

## بررسی فراوانی ژن‌های exoS و exoU در Pseudomonas aeruginosa جدا شده از بیماران سوختگی در کرمانشاه

کمال احمدی<sup>۱</sup>، سیاوش وزیری<sup>۲</sup>، سید حمیدرضا مرتضوی<sup>۳</sup>، فیض‌اله منصوره<sup>۴</sup>، ماندانا افشاریان<sup>۴</sup>، احمد تاجه‌میری<sup>۴</sup>، مهسا کاشف<sup>۴</sup>، محسن عزیزی<sup>۴</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** Pseudomonas aeruginosa یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌های عامل عفونت در بیماران سوختگی است. هدف از انجام این مطالعه، تعیین فراوانی ژن‌های exoS و exoU و الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی Pseudomonas aeruginosa جدا شده از بیماران سوختگی در کرمانشاه بود.

**روش‌ها:** در این مطالعه‌ی توصیفی-مقطعی، تعداد ۱۹۴ نمونه با استفاده از روش‌های استاندارد باکتری‌شناسی بررسی شدند. پس از سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها به روش انتشار از دیسک، از پرایمرهای اختصاصی جهت فراوانی ژن‌های exoS و exoU در میان ایزوله‌ها استفاده شد. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

**یافته‌ها:** از مجموع ۹۱ ایزوله‌ی Pseudomonas aeruginosa شناسایی شده، ۷۲ مورد (۷۹/۱ درصد) آن‌ها، Multidrug resistance (MDR) داشتند. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در برابر جنتامایسین (۷۹/۱ درصد) و سفنازیدیم (۷۴/۷ درصد) و همچنین، بیشترین حساسیت نسبت به کلیستین (۱۰۰ درصد) و پلی‌مکسین B (۹۲/۳ درصد) بود. فراوانی ژن‌های exoS و exoU برابر با ۸۰/۲ درصد و ۶۸/۱ درصد بود. بین فراوانی ژن exoU و مقاومت به سفنازیدیم ( $P = ۰/۰۴۱$ ) و سفوتاکسیم ( $P = ۰/۰۵۰$ ) از نظر آماری رابطه‌ی معنی‌داری وجود داشت.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نقش باکتری Pseudomonas aeruginosa در ایجاد عفونت‌های زخم سوختگی و نقش ژن‌های سیتوتوکسین و ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در کلونیزاسیون و بقای این باکتری، پرهیز از درمان‌های تجربی، تشخیص دقیق نوع عوامل ویروالانس (Virulence) و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی جهت انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب و کارا به منظور جلوگیری از عفونت، امری ضروری به نظر می‌رسد.

**واژگان کلیدی:** Pseudomonas aeruginosa، اگزوانزیم‌های U و S، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

**ارجاع:** احمدی کمال، وزیری سیاوش، مرتضوی سید حمیدرضا، منصوره فیض‌اله، افشاریان ماندانا، تاجه‌میری احمد، کاشف مهسا، عزیزی محسن. **بررسی فراوانی ژن‌های exoS و exoU در Pseudomonas aeruginosa جدا شده از بیماران سوختگی در کرمانشاه.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۲۸): ۴۹۶-۵۰۲

ژنتیک، انواع سرطان، سوختگی و طیف وسیعی از عفونت‌های بیمارستانی، به میزان زیادی مشاهده می‌شود (۴-۲). توانایی تحمل محدودی دمایی وسیع، نیازهای تغذیه‌ای پایین و همچنین، دارا بودن عوامل بیماری‌زایی متنوع را می‌توان از جمله عوامل مؤثر در بقای این پاتوژن در محیط‌های بیمارستانی به شمار آورد (۵). مقاومت دارویی بالا و

### مقدمه

Pseudomonas aeruginosa باسیل گرم منفی، هوازی اجباری، غیر تخمیری، فرصت‌طلب و دارای انتشار وسیع است که به عنوان یکی از عوامل ایجادکننده‌ی عفونت‌های بیمارستانی به شمار می‌رود (۱). این باکتری، در افراد دارای نقص ایمنی از جمله افراد مبتلا به بیماری‌های

۱- گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۲- دانشیار، گروه بیماری‌های عفونی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۳- استادیار، گروه اطفال، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۴- مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

## روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر از نوع توصیفی - مقطعی بود و طی یک دوره‌ی ۹ ماهه در سال ۱۳۹۵ انجام گرفت. این مطالعه، بر روی ۱۹۴ بیمار بستری در بخش سوانح سوختگی بیمارستان امام خمینی (ره) شهر کرمانشاه که دچار زخم سوختگی بودند و بیش از یک هفته آنتی‌بیوتیک مصرف نکرده بودند، انجام شد. پس از اخذ نمونه‌ی زخم سوختگی در موقع تعویض پانسمان، جمع‌آوری نمونه‌ها و انتقال آن‌ها به آزمایشگاه، نمونه‌ها بر روی محیط‌های کشت *Blood agar* و *Nutrient agar (High media, India)* کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. در ادامه، برای شناسایی و تأیید نهایی باکتری *Pseudomonas aeruginosa*، از آزمایش‌های بیوشیمیایی شامل کاتالاز، اکسیداز، سیترات، اندول، تولید پیگمان، لیزین دکربوکسیلاز، *(TSI) Triple sugar iron* و *Methyl red-Voges-Proskauer (MR-VP)* استفاده شد. ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* شناسایی شده پس از کشت در محیط *(LB) Lysogeny broth* مایع و افزودن گلیسرول (با غلظت ۲۰ درصد) در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند (۱۴).

برای شناسایی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌ها، بر اساس دستورالعمل *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*، تعداد ۱۴ دیسک آنتی‌بیوتیک شامل سفنازیدیم، سفتریاکسون، سفوتاکسیم، آمیکاسین، جتامايسين، پيپراسيلين/تازوباکتام، تیکارسیلین/کلانولیک اسید، آزرثرونام، سیپروفلوکساسین، افلوکساسین، پلی‌مکسین B، کلیستین، ایمی‌پنم و مروپنم (*MAST, England*) انتخاب و با روش دیسک دیفیوژن (*Kirby-Bauer*) و مطابق با استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند، آزمایش پیش‌گفته انجام شد (۱۵). ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa MDR* با مقاومت به بیش از سه دسته‌ی آنتی‌بیوتیکی شناسایی شد. در ادامه، ایزوله‌ها با روش *Boiling* استخراج و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) فراوانی اگزوانزیم‌های *exoS* و *exoU* با استفاده از واکنش *Polymerase chain reaction (PCR)* مورد بررسی قرار گرفت (۱۶).

واکنش *PCR*، با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر *Master mix* (شرکت سیناکلون، ایران)، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها، ۳ میکرولیتر *DNA* باکتری و آب مقطر استریل تا حجم ۲۵ میکرولیتر مورد استفاده قرار گرفت. برنامه‌ی دمایی *PCR* شامل دناتوراسیون اولیه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و به دنبال آن ۲۵ چرخه‌ی اصلی طبق جدول ۱ و در پایان، تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود.

از طرفی، کسب انواع عوامل مقاومت در *Pseudomonas aeruginosa* باعث ظهور فنوتیپ‌های جدیدی از این باکتری با نام مقاومت دارویی چندگانه (*Multidrug resistance* یا *MDR*) شده است که به طور هم‌زمان به درجات مختلفی از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت دارند (۶-۷).

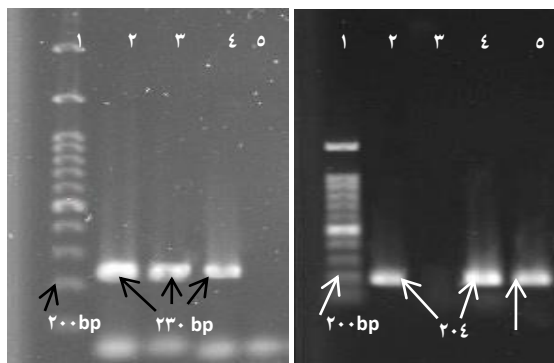
در بیماران دارای سوختگی، *Pseudomonas aeruginosa* دارای مقاومت دارویی چندگانه، شیوع بالایی دارد (۸). این باکتری، با تولید بتالاکتامازها، پمپ‌های ترشحي، تغییرات در غشای خارجی و سایر عوامل، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌شود (۹). این باکتری دارای طیف گسترده‌ای از عوامل بیماری‌زایی شامل انواع اگزوتوکسین‌ها، لیپوپلی ساکارید، پلی، فسفولیپازها، الاستاز، پروتازها، آلزینات و سایر عوامل است (۱۰). از جمله عوامل ویرولانسی (*Virulence*) این باکتری، سیتوتوکسین‌های *exoS*، *exoT*، *exoU* و *exoY* می‌باشند که از طریق سیستم ترشحي تیپ ۳ وارد سلول‌های هدف در میزبان می‌شوند. اولین اگزوانزیم‌های شناسایی شده در این گروه، عوامل *exoS* و *exoT* می‌باشند که دارای ساختار مشابهی هستند و در ۵۰ اسید آمینه‌ی اختصاصی ناحیه‌ی آمینی آن‌ها، دومین‌های ترشحي و متصل شونده به چاپرون و همچنین متصل شونده به غشا وجود دارد. مکانسیم عمل این اگزوانزیم‌ها، *Adenosine diphosphate-ribosyltransferase*، *(ADP-ribosyltransferase)* و افزایش فعالیت *GTPase* (*Guanosine triphosphatase*)ها است که در نتیجه، باعث تخریب اسکلت سلولی در میزبان می‌شوند (۱۱).

