مقاله پژوهشی

# مطالعه فراوانی ژن‌های *LasI*، *AlgD* و مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه (MDR) در *سودوموناس*‌های جداشده از نمونه‌های عفونی مراکز درمانی شهرستان فسا

**مرضیه دهقانیان[۱]، عباسعلی رضائیان[۲*]**

۱- گروه میکروبیولوژی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

۲- گروه میکروبیولوژی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۳/۲۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۹/۲۸

## چکیده

**زمینه و هدف:** *سودوموناس آئروجینوزا* یکی از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زای ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی بوده که دارای مقاومت نسبت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها است. همچنین حضور ژن *LasI* و *AlgD* به قدرت بیماری‌زایی این باکتری کمک می‌کند. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی ژن‌های یادشده و مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ارتباط معنی‌دار بین آن‌ها بوده است.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه مقطعی- توصیفی بر روی ۹۱ ایزوله سودوموناس جداشده از مراکز درمانی شهرستان فسا انجام شد. پس از انجام تست‌های استاندارد بیوشیمیایی و میکروبیولوژی، تمامی سویه‌ها ازلحاظ حضور ژن‌های *LasI* و *AlgD* به روش PCR ارزیابی شدند و تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن و MIC انجام گرفت. آنالیز آماری توسط نرم‌افزار SPSS20 انجام شد.

**نتایج:** از ۹۱ جدایه، (۵۹٪/۳۴) ۵۴ نمونه *سودوموناس آئروجینوزا* و (۴۰٪/۶۶)۳۷ نمونه سایر گونه‌ها تشخیص داده شدند. نتایج تعیین الگوی مقاومت دارویی برای هر دو گروه نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به سفپیم به وجود آمده است. ۴۰ ایزوله *سودوموناس آئروجینوزا* و ۳۰ ایزوله سایر گونه‌ها، تست MIC نسبت به سفپیم را $\geq$ 16 µg/ml نشان دادند. تمام جدایه‌ها واجد ژن *AlgD* بوده‌اند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه، مقاومت بالایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در بین سویه‌های *سودوموناس آئروجینوزا* و سایر سویه‌ها نشان داد. همراهی ژن‌های کروم‌سنسینگ و ژن مولد آلژینات با ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌تواند وخامت درگیری با این گروه از باکتری‌ها را بیشتر نماید.

**کلمات کلیدی:** *سودوموناس آئروجینوزا*، *LasI*، *AlgD*

## مقدمه

*سودوموناس آئروجینوزا* یک پاتوژن فرصت‌طلب انسانی است که باعث ایجاد عفونت‌های متعددی در ارگان‌های مختلف بدن ازجمله چشم، گوش، دستگاه تنفسی و مجاری ادراری می‌شود. این باکتری دارای ویژگی‌های فنوتیپی مختلفی است که آن را قادر می‌سازد در شرایط محیطی متفاوت بقا داشته باشد (۱). یکی از دلایل سازگاری این باکتری، ارتباط آن با سایر باکتری-هاست. این ارتباط از طریق سیستم کروم‌سنسینگ انجام می-گیرد که در آن باکتری‌ها مولکول‌های شیمیایی را بانام خودالقاگر آزاد می‌کنند (۲). سیستم کروم‌سنسینگ *سودوموناس آئروجینوزا* از دو جفت ژن اصلی تشکیل شده است. یک جفت شامل ژن‌های *Las I* و *Las R* است و جفت دیگر بانام *Rh1*، از ژن‌های *Rh1 R* و *Rh1 I* تشکیل شده است (۳). در *سودوموناس آئروجینوزا* بیان بسیاری از فاکتورهای بیماری‌زا توسط سیستم کروم‌سنسینگ کنترل می‌شود؛ بنابراین با توجه به نقش این مکانیسم در تنظیم و تولید بسیاری از فاکتورهای بیماری‌زا، عملکرد کروم‌سنسینگ برای ایجاد بیماری و عفونت *سودوموناس آئروجینوزا* ضروری است (۴-۵).

