بررسی و شناسایی ژن‌های کروم سنسینگ در سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* جداشده از نمونه های بالینی انسانی به روش Multiplex PCR و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی

فیروزه امینی بزنجانی[1]، رزاق محمودی*[2]، کیومرث امینی[3]

۱- کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد سیرجان، دانشگاه آزاد اسلامی، سیرجان، ایران.

۲- دانشیار، گروه بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.

۳- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران.

یافته / دوره هجدهم / شماره ۲ / تابستان ۹۵ / مسلسل ۶۸

چکیده

دریافت مقاله: ۹۵/۲/۱۱ پذیرش مقاله: ۹۵/۴/۱

* **مقدمه:** *سودوموناس آئروژینوزا* یک پاتوژن فرصت طلب و عامل ۱۰ الی ۱۵ درصد از عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد. وجود ژن‌های حدت یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های تهاجمی *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد و این موضوع از نظر پزشکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بیان بسیاری از ژن‌های بیماریزای باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* به‌وسیله یک سیستم ژنی به نام سیستم Quorum Sensing (QS) کنترل و تنظیم می‌گردند. کروم سنسینگ سیستم ارتباطی سلول به سلول با استفاده از مولکول‌های کوچک SMs در ارگانیسم های تک سلولی است. هدف از تحقیق بررسی شیوع ژن‌های دخیل در سیستم کروم سنسینگ در سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* جداشده از منابع انسانی می‌باشد.

* **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه، ۶۰ نمونه *سودوموناس آئروژینوزا* از نمونه‌های گوارش انسانی تهیه و در محیط‌های اختصاصی کشت و توسط تست‌های تشخیصی و افتراقی تأیید گردیدند. آزمون Multiplex PCR برای ردیابی ژن‌های مورد نظر انجام گرفت. آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی علیه ۱۰ عامل ضد میکروبی صورت گرفت.

* **یافته‌ها:** نتایج Multiplex PCR نشان داد که میزان فراوانی ژن‌های *rhlR* ۵ درصد، ژن *lasR* ۴۸/۳ درصد و ژن *lasI* ۶۰ درصد بوده، در صورتی که ژن‌های *lasB*، *apr*، *rhlAB* و *rhlI* در هیچ یک از نمونه‌ها شناسایی نگردیدند. در آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی، بیشترین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های آمیکاسین، آموکسی‌سیلین و سفوتاکسیم و بیشترین میزان حساسیت به آنتی بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین و سفتازیدیم گزارش گردیده است.

* **بحث و نتیجه‌گیری:** ژن‌های سیستم QS فراوانی بالایی در بین سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* جداشده از منابع انسانی دارند.

* **واژه‌های کلیدی:** *سودوموناس آئروژینوزا*، کروم سنسینگ.

*آدرس مکاتبه : قزوین، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، دانشکده بهداشت، گروه بهداشت و ایمنی و مواد غذایی.

پست الکترونیک: r.mahmodi @yahoo.com

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 7:44 +0430 on Thursday September 21st 2017

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 7:44 +0430 on Thursday September 21st 2017

مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا باکتری گرم منفی هوازی است که معمولاً در محیط یافت می‌شود و توانایی متابولیکی متنوعی دارد (۱). این باکتری پاتوژن فرصت طلبی است که اغلب منجر به عفونت‌های بیمارستانی خطرناکی در افراد با سیستم ایمنی ضعیف شده می‌شود (۲). مهم‌ترین عوامل حدت *سودوموناس آئروژینوزا* عبارتند از: پیوسیانین، همولیزین، الاستاز، تشکیل بیوفیلم که به گسترش بافتی و مقاومت آن در برابر آنتی بیوتیک‌ها کمک می‌کند و ریشه کنی عفونت در اثر ابتلا به این باکتری بسیار دشوار می‌باشد (۵-۳). تشکیل بسیاری از عوامل حدت این باکتری از طریق یک سیستم وابسته به سلول به نام Quorum Sensing بیان می‌شود. کروم سنسینگ سیستم ارتباطی سلول به سلول با استفاده از مولکول‌های کوچک SMs در ارگانیسم های تک سلولی است که از طریق ترشح مولکول‌های ارتباطی به داخل محیط و سپس اتصال آن‌ها به پروتئین‌های گیرنده عمل می‌کند و بنابراین به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم رونویسی و ترجمه را تحت تأثیر قرار داده و اطلاعات را مبادله می‌کنند. در باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* سیستم QS از ۲ سیستم ژنی *lasR-lasI* و *rhlR-rhlI* تشکیل شده است، ژن‌های *lasI* و *rhlI* بیان کننده دو آنزیم acyl-hemoserine lactone (acyl-HSL) سنتتاز می‌باشند، در حالی که ژن‌های *lasR* و *rhlR* تولیدکننده پروتئین‌های تنظیم کننده رونویسی می‌باشند که با اتصال به سیگنال اختصاصی خود سبب فعال سازی ژن‌های بیماری زا می شوند. به‌علاوه بیان rhl خود در هر دو مرحله رونویسی و بعد از رونویسی توسط سیستم las کنترل می‌شود (۲،۳). علاوه بر ژن‌های فوق‌الذکر، ژن‌های دیگری در باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* توسط کروم سنسینگ کنترل و بیان می‌شوند و در بیماری‌زائی این باکتری نقش دارند که می‌توان به ژن‌های *lasB*، *apr* و *rhlAB* اشاره کرد. کروم سنسینگ تولید بسیاری از عوامل ویرولانس خارج سلولی مانند تشکیل بیوفیلم و پمپ ایفلاکس را تنظیم می‌کند به‌طوری که موتان‌های این ژن فاقد قدرت تشکیل بیوفیلم نرمال هستند و دارای حدت کمتری نسبت به سویه وحشی می‌باشند. این امر نشان دهنده نقش کلیدی کروم سنسینگ در بیماریزایی *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد. به‌علاوه ژن‌های *las* و *rhl* تولید بسیاری از عوامل حدت مانند پروتئازها (lasA/lasB)، الاستاز، آلکالین پروتئاز، اگزوتوکسین A، رامنولیپیدها، پیوسیانین، لکتین و سوپراکسید دیسموتاز را تنظیم می‌کنند (۳،۶). علاوه بر تنظیم بیان ژن‌های حدت، سیستم ایمنی میزبان را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد به‌طوری که از پرولیفراسیون لنفوسیت‌ها جلوگیری کرده، تولید TNF-α و IL-12 را کاهش می‌دهد و باعث القای آپوپتوز در ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها می‌شود (۳). ژن‌های سیستم QS در باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* علاوه بر دخالت در بیماریزایی، یک ژن اختصاصی گونه بوده که می‌توان با طراحی پرایمر اختصاصی ژن‌های آن، با حساسیت و اختصاصیت بسیار بالای *سودوموناس آئروژینوزا* بیماریزا را به روش مولکولی و سریع با استفاده از روش PCR شناسایی نمود (۲). در روش Multiplex PCR به دلیل استفاده از چند آغاز گر توانایی ازدیاد و شناسایی چندین ژن همزمان با هم وجود دارد. هدف از این مطالعه بررسی میزان شیوع ژن های *lasI*، *lasR*، *rhlI*، *rhlR*، *lasB*، *apr* و *rhlAB* در *سودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از منابع انسانی به روش Multiplex PCR و آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی این جدایه‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جداسازی و شناسایی باکتری

در این مطالعه مقطعی- توصیفی، بر اساس مطالعات قبلی و سطح اطمینان ۹۵٪ با استفاده از فرمول n=z2P(1-P)/d2 و خطای قابل قبول ۰/۰۵، ۱۰۰ نمونه انسانی از ترشحات گوارشی بیماران در مراکز درمانی سطح شهر تهران جمع آوری و به آزمایشگاه میکروب شناسی

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 7:44 +0430 on Thursday September 21st 2017

انتقال داده شد. به‌منظور شناسایی باکتری از آزمون‌های بیوشیمیایی مانند تست‌های اکسیداز، کاتالاز، TSI، تست OF، آزمون سیمون سیترات، رشد در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد، تولید رنگدانه، بوی خاص و رنگ آمیزی گرم استفاده شد. در نهایت ۶۰ نمونه باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* شناسایی گردید.