یکی دیگر از سیتوتوکسین‌های *Pseudomonas aeruginosa*، *exoU* است که دارای فعالیت فسفولیپازی می‌باشد. این آنزیم در *Pseudomonas aeruginosa*، دارای نقش مهمی در ایجاد شوک سیتیک و همچنین وخیم‌تر شدن بیماری پنومونی در بیماران است؛ به طوری که عدم وجود این عامل ویرولانسی در ریه‌ی بیماران مبتلا به پنومونی باعث کاهش شدت بیماری‌زایی *Pseudomonas aeruginosa* در آن‌ها می‌شود. *exoY*، یک آدنیلات سیکلاز ترشحي در *Pseudomonas aeruginosa* است که برای فعالیت خود به یک عامل مشترک ناشناخته در میزبان نیاز دارد و با افزایش سطح فعالیت آدنیلات سیکلاز در میزبان، باعث تغییر ساختمان و شکل سلولی می‌شود (۱۳-۱۲). با توجه به این که مطالعه‌ای در این زمینه در این منطقه انجام نشده بود، هدف از انجام این پژوهش، تعیین فراوانی ژن‌های *exoS* و *exoU* و الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* جدا شده از بیماران سوختگی در کرمانشاه بود.

جدول ۱. پرایمرها و چرخه‌های دمایی مورد استفاده در واکنش (PCR) Polymerase chain reaction

پرایمر	توالی (۵'-۳')	Denaturation ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد	Annealing ۳۰ ثانیه درجه‌ی سانتی‌گراد	Extension ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد	اندازه‌ی محصول (bp)
<i>exoS</i>	F- ATGTCAGCGGGATATCGAAC R- CAGGCGTACATCTGTTCT	۱۰ دقیقه	۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد	۴۵ ثانیه	۲۳۰
<i>exoU</i>	F- GCTAAGGCTTGCGGAATA R- AGATCACACCCAGCGGTAAC	۱۰ دقیقه	۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد	۴۵ ثانیه	۲۰۴

شد (جدول ۳). در میان ایزوله‌های مورد بررسی، ۷۲ ایزوله (۷۹/۱ درصد) MDR بود. نتایج واکنش PCR این ژن‌ها در شکل ۱ آمده است.



شکل ۱. نتایج واکنش (PCR) Polymerase chain reaction ژن‌های *exoS* و *exoU*

*exoU*: ۱- نشانگر (۱۰۰ bp)، ۲، ۴، ۵- نمونه‌ی مثبت (۲۰۴ bp)، ۳- شاهد منفی  
*exoS*: ۱- نشانگر (۱۰۰ bp)، ۲، ۳، ۴- نمونه‌ی مثبت (۲۳۰ bp)، ۵- شاهد منفی

سپس، محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز با ژل ۱ درصد و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید با دستگاه ژل داگ (Gel doc) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده، به همراه مشخصات نمونه‌های مورد بررسی جمع‌آوری گردید و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) و آزمون‌های دقیق Fisher و  $\chi^2$  مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### یافته‌ها

از مجموع ۹۱ ایزوله‌ی *Pseudomonas aeruginosa* شناسایی شده (۴۷ درصد)، ۴۹ نمونه (۵۳/۹ درصد) در زنان و ۴۲ نمونه (۴۶/۱ درصد) در مردان با میانگین سنی  $15/9 \pm 38/16$  سال و دامنه‌ی سنی ۵-۷۵ سال بود. بیشترین مقاومت در برابر جنتامایسین (۷۹/۱ درصد) و سفتازیدیم (۷۴/۷ درصد) و همچنین، بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در برابر کلیستین (۱۰۰ درصد) و پلی‌مکسین B (۷/۷ درصد) بود (جدول ۲). فراوانی ژن‌های *exoU* و *exoS* به ترتیب ۷۳ (۸۰/۲ درصد) و ۶۲ (۶۸/۱ درصد) مورد تعیین