از سوی دیگر آلژینات به‌عنوان یک ماتریکس خارج سلولی عمل می‌کند که تشکیل بیوفیلم‌های تمایزیافته را امکان‌پذیر می‌سازد و موجب مقاومت آنتی‌بیوتیکی و جلوگیری از فاگوسیتوز از طریق سیستم ایمنی میزبان می‌شود (۶). جهت بیوسنتز

*نویسنده مسئول: **عباسعلی رضائیان**، گروه میکروبیولوژی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران

Email: rezaeianfon45@gmail.com

https://orcid.org/0000-0003-3284-4788

[ Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2025-04-05 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.1.7.0 ]

آلژینات، ۱۲ ژن ازجمله *algD*، *alg8*، *alg44*، *algK*، *algE*، *algG*، *algX*، *algL*، *algI*، *algJ*، *algF* و *algA* در یک اپرون قرار دارند که توسط پروموتور AlgD به‌شدت کنترل می‌شوند (۷-۸).

سیستم کروم‌سنسینگ علاوه بر دخالت در بیماری‌زایی، یک ژن اختصاصی گونه بوده که می‌توان با طراحی پرایمر اختصاصی آن (به‌عنوان‌مثال طراحی پرایمر *LasI*) با حساسیت بسیار بالا، *سودوموناس آئروجینوزا* را از سایر گونه‌ها به روش PCR جدا نمود (۹).

بنابراین با توجه به نقش سیستم کروم‌سنسینگ *سودوموناس آئروجینوزا* در بیماری‌زایی و نیز افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این باکتری، هدف از این مطالعه ارزیابی ارتباط تولید آلژینات، سیستم کروم‌سنسینگ و مقاومت چند آنتی‌بیوتیکی در میان سودوموناس‌های جداشده از نمونه‌های بالینی است.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه مقطعی- توصیفی در یک دوره ۴ ماهه (اسفندماه ۹۵ الی خردادماه ۹۶) بر روی ۱۲۰ نمونه بالینی جمع‌آوری‌شده از زخم‌های سوختگی و عفونت‌های ادراری بیماران مراجعه‌کننده به مراکز درمانی شهرستان فسا ازجمله بیمارستان ولیعصر، انجام پذیرفت. نمونه‌ها بر روی محیط کشت‌های بلاد آگار و نوترینت آگار کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری پلیت‌ها ازنظر وضعیت کلنی، مورفولوژی کلنی، بوی کلنی، همولیز، رنگ‌دانه‌های تولیدی موردبررسی قرار گرفتند. برای کلنی‌های برجسته و موکوئیدی و دارای همولیز، رنگ‌آمیزی گرم و سپس تست‌های بیوشیمیایی گذاشته شد. کلنی‌هایی که کاتالاز، اکسیداز، سیترات، حرکت و Open OF مثبت، LD، OD و اوره آز منفی بودند، به‌عنوان جنس سودوموناس انتخاب شدند و برای مرحله بعد در گلیسرول ۱۰ درصد نگهداری شدند (۱۰).

به‌منظور انجام Simple PCR، استخراج DNA ژنومی از سویه‌های نگهداری شده در گلیسرول ۱۰ درصد انجام شد. استخراج DNA بر اساس روش جوشاندن انجام گرفت. برای تکثیر ژن‌های *16s rRNA*، *LasI* و *AlgD* از توالی اختصاصی الیگونوکلئوتیدی پرایمرهای تهیه‌شده از شرکت پیشگام (تهران، ایران) استفاده شد. توالی الیگونوکلئوتیدی پرایمرها و پروتکل دمایی در جدول ۱ نشان داده شده است.

**جدول ۱**- توالی پرایمرها پروتکل‌های دمایی مورداستفاده

| ژن | اندازه محصول | Sequence (5'->3') | | واسرشت اولیه | واسرشت | اتصال | طویل شدن | طویل شدن نهایی |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *16s rRNA* | ۱۹۸ | *F: 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAGT-3'*<br>*R: 5'-TATTACCGCGGCTGCTGGC-3'* | دما (°C) | ۹۴ | ۹۴ | ۵۷/۵ | ۷۲ | ۷۲ |
| | | | زمان | ۵ دقیقه | ۴۵ ثانیه | ۳۰ ثانیه | ۱ دقیقه | ۵ دقیقه |
| | | | تعداد سیکل | | | ۳۰ | | |
| *LasI* | ۶۰۷ | *F: 5'- ATGATCGTACAAATTGGTCGG-3'*<br>*R: 5'-GTCATGAAACCGCCAGTC-3'* | دما (°C) | ۹۵ | ۹۵ | ۵۸ | ۷۲ | ۷۲ |
| | | | زمان | ۵ دقیقه | ۳۰ ثانیه | ۳۰ ثانیه | ۳۰ ثانیه | ۵ دقیقه |
| | | | تعداد سیکل | | | ۳۰ | | |
| *AlgD* | ۵۲۰ | *F:5'-TTCCCTCGCAGAGAAAACAT-3'*<br>*R;5'-CCTGGTTGATCAGGTCGATCT-3'* | دما (°C) | ۹۵ | ۹۴ | ۶۲ | ۷۲ | ۷۲ |
| | | | زمان (دقیقه) | ۴ | ۱ | ۱ | ۱ | ۷ |
| | | | تعداد سیکل | | | ۳۵ | | |

[ Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2025-04-05 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.1.7.0 ]

جهت تأیید درجه خلوص DNA استخراج‌شده، از دستگاه نانودراپ استفاده گردید. درنهایت، واکنش PCR به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس شرکت سیناژن، ۵/۵ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه، ۲/۵ میکرولیتر از هرکدام از پرایمرها به غلظت ۱۰ پیکومول و ۲ میکرولیتر DNA الگو با استفاده از پروتکل دمایی نشان داده شده در جدول ۱، انجام گرفت. در پایان، محصولات واکنش PCR در ژل آگارز ۱٪ در مقایسه با سویه *سودوموناس آئروجینوزا* ATCC 37853، برای استانداردسازی آنالیز گردید.

برای کلیه نمونه‌ها، جهت بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی کشت بر روی محیط مولرهینتون انجام شد. آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی شامل آمیکاسین (۳۰µg)، جنتامایسین (۱۰µg)، توبرامایسین (۱۰µg)، سیپروفلوکساسین (۵µg)، سفتازیدیم (۳۰µg)، مروپنم (۱۰µg)، ایمی‌پنم (۱۰µg)، سفپیم (۳۰µg)، پیپراسیلین (۱۰۰µg) و نورفلوکساسین (۱۰µg) محصول شرکت کیمیا دارو بودند. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد میزان حساسیت و یا مقاومت باکتری به آنتی‌بیوتیک-ها با توجه به جدول CLSI 2017، موردبررسی قرار گرفت (۱۱).

برای انجام آزمون MIC از محیط مولرهینتون‌براث و آنتی-بیوتیک سفپیم محصول شرکت کیمیا دارو استفاده گردید. جهت انجام این آزمون، ۰/۰۲۵۶ گرم از پودر آنتی‌بیوتیک در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و سپس در مراحل تهیه رقت مورداستفاده قرار گرفت. در رقت‌های ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴ و ۱۲۸ رشد باکتری بر اساس جدول *CLSI2017* موردمطالعه قرار گرفت.

## نتایج

بر اساس نتایج بیوشیمیایی و روش مولکولی PCR جهت *16s RNA*، از ۱۲۰ نمونه جمع‌آوری‌شده، ۹۱ نمونه سودوموناس جدا شد. بر اساس نتایج حاصل از PCR ژن *LasI* از ۹۱ نمونه

**جدول ۲**- نتایج حاصل از PCR ژن‌های *16S rRNA*، *LasI* و *AlgD*

| | 16S rRNA | las1 | AlgD | Frequency |
|---|---|---|---|---|
| *سودوموناس آئروجینوزا* | + | + | + | ۵۴ (٪۵۹/۳۴) |
| *سایر سودوموناس ها* | + | - | + | ۳۷ (٪۴۰/۶۶) |

**جدول ۳**- مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ در جدایه‌های موردمطالعه

| | | | *سودوموناس آئروجینوزا* | *سایر گونه‌های سودوموناس* |
|---|---|---|---|---|
| | | Resistance zone | P value ≤۰/۰۵ | P value ≤۰/۰۵ |
| Class I | Piperacllin | ≤۱۴ | ۰/۹۸۱ | ۰/۹۴۶ |
| Class II | Ceftazidime | ≤۱۴ | ۰/۵۴۱ | ۰/۴۵۸ |
| | Cefepime | ≤۱۴ | ۰,۰۰۰ | ۰/۰۰۱ |
| Class III | Imipenem | ≤۱۵ | ۰/۰۸۷ | ۰/۴۵۷ |
| | Meropenem | ≤۱۵ | ۰,۰۰۰ | ۰/۰۲۰ |
| Class IV | Amikacin | ≤۱۴ | ۰/۶۸۷ | ۰/۰۹۶ |
| | Gentamicin | ≤۱۲ | ۰/۱۸۵ | ۰/۰۱۵ |
| | Tobramycin | ≤۱۲ | ۰,۰۰۰ | ۰,۰۰۰ |
| Class V | Ciprofloxacin | ≤۱۵ | ۰,۰۰۰ | ۰/۰۱۱ |
| | Norfloxacin | ≤۱۲ | ۰,۰۰۰ | ۰,۰۰۰ |

[ Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2025-04-05 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.1.7.0 ]

سودوموناس جداشده، ۵۴(۵۹٪/۳۴) نمونه *سودوموناس آئروجینوزا* و (۴۰٪/۶۶) ۳۷ نمونه سایر سودوموناس‌ها بودند. همه نمونه‌ها واجد ژن *AlgD* بودند. نتایج در جدول ۲ نشان داده شده است.