آزمون PCR

استخراج DNA با استفاده از کیت تجاری سیناژن مطابق دستورالعمل ارائه شده توسط کیت انجام شد. واکنش Multiplex PCR جهت شناسایی ژن‌های Quorum Sensing در باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* انجام شد. آزمون PCR بر روی ۶۰ سویه *سودوموناس آئروژینوزا* برای ژن‌های *lasI*، *lasR*، *rhlI*، *rhlR*، *lasB*، *apr* و *rhlAB* انجام گرفت (جدول۱) (۶). در این پژوهش واکنش زنجیرهای پلیمراز PCR استاندارد در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر PCR Master Mix، ۰/۶ میکرولیتر از هر پرایمر (با غلظت ۱۰ پیکومول)، ۸/۳ میکرولیتر آب مقطر و ۳ میکرولیتر از DNA الگو انجام گردید. برنامه حرارتی جهت انجام واکنش‌های PCR عبارت بود از واسرشت اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، ۳۵ سیکل هرکدام شامل: واسرشت در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال در ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، امتداد در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۲ دقیقه و نیز امتداد نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه. محصولات PCR در ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گردیدند. سپس به‌وسیله اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و توسط دستگاه ترانس لومیناتور مشاهده شدند.

آنتی‌بیوگرام

آنتی بیوگرام برای جدایه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* از طریق روش دیسک دیفیوژن (Kirby-Bauer) بر اساس راهنمای استاندارد CSLI انجام شد (۷،۸). در این آزمایش حساسیت به آنتی بیوتیک‌های سفپیم، نیتروفورانتوئین، سفتریاکسون، سفیکسیم، نالیدیکسیک اسید، اریترومایسین، آمیکاسین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین و آمپی‌سیلین سنجیده شد.

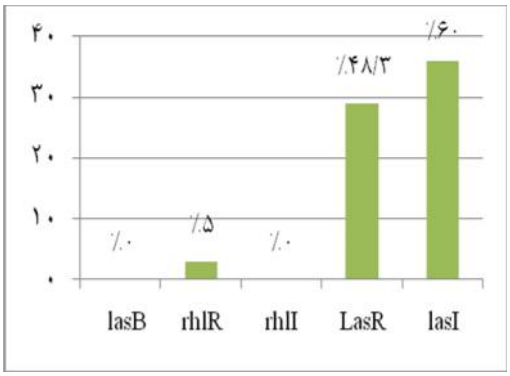
جدول ۱. آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه

ژن هدف	ردیف پرایمر (5´ به 3´)	اندازه محصول (bp)
lasB-f	Ttctacccgaaggactgatac	۱۵۳
lasB-r	Aacacccatgatcgcaac	
aprA-f	Accctgtcctattcgttcc	۱۴۰
aprA-r	Gattgcagcgacaacttgg	
rblAB-f	Tcatggaattgtcacaaccgc	۱۵۱
rblAB-r	Atacggcaaaatcatggcaaac	
lasI-f	Cgtgctcaagtgttcaag	۲۹۵
lasI-r	Tacagtcggaaaagcccag	
lasR-f	Aagtggaaaattggagtggag	۱۳۰
lasR-r	Gtagttgccgacgacgatgaag	
rblI-f	Ttcatcctcctttagttcttcc	۱۵۵
rblI-r	Ttccagcgattcagagagc	
rblR-f	tgcattttatcgatcagggc	۱۳۳
rblR-r	cacttccttttccaggacg	

یافته‌ها

تمامی نمونه‌های مورد بررسی با استفاده از آزمایشات بیوشیمیایی به‌عنوان *سودوموناس آئروژینوزا* تأیید گردیدند. آزمون PCR بر روی ۶۰ سویه *سودوموناس آئروژینوزا* برای ژن‌های *lasI* ,*lasR* ,*rhlI* ,*lasB* ,*rhlR*، *apr* و *rhlAB* نشان داد بیشترین میزان فراوانی مربوط به ژن *lasI* (۶۰ درصد) و کمترین میزان فراوانی مربوط به ژن *rhlR* (۵ درصد) بوده است (نمودار ۱). همچنین در نتایج آنتی بیوگرام مشخص گردید که بیشترین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های آمیکاسین، آموکسی‌سیلین و سفوتاکسیم به ترتیب ۱۰۰٪، ۱۰۰٪ و ۹۴/۶٪ بوده است. بیشترین میزان حساسیت در بین آنتی بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین در ۵۳ نمونه ۸۸/۳٪ و سفتازیدیم ۴۲ نمونه ۷۰٪ مشاهده شد (جدول ۲).