جدول ۲. نتایج مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa*

آنتی‌بیوتیک	میزان مقاومت تعداد (درصد)	حساسیت حدواسط تعداد (درصد)	میزان حساسیت تعداد (درصد)
جنتامایسین	۷۲ (۷۹/۱)	۳ (۳/۳)	۱۶ (۱۷/۶)
آمیکاسین	۶۳ (۶۹/۲)	۵ (۵/۵)	۲۵ (۲۵/۳)
سفتراکسون	۶۰ (۶۵/۹)	۴ (۴/۴)	۲۷ (۲۹/۷)
سفتازیدیم	۶۸ (۷۴/۷)	۳ (۳/۳)	۲۰ (۲۲/۰)
سفتوتاکیم	۶۵ (۷۱/۴)	۴ (۴/۴)	۲۲ (۲۴/۲)
سیپروفلوکساسین	۵۵ (۶۰/۴)	۱۱ (۱۲/۱)	۲۵ (۲۷/۵)
افلوکساسین	۵۲ (۵۷/۱)	۴ (۴/۴)	۳۵ (۳۸/۵)
پیپراسیلین/تازوباکتام	۵۷ (۶۲/۶)	۶ (۶/۶)	۲۸ (۳۰/۸)
تیکارسیلین/کلانولانیک اسید	۶۴ (۷۰/۳)	۰ (۰)	۲۷ (۲۹/۷)
آزترنونام	۴۳ (۴۷/۳)	۵ (۵/۵)	۴۳ (۴۷/۳)
ایمی‌پنم	۵۳ (۵۸/۲)	۷ (۷/۷)	۳۱ (۳۴/۱)
مروپنم	۴۷ (۵۱/۶)	۴ (۴/۴)	۴۰ (۴۴/۰)
کلیستین	۰ (۰)	۰ (۰)	۹۱ (۱۰۰)
پلی‌مکسین B	۷ (۷/۷)	۰ (۰)	۸۴ (۹۲/۳)

جدول ۳. فراوانی ژن‌های آگزوتوکسین در ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa*

تعداد ایزوله‌های دارای آگزوتوکسینها	تعداد ایزوله‌های دارای آگزوتوکسین (درصد)	الگوی ژن‌های آگزوتوکسین در <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
۱۷	۲۲ (۲۴/۲)	-exoU+, exoS
۱۲	۱۳ (۱۴/۳)	+, exoS-exoU
۳۷	۵۰ (۵۵/۰)	+exoU+, exoS
۶	۶ (۶/۶)	-exoU-, exoS

MDR: Multidrug resistance

و سوختگی محسوب می‌شود که به دلیل دارا بودن عوامل ویروالانس متنوع، دارای توانایی بیماری‌زایی بالایی است. نتایج حاصل از این مطالعه، نشان داد که فراوانی ژن exoU در ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* برابر با ۸۰/۲ درصد بود. در مطالعه‌ی فیروزی دالوند و پولادی، فراوانی exoU در ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* جدا شده از نمونه‌های زخم سوختگی ۷۶ درصد گزارش شد که با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی داشت (۱۶). خرم‌روز و همکاران، فراوانی این ژن را ۴۱/۱ درصد گزارش کردند (۱۱)، اما در مطالعه‌ی دیگری که بر روی *Pseudomonas aeruginosa*‌های جدا شده از بخش مراقبت‌های ویژه انجام گرفته بود، فقط ۱۵ درصد از ایزوله‌ها دارای ژن exoU بودند، که با نتایج مطالعه‌ی حاضر تفاوت داشت (۱۷). دیگر ژن سیتوتوکسین مورد بررسی، exoS بود که در ۶۸/۱ درصد از ایزوله‌ها وجود داشت. در مطالعات مختلف، میزان فراوانی exoS، بین ۳۵/۸-۷۵/۸ درصد گزارش شده است، که از این نظر با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی داشت (۱۹-۱۸، ۱۱، ۱).