نتایج حاصل از PCR بر روی ژل آگاروز برای شناسایی حضور ژن‌های *16s rRNA*، *LasI* و *AlgD* در شکل‌های ۱،۲ و۳ آورده شده است.

بر اساس نتایج حاصل از آنتی‌بیوگرام و با استفاده از نرم‌افزار SPSS20 در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ درصد مشاهده شد که جمعیت *سودوموناس آئروجینوزا* موردمطالعه نسبت به آنتی-بیوتیک‌های سفپیم، مروپنم، توبرامایسین، سیپروفلوکساسین و نورفلوکساسین مقاومت پیدا نموده‌اند. همچنین جمعیت سایر *سودوموناس*‌های موردمطالعه نیز نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفپیم، مروپنم، جنتامایسین، توبرامایسین، سیپروفلوکساسین و نورفلوکساسین مقاومت پیدا کرده‌اند. در جدول ۳ یافته‌های حاصل از آزمون آنتی‌بیوگرام نشان داده شده است.

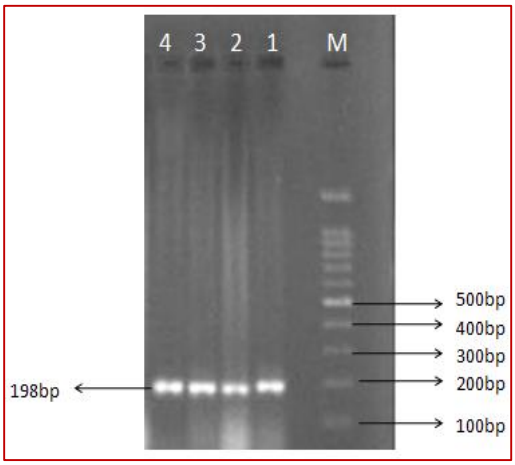
بر اساس آزمون کای‌مربع مشخص شد که در سطح ۰/۰۵ رابطه معنی‌داری در پاسخ *سودوموناس آئروجینوزا*های مورد آزمایش به برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها مصرفی وجود دارد، به‌طوری‌که مصرف هم‌زمان این آنتی‌بیوتیک‌ها و یا جایگزینی یکی به‌جای دیگری، تأثیری در درمان نخواهد گذاشت.

پس از آنالیز سویه‌های مقاوم مشخص گردید که ۹۴/۴۵٪ از *سودوموناس آئروجینوزا* و ۹۷/۳٪ از سایر *سودوموناس*‌ها جزء گروه MDR بوده‌اند. نکته قابل‌توجه این است که سویه‌های غیر از *آئروجینوزا* ۱/۰۳ بار مقاوم‌تر بوده‌اند، به‌طوری‌که نمی‌توان خطر آن‌ها را نادیده گرفت.

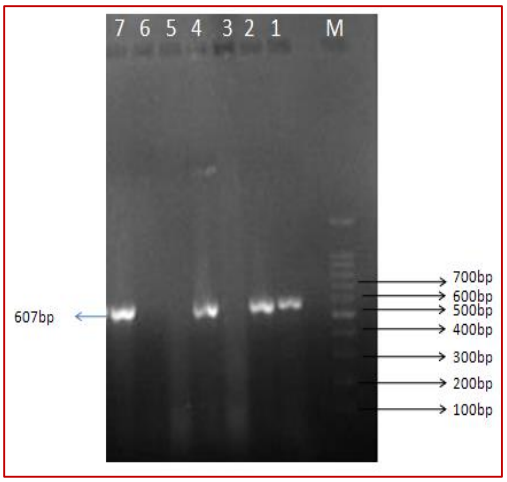
سویه‌های موردمطالعه در تست MIC، در غلظت‌های ۱۲۸، ۶۴، ۳۲ و ۱۶ میکروگرم سفپیم، قابلیت رشد نداشتند و حداقل غلظت آنتی‌بیوتیک که توانایی مقابله با باکتری را دارد، غلظت ۱۶ میکروگرم بود.