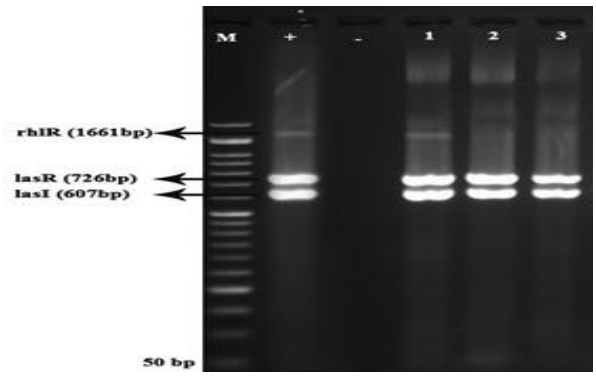
Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 7:44 +0430 on Thursday September 21st 2017



نمودار ۱. توزیع فراوانی ژن‌های مورد مطالعه

جدول ۲. میزان حساسیت سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جداسازی شده به آنتی بیوتیک‌های مختلف با روش دیسک دیفیوژن بر حسب تعداد و درصد

نوع آنتی بیوتیک	میزان مقاومت تعداد (٪) Resistance	حساسیت متوسط تعداد (٪) Intermediate	میزان حساسیت تعداد (٪) Sensitive
سفوتاکسیم	۵۵ (٪۹۱/۶)	-	۵ (٪۸/۴)
سفتازیدیم	۱۸ (٪۳۰)	-	۴۲ (٪۷۰)
آموکسی‌سیلین	۶۰ (٪۱۰۰)	-	-
سیپروفلوکساسین	۷ (٪۱۱/۷)	-	۵۳ (٪۸۸/۳)
آمیکاسین	۶۰ (٪۱۰۰)	-	-
جنتامایسین	۳۵ (٪۵۸/۳)	-	۲۵ (٪۴۱/۷)



شکل۱. نتایج واکنش PCR جهت شناسایی ژن‌های کروم سنسینگ، M: مارکر ۵۰bp، +: کنترل مثبت، - : کنترل منفی، ۱تا ۳ نمونه‌های سودوموناس آئروژینوزا، دارای ژن‌های lasI، LasR و rhlR با طول باند ۶۰۷ bp ، ۷۲۶ bp و ۱۶۶۱ bp.