با توجه به این که حضور ژن‌های exoU و exoS در ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* به شکل یک ویژگی متغیر عنوان شده است، می‌توان یکی از دلایل تفاوت در فراوانی این دو ژن در مطالعات مختلف را وابسته بودن حضور آن‌ها به جایگاه ایجاد بیماری و سایر عوامل زمینه‌ای نسبت داد (۱۸). در مطالعات دیگری که بر روی ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* جدا شده از منابع مختلف صورت گرفته بود، بیشترین فراوانی ژن exoS در نمونه‌های زخم سوختگی گزارش گردید (۲۱-۲۰). با توجه به این که بین ایجاد عفونت‌های سیستمیک *Pseudomonas aeruginosa* و حضور ژن exoS در مدل‌های تجربی ارتباط وجود دارد (۲۲)، می‌توان نتیجه گرفت که این ژن، نقش مهمی در ایجاد عفونت‌های ناشی از این پاتوژن دارد. در این مطالعه، بین حضور ژن exoU و مقاومت به بعضی از آنتی‌بیوتیک‌ها رابطه‌ی معنی‌داری مشاهده شد که از این نظر، با یافته‌های سایر مطالعات سازگار بود (۱۹، ۱۱).

در این مطالعه، ۶۹/۵ درصد از ایزوله‌ها به طور هم‌زمان دارای هر

از نظر آماری، بین فراوانی ژن‌های سیتوتوکسین و متغیرهای سن و جنس بیماران، رابطه‌ی معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/050$ )، اما بین فراوانی ژن exoU و مقاومت به سفنازیدیم ( $P = 0/041$ ) و سفوتاکسیم ( $P = 0/050$ ) از نظر آماری رابطه‌ی معنی‌داری وجود داشت. بین فراوانی ژن exoS و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها رابطه‌ی معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج حاصل از فراوانی ژن‌های سیتوتوکسین در ایزوله‌های دارای مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی در جدول ۴ آمده است.

جدول ۴. فراوانی ژن‌های سیتوتوکسین در ایزوله‌های مقاوم به

آنتی‌بیوتیک‌ها

ژن‌ها	exoS (۶۲)			exoU (۷۳)			آنتی‌بیوتیک‌ها
	S	I	R	S	I	R	
جتناماسین	۱۱	۱	۵۰	۱۳	۳	۵۷	
آمیکاسین	۱۳	۴	۴۵	۱۵	۴	۵۴	
سفتریاکسون	۱۷	۴	۴۱	۱۹	۴	۵۰	
سفنازیدیم	۱۴	۳	۴۵	۱۶	۲	۵۵	
سفوتاکسیم	۱۶	۳	۴۳	۱۸	۴	۵۱	
سیپروفلوکساسین	۱۶	۹	۳۷	۱۹	۱۰	۴۴	
افلوکساسین	۲۷	۴	۳۱	۲۹	۲	۴۲	
پیراسیلین/تازوباکتام	۱۸	۴	۴۰	۲۲	۵	۴۶	
تیکارسیلین/کلادولانیک اسید	۲۱	۰	۴۱	۱۹	۰	۵۴	
آزترئونام	۲۷	۲	۳۳	۳۸	۴	۳۱	
ایمی‌پنم	۲۱	۴	۳۷	۲۷	۵	۴۱	
مروپنم	۲۹	۲	۳۱	۳۶	۴	۳۳	
کلیستین	۶۲	۰	۰	۷۳	۰	۰	
پلی‌مکسین B	۵۹	۰	۳	۶۸	۰	۵	

R: Resistance; I: Intermediate; S: Susceptible

### بحث

*Pseudomonas aeruginosa* از جمله عوامل اصلی ایجاد کننده‌ی عفونت‌های بیمارستانی، به خصوص در بخش‌های مراقبت‌های ویژه

گزارش شده است (۲۹).

از جمله دلایل تفاوت در نتایج مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در مطالعات مختلف، می‌توان به مواردی همچون تفاوت در الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در مناطق مختلف و همچنین، جداسازی ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* از نمونه‌های بالینی مختلف اشاره کرد. بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌ها نسبت به کلسیتین (۱۰۰ درصد) و پلی‌مکسین B (۹۲/۳ درصد) مشاهده شد. در اغلب مطالعات انجام گرفته، تمامی ایزوله‌های این باکتری نسبت به کلیستین حساس گزارش شدند، که از این نظر، با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی داشت (۲۸-۲۷)، اما در مطالعه‌ی میرصالحیان و همکاران، ۳۴/۱ درصد ایزوله‌ها نسبت به کلیستین مقاوم بودند (۳۰).