## بحث

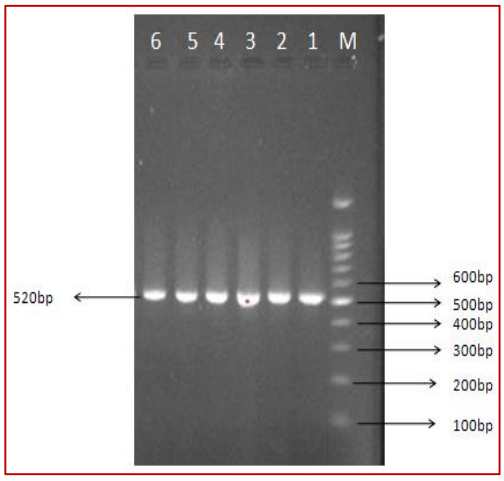
*سودوموناس آئروجینوزا* یک باکتری پاتوژن فرصت‌طلب بیمارستانی است که به علت دارا بودن مقاومت ذاتی و اکتسابی به آنتی‌بیوتیک‌های معمول مرگ‌ومیر ناشی از عفونت‌های آن بسیار شایع است لذا شناسایی سریع و دقیق باکتری می‌تواند در کنترل عفونت و کاهش مرگ‌ومیر مؤثر باشد (۱۲).




**شکل ۱**- نتیجه انجام PCR برای شناسایی حضور ژن 16s rRNA بر روی ژل آگاروز ۱٪. (M: مارکر، ۱: کنترل مثبت، ۴-۲: نمونه‌های مثبت)




**شکل ۲**- نتیجه انجام PCR برای شناسایی حضور ژن lasI بر روی ژل آگاروز ۱٪. (M: مارکر، ۱: کنترل مثبت، ۲، ۴، ۷: نمونه‌های مثبت)




**شکل ۳**- نتیجه انجام PCR برای شناسایی حضور ژن AlgD بر روی ژل آگاروز ۱٪. (M: مارکر، ۱: کنترل مثبت، ۶-۲: نمونه-های مثبت)

[ Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2025-04-05 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.1.7.0 ]

به دلیل اهمیت مقاومت دارویی در درمان عفونت‌های سوختگی و زخم جهت کمک به بهبود روند درمانی در این مطالعه به بررسی مقاومت دارویی و عوامل مرتبط با مقاومت دارویی پرداخته شده است.

ازجمله عوامل حدت *سودوموناس آئروجینوزا* می‌توان به *lasI* و آلژینات اشاره کرد. *lasI* ازجمله واحدهای تشکیل‌دهنده سیستم کروم‌سنسینگ است که علاوه بر نقش در بیماری‌زایی می‌توان به کمک آن *سودوموناس‌آئروجینوزا* را با دقت بسیار بالا، از سایر گونه‌های سودوموناس جدا نمود.

آقاملایی در سال ۱۳۹۲، *lasI* را به‌عنوان یک ژن اختصاصی *سودوموناس* معرفی نمود. در این مطالعه از بین ۱۲۰ نمونه گرفته‌شده، به‌وسیله تست‌های بیوشیمیایی و PCR ژن‌های *16s rRNA* و *lasI*، ۹۱ سویه *سودوموناس* جدا گردید و از این تعداد، ۵۴ سویه (۵۹/۳۴٪) *سودوموناس‌آئروجینوزا* و ۳۷ سویه (۴۰٪/۶۶) سایر گونه‌های *سودوموناس* بودند.

در مطالعه حاضر ۱۰ آنتی‌بیوتیک از ۵ کلاس مختلف انتخاب شد که پس از انجام تست آنتی‌بیوگرام مشخص شد که بیشترین مقاومت دارویی در سویه‌ی *سودوموناس‌آئروجینوزا* مربوط به آنتی‌بیوتیک سفپیم (۷۷٪/۷۷) و پیپراسیلین (۴۰٪/۰۷) و کمترین مقاومت مربوط به مروپنم (۹٪/۲۶) بود. در سایر سویه‌های *سودوموناس* بیشترین مقاومت مربوط به سفپیم (۸۱٪/۰۸) و ایمی‌پنم (۴۵/۹۵٪) و کمترین مقاومت مربوط به توبرامایسین (۸٪/۱۱) بود.