بحث و نتیجه گیری

بسیاری از فاکتورهای بیماریزای باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* به‌وسیله یک سیستم ژنی به نام سیستم Quorum Sensing (QS) کنترل و تنظیم می‌گردند (۶). در این بررسی، میزان شیوع ژن‌های سیستم کروم سنسینگ در جدایه های *سودوموناس آئروژینوزا* بررسی گردید و ژن‌های *lasI*، *lasR* و *rhlR* به ترتیب در ٪۶۰، ٪۴۸ و ٪۵ نمونه‌ها حضور داشتند. ولی ژن‌های *rhlR* و در هیچ یک از نمونه‌های مورد بررسی مشاهده نشد. علت عدم شناسایی برخی از ژنها در مطالعه حاضر می‌تواند به علت عدم بیان ژن در نمونه‌ها باشد که در باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* اتفاق می‌افتد. آقا ملایی و همکاران در تحقیقی با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *lasI* جهت تشخیص سریع باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* استفاده کردند. در این تحقیق از ۴۰ نمونه بالینی جدا شده ٪۴۸/۵ دارای ژن *lasI* بودند (۲). در مطالعه‌ای بر روی ژن‌های *QS* ۸۱/۶ درصد از نمونه‌ها حاوی ژن‌های کروم سنسینگ بودند که در این میان ژن‌های *lasR*، *lasI*، *rhlR* و *rhlI* به ترتیب ۵ درصد، ۷۸/۳ درصد، ۶۵ درصد و ۴۳/۳ درصد گزارش شدند (۶). به دلیل حضور این ژن‌های *QS* در بیماری‌های مرتبط با این باکتری و به دلیل نقش اصلی و مهم این ژنها، فراوانی در بیشتر مطالعات به میزان قابل توجهی بوده به‌طوری که اختلاف در میزان شیوع هر یک از این ژنها بسته به تعداد نمونه‌ها و یا نوع نمونه‌ها اختلاف کمی مشاهده می‌شود و این نوع ژن‌های حدت، دارای فراوان بالایی می‌باشند. در مطالعه حاضر نیز بیشترین فراوانی مربوط به ژن *lasI* با ۶۰ درصد و *lasR* با ۴۸/۳ درصد بود. ژو و همکاران (۲۰۰۶) برای درک بهتر از اهمیت سیستم‌های کروم سنسینگ در *سودوموناس آئروژینوزا* در رشد عفونت قرنیه‌ای، مشخصات ژنوتیپی و بیماریزایی ایزوله‌های چشمی با فعالیت AHL و پروتئاز در *lasI* / *lasR* و *rhlR* مورد بررسی قرار داد و عنوان کردند ناکارآمدی کروم سنسینگ ممکن است به‌طور طبیعی در ایزوله های بالینی روی دهد و دسترسی به *lasI* و سیستم کاربردی QS ممکن است در رشد عفونت‌های قرنیه‌ای بسیار مؤثر باشد (۹). بوسگلمز (۲۰۰۸) در گزارش خود عنوان نمود که سویه‌های دچار موتاسیون در ژن‌های *QS* نمی‌توانند سیگنال‌های لازم مولکول C4-HSL را که ارتباط مستقیم با فاکتورهای حدت

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 7:44 +0430 on Thursday September 21st 2017

دارد تولید کند هرچند این موتاسیون منجر به ایجاد عفونت در بیماران می‌گردد (۱۰). در این مطالعه میزان مقاومت سویه‌های جمع‌آوری شده نسبت به دسته‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی تعیین شد. بیشترین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های آمیکاسین، آموکسی‌سیلین و سفوتاکسیم به ترتیب ۱۰۰٪، ۱۰۰٪ و ۹۴/۶٪ مشاهده شد. مقاومت به سایر آنتی بیوتیک‌ها هم مشاهده گردید بدین ترتیب که ۵۸/۳٪ به جنتامایسین، ۱۸٪ به سفتازیدیم و ۱۱/۷٪ به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند. در مطالعه آذرگون و همکاران از ۵۱ نمونه *سودوموناس آئروژینوزا* جداسازی شده از بیماران مبتلا به سیستیک فیبروزیس، ۳۷/۲٪ مقاوم به جنتامایسین، ۲۱/۵٪ مقاوم به آمیکاسین، ۱۵/۷٪ مقاوم به سیپروفلوکساسین و ۹/۸٪ مقاوم به سفتازیدیم بودند (۱۱). در بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه‌های بالینی *سودوموناس آئروژینوزا* ایزوله شده از مراکز درمانی شهر اراک میزان مقاومت سفتازیدیم (۳۳/۳٪)، آمیکاسین (۲۰/۳٪)، سیپروفلوکساسین (۱۵/۷٪) جنتامایسین (۱۹/۴٪) به دست آمد (۱۲). در مطالعه حاضر میزان مقاومت در برابر آمیکاسین ۱۰۰٪ بود که در مقایسه با سایر مطالعات به عمل آمده با سایر مطالعات مقاومت بیشتری را نشان داد (۱۱،۱۲). از طرفی در مطالعات میرصالحیان و همکاران (۱۳) و رستم پور و همکاران (۱۴) میزان مقاومت به این آنتی بیوتیک بسیار بالا بوده است. به نظر می‌رسد این تفاوت می‌تواند به دلیل تفاوت در منبع سویه‌ها باشد. میزان مقاومت سودوموناس آئروژینوزا به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین در مطالعات فاضلی و همکاران (۱۵)، رضایی و همکاران (۱۶)، شاهچراغی و همکاران (۱۷) و دوستی و همکاران (۱۸) به ترتیب ۹۸/۷٪، ۴۲٪، ۴۱٪ و ۴۰/۶٪ بود. مقایسه نتایج این تحقیق (۱۱/۷٪ مقاومت) با تحقیق‌های دیگر نشان داد که مقاومت آنتی بیوتیکی در جدایه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* نسبت به سایر آنتی بیوتیک‌ها کمتر بوده و هنوز کارآیی لازم را جهت درمان بیماران مبتلا به این باکتری دارا می‌باشد. سفتازیدیم آنتی بیوتیک دیگری است که در مطالعه حاضر مورد بررسی قرار گرفت و میزان مقاومت ۳۰٪ از خود نشان داد. مقایسه این نتیجه با نتایج سایر مطالعات از جمله فاضلی و همکاران (۱۰۰٪) (۱۵)، شاهچراغی و همکاران (۴۲٪) (۱۷)، دوستی و همکاران (۷۸/۹٪) (۱۸)، میهنی و همکاران (۸۱٪) (۱۹)، موحدی و همکاران (۷۵٪) (۲۰)، صادری و همکاران (۷۳/۴۴٪) (۲۱)، نشان می‌دهد نمونه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* در این تحقیق کمترین میزان مقاومت به سفتازیدیم را نسبت به سایر مطالعات دارند. می‌توان نتیجه گرفت که ژن‌های سیستم QS دارای فروانی بالایی در بین سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* دارد. با توجه به اینکه این سیستم نقش مهمی در پاتوژنیسیته *سودوموناس آئروژینوزا* دارد (۲۲)، نتایج این تحقیق می‌تواند راهگشای درمان در مورد این بیماری باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد بوده که در آزمایشگاه میکروبیولوژی پاسارگاد انجام گرفته است و نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند که از همکاران و پرسنل آزمایشگاه مهندس ابوالفضل مقدم و دکتر علیرضا مختاری تقدیر و تشکر نمایند.