نتیجه‌گیری نهایی این‌که در مطالعه‌ی حاضر، کلیستین و پلی‌مکسین B از جمله تنها آنتی‌بیوتیک‌هایی هستند که می‌توانند در درمان عفونت‌های این پاتوژن استفاده شوند. با توجه به نقش *Pseudomonas aeruginosa* در ایجاد عفونت‌های زخم سوختگی در بیماران و همچنین، نقش ژن‌های سیتوتوکسین و ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در کلونیزاسیون و بقای این باکتری، پرهیز از درمان‌های تجربی، تشخیص دقیق نوع عوامل ویرولانس و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی جهت انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب و کارا به منظور جلوگیری از عفونت‌های حاصل از این باکتری، امری ضروری به نظر می‌رسد.

### تشکر و قدردانی

از معاونت محترم تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه که هزینه‌ی اجرای این طرح را از محل بودجه‌ی طرح جذب پژوهشگر تأمین نموده‌اند، سپاسگزاری می‌گردد.

دو ژن exoS و exoU بودند که با نتایج مطالعات یوسفی آواروند و همکاران (۱) با میزان ۴۸/۷ درصد و Finnan و همکاران (۲۳) با میزان ۷۵ درصد سازگار بود، اما در مطالعه‌ی عظیمی و همکاران (۲۴)، فراوانی این ایزوله‌ها ۴ درصد مشخص شد که با نتایج مطالعه‌ی حاضر تفاوت داشت (۲۴). در مطالعه‌ی حاضر، میزان بالایی از مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین ایزوله‌ها مشاهده شد. فراوانی ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* MDR برابر با ۷۹/۱ درصد تعیین شد که با نتایج گزارش شده از این ایزوله‌ها در سایر مطالعات (بین ۱۰۰-۴۵/۲ درصد) هم‌خوانی داشت (۲۶-۲۵، ۱۷، ۱). بیشترین مقاومت در برابر جنتامایسین (۷۹/۱ درصد)، سفتازیدیم (۷۴/۷ درصد) و سفوتاکسیم (۷۱/۴ درصد) بود. شفیع‌ی و همکاران، درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالایی را در ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* در برابر جنتامایسین (۸۸ درصد)، آمیکاسین (۸۴ درصد)، سفتازیدیم (۹۱ درصد)، سیپروفلوکساسین (۸۴ درصد) و مروپنم (۵۳ درصد) گزارش کردند که با نتایج مطالعه‌ی حاضر در مورد مقاومت بالا در برابر این آنتی‌بیوتیک‌ها هم‌خوانی داشت (۲۷). ادبی و همکاران، میزان مقاومت در ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* جدا شده از زخم سوختگی را در برابر جنتامایسین، آمیکاسین، سیپروفلوکساسین و ایمپنم به ترتیب ۸۶/۰، ۸۵/۰، ۸۷/۰ و ۷۵/۵ درصد گزارش کردند (۲۸)، اما در مطالعه‌ی دیگری بر روی ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa*، درصد مقاومت پایین‌تری شامل جنتامایسین ۳۲/۹ درصد، سفتازیدیم ۳۹/۳ درصد، سیپروفلوکساسین ۳۲/۱ درصد، ایمپنم ۳۵/۷ درصد و مروپنم ۵۰/۰ درصد گزارش شده بود. در مطالعات دیگری نیز سطح بالایی از مقاومت ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* در برابر آمینوگلیکوزیدها، سفالوسپورین‌ها، کارباپنم‌ها و سایر آنتی‌بیوتیک‌ها

### References

1. Yousefi-Avarvand A, Khashei R, Sedigh Ebrahim-Saraie H, Emami A, Zomorodian K, Motamedifar M. The frequency of exotoxin a and exoenzymes S and U genes among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Shiraz, Iran. *Int J Mol Cell Med* 2015; 4(3): 167-73.
2. Doosti M, Haj Ojagh Faghihi M, Ramazani A, Saini MR. Comparison of conventional culture methods and polymerase chain reaction (PCR) for specific detection of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Isfahan Med Sch* 2012; 30(192): 780-6. [In Persian].
3. Ryall B, Davies JC, Wilson R, Shoemark A, Williams HD. *Pseudomonas aeruginosa*, cyanide accumulation and lung function in CF and non-CF bronchiectasis patients. *Eur Respir J* 2008; 32(3): 740-7.
4. Akhavan-Tafti F, Eslami G, Zandi H, Mousavi SM, Zarei M. Prevalence of blaVIM, blaIPM and blaNDM metallo-beta-lactamases enzymes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn wounds in Shahid Sadoughi Burn Hospital in Yazd. *J Isfahan Med Sch* 2014; 31(263): 1955-64. [In Persian].
5. Pourzerehki N, Naserpour Farivar T, Peymani A. Presence of alginate among multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical samples in Qazvin and Tehran hospitals. *J Clin Res Paramed Sci* 2014; 3(4): 257-63. [In Persian].
6. Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22(4): 582-610.
7. Sabharwal N, Dhall S, Chhibber S, Harjai K. Molecular detection of virulence genes as markers in