طبق مطالعاتی که رحیمی و همکاران در سال ۱۳۹۱، بر روی ۱۰۰ نمونه *سودوموناس* جداشده از بیماران بستری در بیمارستان‌های اراک داشتند، بیشترین مقاومت را نسبت به ایمی‌پنم و مروپنم (۳۵٪) و بیشترین حساسیت را نسبت به آمیکاسین (۹٪) گزارش کردند (۱۳). آدابی و همکاران در مطالعه‌ای در سال ۱۳۹۳، بیشترین مقاومت را نسبت به سفپیم (۸۹٪/۵) گزارش کردند (۱۴). جودزاده و همکاران در سال ۲۰۱۵، بیشترین مقاومت را مربوط به سفپیم (۵۵/۴٪) و مروپنم (۵۰٪) اعلام کردند (۱۵).

مقایسه مطالعه انجام‌شده با برخی از مطالعات صورت گرفته در سال‌های اخیر نشان‌دهنده‌ی مغایرتی با یکدیگر است که این اختلاف نتایج می‌تواند به دلیل اختلاف در جامعه آماری و همچنین شرایط جغرافیایی جمع‌آوری نمونه باشد. همچنین در شرایط جغرافیایی مختلف سروتایپ‌های مختلفی از یک باکتری می‌تواند مشاهده شود که دارای جهش‌های متفاوت نسبت به زیستگاه خود است.

طبق نتایج به‌دست‌آمده از تحقیقات انجام‌شده در رابطه با مقاومت دارویی باکتری *سودوموناس‌آئروجینوزا* در سال‌های اخیر می‌توان اظهار داشت که این باکتری در برابر آنتی‌بیوتیک‌های سفپیم و پیپراسیلین دارای مقاومت بیشتری نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها است و این دارو، انتخاب مناسبی برای درمان عفونت‌های سودوموناسی نیست. مناسب‌ترین دارو برای درمان عفونت‌های ناشی از *سودوموناس‌آئروجینوزا* مروپنم است که پس از بررسی، *سودوموناس‌آئروجینوزا* دارای کمترین مقاومت و بیشترین حساسیت نسبت به این آنتی‌بیوتیک بود.

وانگ در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۳ انجام داد اظهار کرد که ایزوله‌های *سودوموناس‌آئروجینوزای* معیوب در کروم‌سنسینگ در تولید فاکتورهای بیماری‌زا نیز معیوب بوده و نسبت به آنتی-بیوتیک‌هایی که بر روی سیستم کروم‌سنسینگ اثرگذار بودند، مقاوم بودند (۱۶). لیانگ در مطالعه خود در سال ۲۰۱۴، VqsM را به‌عنوان کنترل‌کننده تولید فاکتورهای بیماری‌زایی و نیز مولکول‌های سیگنالینگ کروم‌سنسینگ معرفی کرد که به‌طور مستقیم به ناحیه پروموتور *LasI* متصل می‌شود و بیان آن را تنظیم می‌نماید (۱۷).

آلژینات نیز یکی از عوامل ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی است که در مطالعه انجام‌شده توسط تیالین در سال ۲۰۱۳ بیان شد که برهمکنش بین LipA و آلژینات موجب خنثی‌سازی آنزیم و تجمع درون بیوفیلم‌ها می‌شود. درنتیجه سلول را از تجزیه توسط سوبستراها محافظت می‌کند (۱۸). ولدبیگی در مطالعه خود در سال ۱۳۹۰، نشان داد که آلژینات جزء فاکتورهای بیماری‌زای *سودوموناس‌آئروجینوزا* است و در عفونت‌های ادراری و سوختگی دارای اهمیت است (۱۹).

در مطالعه حاضر بین تولید آلژینات و *16s rRNA* ارتباط معنی‌داری وجود دارد. *AlgD* در تمامی سویه‌های *سودوموناس* جداشده، دیده شد؛ بنابراین شاید بتوان علاوه بر *LasI*، از پرایمر *AlgD* در جداسازی سویه‌های *سودوموناس* کمک گرفت.

دهدوه در مطالعه خود در سال ۲۰۱۴، اهمیت غلظت پیشگیری از جهش را بیان نمود و نشان داد که در غلظت کم آنتی‌بیوتیک در درمان *سودوموناس‌آئروجینوزا* موجب تولید دو

[ Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2025-04-05 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.1.7.0 ]

محصول KPC و MBL برای مقابله با آنتی‌بیوتیک می‌شود. درنتیجه تعیین MIC و MPC قبل از درمان ضروری به نظر می‌رسد (۲۰).