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 7:44 +0430 on Thursday September 21st 2017

References

1. Angosto D, Lopez-Castejon G, Lopez-Munoz A, Sepulcre MP, Arizcun M, Meseguer J, Mulero V. Evolution of inflammasome functions in vertebrates: Inflammasome and caspase-1 trigger fish macrophage cell death but are dispensable for the processing of IL-1β. Innate immunity. 2012 :1;18(6):815-24.
2. Aghamollaei H, Azizi Barjini K, Moosazadeh Mogaddam M. Rapid detection of Pseudomonas aeruginosa by PCR method using specific primers of quorum sensing lasI gene. Armaghane-danesh (YUMSJ). 2014; 18(9): 722-735. (In Persian)
3. Antunes LC, Ferreira RB, Buckner MM, Finlay BB. Quorum sensing in bacterial virulence. Microbiol. 2010; 156(8): 2271-2282.
4. Castillo-Juárez I, Maeda T, Mandujano-Tinoco EA, Tomás M, Pérez-Eretza B, García-Contreras SJ, et al. Role of quorum sensing in bacterial infections. World J Clin Cases:WJCC.2015:16;3(7):575.
5. Hilker R, Munder A, Klockgether J, Losada PM, Chouvarine P, Cramer N, et al. Interclonal gradient of virulence in the Pseudomonas aeruginosa pangenome from disease and environment. Environ Microbiol. 2015 Jan 1;17(1):29-46.
6. Kadhim D and Ali MR. Prevalence study of quorum sensing groups among clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. Int J Curr Microbiol App Sci. 2014; 3(11): 204-215.
7. Benbelaid F, Khadir A, Bendahou M, Zenati F, Bellahsene C, Muselli A, et al. Antimicrobial activity of Rosmarinus eriocalyx essential oil and polyphenols: An endemic medicinal plant from Algeria. Coastal Life Medicine (JCLM). 2016; 4(1): 39-44.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial susceptibility Testing; twenty first Informational Supplement. M100-S21. 2011: Wayne, PA: CLSI.
9. Zhu H, Conibear TCR, Bandara R, Aliwarga R, Stapleton F. Type III secretion system – associated toxins, proteases, serotypes, and antibiotic resistance of Pseudomonas aeruginosa isolate associated with keratitis. Curr Eye Res. 2006; 31: 297-306.
10. Bosgelmez GT, Ulusoy S. Characterization of N-butanoyl-lhomoserine lactone (C4-HSL) deficient clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. Microbial Pathog. 2008; 44: 13-19.
11. Azargoon R, doustdar F, khanbabaei G, mehrnejad F, goudarzi H. Type III secretion system characterization of Pseudomonas aeruginosa associated with cystic fibrosis. Res Med. 2013; 37(3): 189-193.
12. Taghvaee R, Shojapour M, Sadeghi A, Pourbabay AA. The Study of Antibiotic Resistance Pattern and the Frequency of Extended-SpectrumBeta-Lactamases (ESBL) in Pseudomonas aeruginosa Strains Isolated from Medical Centers in Arak City, Iran. Qom Univ Med Sci J. 2013; 7(4): 36-41. (In Persian)
13. Mirsalehian A, Akbari Nakhjavani F, Bahador A, Jabal Ameli F, Bigverdi R, Goli H. Prevalence of MBL-producing