- Pseudomonas aeruginosa* isolated from urinary tract infections. *Int J Mol Epidemiol Genet* 2014; 5(3): 125-34.
8. Akya A, Salimi A, Nomanpour B, Ahmadi K. Prevalence and clonal dissemination of metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Kermanshah. *Jundishapur J Microbiol* 2015; 8(7): e20980.
  9. Mesaros N, Nordmann P, Plesiat P, Roussel-Delvallez M, Van Eldere J, Glupczynski Y, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: Resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13(6): 560-78.
  10. Mortazavi SH, Ghaderi M, Hemmati M, Vaziri S, Azizi M, Kashef M, et al. Molecular study of the prevalence of exotoxin A and alginate gene in *Pseudomonas aeruginosa* isolates in burn wounds samples. *J Isfahan Med Sch* 2017; 34(412): 1537-43. [In Persian].
  11. Khoramrooz S, Rahbari N, Parhizgari N, Sharifi A, Yazdanpanah M, Gharibpour F, et al. Frequency of type III secretion system cytotoxins -encoding genes among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *J Zanjan Univ Med Sci* 2015; 23 (99): 52-63. [In Persian].
  12. Cowell BA, Evans DJ, Fleiszig SM. Actin cytoskeleton disruption by ExoY and its effects on *Pseudomonas aeruginosa* invasion. *FEMS Microbiol Lett* 2005; 250(1): 71-6.
  13. Rabin SD, Hauser AR. Functional regions of the *Pseudomonas aeruginosa* cytotoxin ExoU. *Infect Immun* 2005; 73(1): 573-82.
  14. Tramper-Stranders GA, van der Ent CK, Wolfs TF. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* in patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2005; 4(Suppl 2): 37-43.
  15. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-first informational supplement. CLSI document M100-S21. Wayne, PA: CLSI; 2011.
  16. Firouzi-Dalvand L, Pooladi M. Identification of *exoS*, *exoU* genes in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Paramed Sci* 2014; 5(4): 89-95.
  17. Joodzadeh M, Farajzadeh Sheikh A, Shahin M, Tavakol H. Correlation of frequency of *Pseudomonas aeruginosa* and *exoS* and *exoU* genes and their antibiotic sensitivity pattern in specimen isolated from ICU ward. *Int J Med Res Health Sci* 2016; 5(6): 248-54.
  18. Jabalameli F, Mirsalehian A, Khoramian B, Aligholi M, Khoramrooz SS, Asadollahi P, et al. Evaluation of biofilm production and characterization of genes encoding type III secretion system among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *Burns* 2012; 38(8): 1192-7.
  19. Wolska K, Szveda P. Genetic features of clinical *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Pol J Microbiol* 2009; 58(3): 255-60.
  20. Feltman H, Schulert G, Khan S, Jain M, Peterson L, Hauser AR. Prevalence of type III secretion genes in clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology* 2001; 147(Pt 10): 2659-69.
  21. Lomholt JA, Poulsen K, Kilian M. Epidemic population structure of *Pseudomonas aeruginosa*: evidence for a clone that is pathogenic to the eye and that has a distinct combination of virulence factors. *Infect Immun* 2001; 69(10): 6284-95.
  22. Aslani MM, Sharafi Z, Shahcheraghi F, Nikbin VS, Ebrahimipour GH, Hashemipour M. Molecular detection and identification of virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from wound and burn infections. *Pejouhandeh* 2011; 15(6): 287-92. [In Persian].
  23. Finnan S, Morrissey JP, O'Gara F, Boyd EF. Genome diversity of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients and the hospital environment. *J Clin Microbiol* 2004; 42(12): 5783-92.
  24. Azimi S, Kafil HS, Baghi HB, Shokrian S, Najaf K, Asgharzadeh M, et al. Presence of *exoY*, *exoS*, *exoU* and *exoT* genes, antibiotic resistance and biofilm production among *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Northwest Iran. *GMS Hyg Infect Control* 2016; 11: Doc04.
  25. Mirsalehian A, Feizabadi M, Nakhjavani FA, Jabalameli F, Goli H, Kalantari N. Detection of VEB-1, OXA-10 and PER-1 genotypes in extended-spectrum beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients. *Burns* 2010; 36(1): 70-4.
  26. Fazeli H, Fatahi M, Faghri J, Akbari R. Molecular study of PER and VEB genes is multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical specimens in Isfahan/Iran and their antibiotic resistance patterns. *J Kerman Univ Med Sci* 2012; 19(4): 345-53. [In Persian].
  27. Shafiee F, Khosravi AD, Azarpira S, Babaie Barkalaie A, Abbasi Montazeri E. Antimicrobial resistance profile of *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Med Lab J* 2015; 9(3): 128-34. [In Persian].
  28. Adabi M, Talebi Taher M, Arbabi L, Afshar M, Fathizadeh S, Minaeian S, et al. Determination of antibiotic resistance pattern of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients with burn wounds. *J Ardabil Univ Med Sci* 2015; 15(1): 66-74. [In Persian].
  29. Jafari R, Karbasizade V, Moghim S. Frequency and resistance patterns of bacterial isolates from burn wounds infections in Isfahan, Iran. *J Isfahan Med Sch* 2013; 31(246): 1134-40. [In Persian].
  30. Mirsalehian A, Akbari Nakhjavani F, Bahador A, Jabal Ameli F, Bigverdi R, Goli H. Prevalence of MBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *Tehran Univ Med J* 2011; 68(10): 563-9. [In Persian].