## نتیجه‌گیری

این مطالعه باهدف بررسی ارزیابی ارتباط تولید آلژینات، بیان ژن *LasI* (سیستم کروم‌سنسینگ) و مقاومت چند آنتی‌بیوتیکی در بین *سودوموناس* های جداشده از نمونه‌های بالینی بیماران مراجعه‌کننده به مراکز درمانی شهرستان فسا انجام گرفت. مشاهده شد که تمامی سویه‌های *سودوموناس* جداشده دارای آلژینات می‌باشند که می‌تواند در بیماری‌زایی *سودوموناس* نقش داشته باشد. تاکنون تصورات بر این بود که مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *سودوموناس آئروجینوزا* بیشتر از سایر گونه‌ها است اما با توجه به پژوهش حاضر مشخص گردید که مقاومت آنتی‌بیوتیکی سایر سویه‌های *سودوموناس* نیز در حال افزایش است و می‌بایست جهت پیشگیری از افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی این سویه‌ها، مطالعات گسترده صورت گیرد.

همچنین ازآنجاکه در این پژوهش جمعیت سایر *سودوموناس-های غیرآئروجینوزا* تنوع مقاومتی بیشتری از خود نشان دادند این احتمال وجود دارد که در محیط و در اثر تبادلات ژنـتـیـکی ژن‌های مقاومت از بین اعضا فامیل *سودوموناس* به چرخش درآمده و به‌زودی شاهد شیوع بیشتر سویه‌هایی باشیم که به تمام آنتی‌بیوتیک‌ها از خود مقاومت نشان می‌دهند. لذا می‌بایست خطر سایر گونه‌های *سودوموناس* را جدی گرفت. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان چنین بیان نمود که پرایمر ژن *LasI* اختصاصی در حد گونه عمل می‌نماید، لیکن از پرایمر ژن *AlgD* می‌توان برای جداسازی جنس به‌راحتی استفاده کرد زیرا ظاهراً این ژن در *سودوموناس* ها به‌صورت همولوگ است.

## تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه خانم مرضیه دهقانیان دانشجوی کارشناسی ارشد رشته میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز به کد ثبتی ۱۶۳۳۰۵۰۷۹۵۲۰۰۱ استخراج شده است. نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند تا از کارکنان آزمایشگاه پژوهشی بخش میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم که در انجام مراحل این تحقیق همکاری نموده‌اند، تشکر و قدردانی به عمل‌آورند.

## تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

## References

1. Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The bacteria cell envelope. Cold Spring HarbPerspectBiol, 2010; 2(5): 414.
2. Andrejko M, Agnieszka ZB, Janczarek M, Cytryńska M. Three *Pseudomonas aeruginosa* strains with different protease profiles. ActaBiochim Pol, 2013;60(1):83-90
3. Lee J, Zhang L, The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. Protein Cell, 2015; 6(1): 28-41.
4. Moosazadeh-Moghaddam M, Kohi S, Mirhosseini A, Ouarum sensing in bacteria and glance on *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Microbial, 2014; 3(4): 156
5. Tashiro Y, Yawata Y, Toyofuku M, Nomura N. Interspecies interaction between *Pseudomonas aeruginosa* and other microorganisms. Microbes Wnviron, 2013; 28(1): 13-24.
6. Fata Moradali M, Donati I, Sims IM, Ghods S, Rehm BHA. Alginate polymerization and modification are linked in *Pseudomonas aeruginosa*. MBio, 2015; 6(3):e00453-15.
7. Hay ID, Rehman ZU, Fata Moradali M, Wang Y, Rehm BH. Microbial laginate production, modification and its application. Microbe Biotechnology, 2013; 6(6): 637-650.
8. Maleki S, Almaas E, Zotchev S, Valla S, Ertesvåg H. Alginate biosynthesis factories in *Pseudomonas fluorescens*: localization and correlation with alginate production level. Appl Environ Microbiol, 2016;82:1227–1236.
9. Aghamollaee H, AziziBarjini K, MoosazadehMoghadam M. Rapid detection of *Pseudomonas aeruginosa* by PCR method using specific primers of quorum sensing *LasI* gene. YUMSJ, 2013; 9: 722-735. [Article in Persian]
10. Hall GS, McDermott C, Grant GD. Toxins (Basel), 2016; 8(8): 236.
11. Patel JB, Weinstein MP, Eliopoulos GM *et al.* Clinical and Laboratory Standards Insitutue. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing in: M100-S23, 27rd ed. Pennsylvania, 2017; 42-44.

[ Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2025-04-05 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.1.7.0 ]

12. Khorramrooz S, Gharibpour F, Parhizgari N *et al.* Prevalence of class 1 integron and antibiotic resistance among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients admitted to the burn unit at Taleghani hospital in Ahvaz.AMUJ, 2015; 18(96): 9-18 [Article In Persian]
13. Rahimi B, Shojapour M, Sadeghi AR, Pourbabaei AA. The study of the antibiotic resistance pattern of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from hospitalized patients in Arak. AMUJ, 2012; 15(6): 8-14. [Article in Persian]
14. Adabi M, TalebiTaher M, Arabi L, Afshar M, Fathizadeh S, Minaeian S *et al.* Determination of antibiotic resistance pattern of *Pseudomonas aeroginosa* strains isolated from patients with burn wounds. JARUMS, 2015; 15(1): 66-74. [Article In Persian]
15. Joodzadeh M. Farajzadeh Sheikh A. Shahin M. Tavakol H. Correlation of frequency of *Pseudomonas aeruginosa*and *Exou* genes and their antibiotic sensitivity pattern in specimen isolated from ICU ward. International Journal of Medical Research & Health Sciences, 2016; 5(6): 248-254.
16. Wang H. Tu F. Gui Z. Antibiotic resistance profile and quorum sensing – dependent virulence factors in clinical isolates of *Pseudomonas aeroginosa*. Indian J Microbiol, 2013; 53(2): 163-167.
17. Liang H, Deng X, Li X, Ye Y, Wu M. Molecular mechanisms of mater regulator VqsM mediating quorum –sensing ana antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Nucleic Acid Research, 2014; 42(6): 10307-10320.
18. Tielen P. Kuhn H. Rosenau F. Jaeger KE. Flemmin HC. Wingender J. Interaction between extracellular lipase LipA and the polysaccharide alginate of *Pseudomonas aeruginosa*. BMC Microbiology, 2013; 13:159.
19. McCaslin CA, Petrusca DN, Poirier C, Serban KA, Anderson GG, Petrache I. Impact of alginate- producing *Pseudomonas aeruginosa* -on alveolar macrophage apoptotic cell clearance. J CyctFibros, 2015; 14(1): 70-77.
20. Dahdouh E, Shoucair SH, Salem SE, Daoud Z. Mutant prevention concentration of imipenem and meropenem against *Pseudomonas aeruginosa*and *Acinetobacterbaumanni*. The Scientific World Journal, 2014; 1-7.

[ Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2025-04-05 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.1.7.0 ]

Original Article

# The Study of LasI and AlgD Genes Frequency and Multidrug Resistance (MDR) in *Pseudomonads* Isolated from Infectious Samples of Fasa Medical Centers

**Dehghaniyan M [1], Rezaeian A [2*]**

1. Department of Microbiology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
2. Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran

Received: 11 Jun 2018 Accepted: 19 Dec 2018

## Abstract

**Background & Objective:** *Pseudomonas aeruginosa* is one of the most important pathogenic bacteria causing infectious diseases that include resistance to many antibiotics. In addition, existence of *LasI*and *AlgD* gene contributes to pathogenicity of this bacterium. This study is aimed to investigate the frequency of mentioned genes, antibiotic resistance and a significant relationship between them.

**Materials & Methods:** This descriptive cross-sectional study was performed on 91 isolated Pseudomonas from Fasa medical centers. After completing biochemical and microbiological tests, all strains were evaluated by the PCR method in terms of *LasI*and *AlgD* genes existence, and antibiotic susceptibility test was performed by disk diffusion and MIC methods. Statistical analysis was performed using SPSS 20 software.

**Results:** Among 91 isolated samples, (59.34%) 54 samples of *Pseudomonas aeruginosa* and (40.66%) 37 samples of other species were detected. The results of drug resistance pattern determination for both groups showed that highest resistance to Cefepime has been established. 40 isolated *Pseudomonas aeruginosa* and 30 isolated samples of other species showed a MIC test relative to Cefepime. All isolated samples had AlgD gene.

**Conclusion:** The results of this study revealed high resistance to different antibiotics among *Pseudomonas aeruginosa* strains and other strains. Quorum sensing genes and alginate generator genes with antibiotic resistance genes can increase the severity of involvement in this group of bacteria.

**Keywords:** Pseudomonas aeruginosa, AlgD, LasI

***Corresponding Author: Rezaeian AbbasAli,** Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
Email: rezaeianfon45@gmail.com
https://orcid.org/0000-0003-3284-4788

[ Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2025-04-05 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.1.7.0 ]