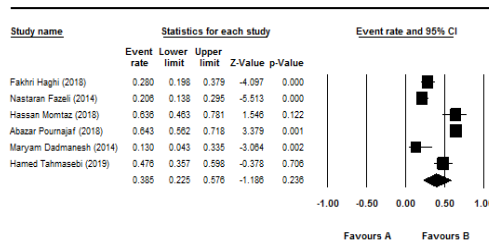
در بررسی مطالعات فراوانی ژن PhzS در بین مطالعات اولیه از 19/6 درصد در مطالعه Nastaran Fazeli الی 64/3 درصد در مطالعه Abazar Pournajaf متغیر بوده است (8،1). ضمناً با توجه به وجود هتروژنیسیته در مطالعات انجام شده $P=0/00$ ، $Q: 54/85$ ، $I^2: 92/70\%$ از مدل اثر تصادفی جهت برآورد کلی استفاده شد که

58/1 درصد در مطالعه Hamed Tahmasebi متغیر بوده است (24،13). ضمناً با توجه به وجود هتروژنیسیته در مطالعات انجام شده $P=0/00$ ، $Q: 24/36$ ، $I^2: 71/26\%$ 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).



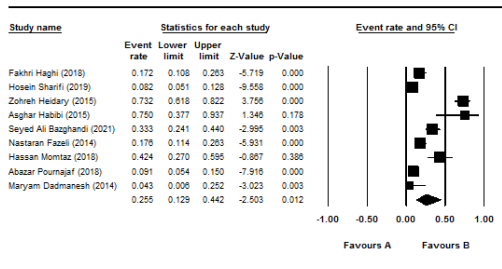
تصویر شماره 5: نمودار انباشت (Plot Forest) فراوانی ژن Phzm

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 $P=0/00$ ، $Q: 64/87$ ، $I^2: 92/29\%$ 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

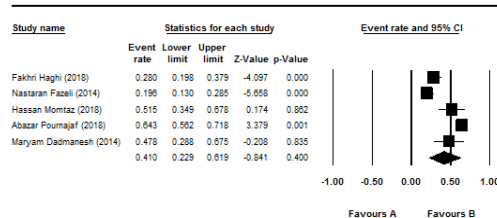
هم چنین نتایج publication bias با استفاده از Egger test نشان می دهد که publication bias در بین ساب گروه ها وجود دارد ($P < 0/05$).

بحث

در مطالعه حاضر شیوع ژن های ویروانس 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).

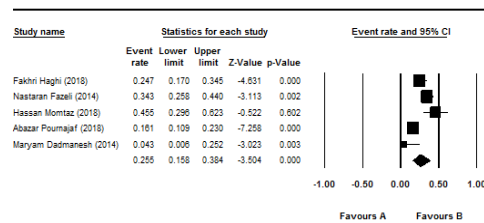
مطالعه حقی و همکاران که روی 93 ایزوله سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از عفونت های زخم سوختگی را برای حساسیت ضد میکروبی و توزیع

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 (5,3). 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 (18,5). 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)، سیپروفلوکساسین (39/13 درصد) و نتیل مایسین (34/78 درصد) مشاهده شد، در حالی که مقاومت در برابر پِپراسیلین و ایمپنم 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 تأثیر 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 *phzM*، *phzH*، *phzI*، *phzS*، *phzI*، *phzH*، *phzM*، *algD*، *algU*، *pilB* و *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، به‌طوری 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

بدین‌وسیله 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 پِپراسیلین (41/9 درصد) مشاهده شد. شایع‌ترین ژن ویروالانس (96/7 درصد) *plcH*، (96/7 درصد) *phzI* و (90/3 درصد) *phzII* بود. فراوانی (2/17 درصد) *pilB*، (24/7 درصد) *pilA* و *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 *lasB* (100 درصد) و *plcB* (100 درصد)، *plcH* (96/5 درصد) گزارش گردید. اکثر ژن‌های کدکننده آلزینات به ترتیب 92/3، 86/7 و 67/1 درصد برای ژن‌های *algU*، *algD* و *algL* بودند. ژن‌های *pprY*، *pslA* و *pelA* به ترتیب در 98/6، 89/5 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, Nazarian 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, Tabatabaei 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. Taei 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 β -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- β -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).