## Prevalence Study of exoenzyme U (exoU) and exoenzyme S (exoS) Genes in *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Burn Patients in Kermanshah City, Iran

Kamal Ahmadi<sup>1</sup>, Siavash Vaziri<sup>2</sup>, Seyyed Hamidreza Mortazavi<sup>3</sup>, Faizullah Mansouri<sup>2</sup>, Mandana Afsharian<sup>2</sup>, Ahmad Tajehmiri<sup>4</sup>, Mahsa Kashef<sup>1</sup>, Mohsen Azizi<sup>1</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** *Pseudomonas aeruginosa* is one of the major pathogens causing burnt wound infection in hospitals. This study aimed to evaluate the prevalence of exoenzyme U (exoU) and exoenzyme S (exoS) genes and the antibiotic resistance pattern of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients' samples in Kermanshah City, Iran.

**Methods:** In this cross-sectional study, 194 samples were tested with conventional bacteriological methods. After evaluation of antibiotic sensitivity with disc diffusion method, specific primers were deployed to assess the frequency of exoU and exoS genes among isolates. The retrieved data were analyzed using SPSS software.

**Findings:** From 91 isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, 72 (79.1%) were multi-drug resistant (MDR) isolates. The most prevalent antibiotic resistances were against gentamicin (79.1%) and ceftazidime (74.7%); the most prevalent sensitivities were against colistin (100%) and polymixin B (92.3%). The frequency of exoU and exoS genes was 80.2% and 68.1%, respectively. There were significant relationships between the frequency of exoU gene and resistance to ceftazidime ( $P = 0.041$ ) and cefotaxime ( $P = 0.050$ ).

**Conclusion:** Considering the role of *Pseudomonas aeruginosa* in burn wound infections and the role of cytotoxin and antibiotic resistance genes in colonization and survival of this bacteria, avoiding home remedies, accurate detection of virulence factors, and recognition of antibiotic resistance pattern among the isolates in order to choose the appropriate antibiotic regimen to prevent infection seem to be necessary.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, exoenzyme S, exoenzyme U, Antibiotic resistance

**Citation:** Ahmadi K, Vaziri S, Mortazavi SH, Mansouri F, Afsharian M, Tajehmiri A, et al. **Prevalence Study of exoenzyme U (exoU) and exoenzyme S (exoS) Genes in *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Burn Patients in Kermanshah City, Iran.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(428): 496-502.

1- Department of Microbiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

2- Associate Professor, Department of Infectious Diseases, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

3- Assistant Professor, Department of Pediatrics, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

4- Medical Biology Research Center, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

**Corresponding Author:** Mohsen Azizi, Email: m.azizi9889@yahoo.com