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 7:44 +0430 on Thursday September 21st 2017

Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients.Tehran University Medical Journal. 2011; 68(10): 563-569. (In Persian)

14. RostamPour S, Gorzin AA, Motamedi Gh. Frequency of blaKHM-1, blaIMP-1,2 and blaSPM-1 genes in clinical isolates of metallo β-lactamase producing Pseudomonas aeruginosa in hospitalized burned patients in Ghotbeddin Shirazi Hospital. J Qom Uni Med Sci. 2015; 19(2): 21- 29. (In Persian)
15. Fazeli H, Moslehi Z, Irajian G, , Shokri D, Salehi M. Determination of drug resistance patterns and detection of bla-VIM gene in Pseudomonas aeruginosa isolated from burned patients in Emam Mosa Kazem hospital, Isfahan, Iran (2008-9). Iranian J Med Microbiol. 2010; 3(4): 1-8. (In Persian)
16. Rezaei Yazdi H, Behzadian NG, Peerayesh SN, Mostafaei M. Prevalence and detection of metallo-B-lactamase (MBL) producing Pseudomonas aeruginosa strains from clinical isolates in Iran. Ann Microbiol. 2007; 57: 293-296.
17. Shahcheraghi F, Nikbin VS, Feizabadi MM. Prevalence of ESBLS Gene among Multidrug-Resistant Isolates of Pseudomonas aeruginosa Isolated from Patients in Tehran. Microb Drug Resist. 2009; 15(1): 37 -39.
18. Doosti M, Ramazani A, Garshasbi M. Identification and characterization of metallo-beta-lactamasesproducing seudomonas aeruginosa clinical isolates in University Hospital from Zanjan Province, Iran. Iran Biomed J. 2013; 17(3): 129-133. (In Persian)
19. Mihani F, Khosravi A. MBL-producing Pseudomonas aeruginosa strains isolated frompatients with burn wound infections and PCR methods to identify blaVIM , blaIMP genes. Iran J Microbiol. 2007; 1(1): 23-31. (In Persian)
20. Movahedi Z, Pourakbari B, Mahmoudi S, Sabouri F, Ashtiani Haghi MT, Hosseinpour Sadeghi R, et al. Pseudomonas aeruginosa infection among cystic fibrosis and ICU patients in the referral children medical hospital in Tehran, Iran. J Prev med Hyg. 2013; 54(1): 24-28. (In Persian)
21. Saderi H, Karimi Z, Owlia P, Bahar MA, Akhavan Rad SMB. Phenotypic detection of metallobetalactamase producing Pseudomonas aeruginosa in strains isolated from burned patients. Iranian J pathol. 2008: 3(1): 20-24. (In Persian)
22. Jena J, Debata NK, Sahoo RK, Subudhi E. Phylogenetic study of metallo-β-lactamase producing multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa isolates from burn patients. Burns. 2015:31;41(8):1758-1763.