Prevalence of *phzM* and *pvdA* virulence genes in *pseudomonas aeruginosa* isolated from Infectious disease ward patients

Javid Rad E., MSc[1], Keshavarzi F., PhD[2]
1. Department of Microbiology, Sanandaj branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Genetics, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran (Corresponding Author), Tel:+98-87-33287652, fkeshavarzi@iausdj.ac.ir

ABSTRACT

Background and Aim: *Pseudomonas aeruginosa* is one of the most important causes of nosocomial infections and septicemia in patients with burn and cystic fibrosis. It is found in water and wet soil. *PhzM* and *PvdA* are virulence genes involved in the production of two iron carriers, pyoverdine and pyocyanin. Considering the importance of virulence genes in the bacteria, determination of the frequency of these genes in clinical and environmental samples has shown an increasing trend. The aim of this study was to investigate the prevalence of virulence genes in *pseudomonas aeruginosa* isolated from infected patients.

Material and Method: Clinical samples were obtained from the patients referring to Kermanshah hospitals. After isolation and identification of Pseudomonas aeruginosa strains, DNA extraction was performed by Sina Kit gene and the presence of genes evaluated by PCR. Data were analyzed by using SPSS v20 software.

Results: Among 106 strains, 34 (32.07%) and 47 (44.33%) strains were positive for *pvdA* and *phzM* genes, respectively. The logistic regression analysis revealed significant correlations between the presence of *pvda* gene and samples of urine ($p<0.001$), blood ($p= 0.002$), wound ($p=0.004$) and lung secretion ($p=0.013$). Foremore, there was no relationship between the presence of phzM gene and the above mentioned samples.

Conclusion: We found moderate prevalence rates for *phzM* and *pvdA* virulence genes in *pseudomonas aeruginosa* isolated from Kermanshah hospitals.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, virulence genes, *phzM*, *pvdA.*

Received: Mar 15, 2017 **Accepted:** Sep 24, 2017

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.22102/22.6.74]

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیست و دوم / بهمن و اسفند ۸۳/۱۳۹۶-۷۴

بررسی شیوع ژن‌های بیماری‌زای *phzM* و *pvdA* در سودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده از بیماران بخش عفونی

الهه جاویدراد[1]، فاطمه کشاورزی[2]

۱. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران.

۲. استادیار، گروه ژنتیک، دانشکده علوم، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج ، ایران (مولف مسوول)، تلفن ثابت: ۳۳۲۸۷۶۵۲-۰۸۷،
f.keshavarzi@iausdj.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: باکتری سودوموناس آئروژینوزا یکی از مهم ترین عوامل عفونت های بیمارستانی و سپتی سمی در بیماران بخش سوختگی و افراد مبتلا به بیماری سیستیک فیبروزیس است که در آب و خاک مرطوب نیز یافت می گردد. از ژن‌های بیماری زای درگیر در تولید دو ناقل آهن در باکتری یعنی پیووردین و پیوسیانین ، *pvdA* و *phzM* می باشد. با توجه به اهمیت ژن‌های بیماری‌زا در باکتری‌ها روز به روز تعیین فراوانی آن‌ها در نمونه‌های بالینی باکتری‌های پاتوژن بیشتر می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی شیوع این دو ژن در سودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده از بیماران عفونت یافته می باشد.

روش بررسی: نمونه‌های بالینی از افراد بیماری که به بیمارستان‌های کرمانشاه مراجعه کرده‌اند، گرفته شد. پس از جداسازی و شناسایی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا استخراج DNA با کیت سیناژن صورت گرفت و وجود ژن‌ها مذکور توسط PCR ارزیابی شد. در نهایت داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS v20 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: در میان ۱۰۶ سویه‌ی جدا شده ۳۴ سویه (۳۲/۰۷ درصد) و ۴۷ سویه(۴۴/۳۳ درصد) بترتیب برای ژن های *pvdA* و *phzM* مثبت بودند. آنالیز رگرسیون لجستیک نشان داد که بین حضور ژن pvdA و نمونه‌های گرفته شده از ادرار با p برابر با ۰/۰۰۱، خون با p برابر با ۰/۰۰۲، زخم با p برابر با ۰/۰۰۴ و ریه با p برابر با ۰/۰۱۳ ارتباط معنی داری وجود دارد. بعلاوه، بین حضور ژن phzM و نمونه‌های گرفته شده کلا هیچ رابطه‌ای یافت نشد.

نتیجه گیری: شیوع ژن‌های بیماری زای *phzM* و *pvdA* در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای کرمانشاه متوسط بود.

واژهای کلیدی: سودوموناس آئروژینوزا، ژن‌های بیماری‌زایی، ***phzM*** ، ***pvdA***

وصول مقاله:۹۵/۱۲/۲۵ اصلاحیه نهایی:۹۶/۶/۲۷ پذیرش:۹۶/۷/۲

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.22102/22.6.74]

مقدمه

سودوموناس ها باکتری‌های گرم منفی هستند با بیش از ۱۲۰ گونه بوده که در محیط‌های مرطوب مانند آب و خاک یافت می‌شوند(۱). همچنین این جنس به عنوان پاتوژن ارگانیسم‌های مختلف مانند گیاهان، حیوان‌ها، مخمرها، نماتودها، حشرات و انسان شناسایی شده است(۲). سودوموناس آئروژینوزا شایع ترین عامل عفونت جدا شده از دستگاه تنفسی بیماران دچار نقص ایمنی ، فیبروز کیستیک(۳) و مسئول بخش قابل توجهی از پنومونی اکتسابی در جامعه است(۴).

برخی فاکتورهای ویرولانس در این باکتری احتمالا مربوط به ویژگی‌های باکتری برای جلوگیری از شکار توسط باکتری‌های دیگر می باشد که در محیط اطراف ساکن شده‌اند(۵). این توانایی ناشی از وجود یک ژنوم بزرگ و پیچیده است که چندین فاکتور ویرولانس به همراه سلول و فاکتورهای خارج سلولی شامل آلژینات، اگزوتوکسین‌ها، الاستاز، پروتئاز و پروتئین‌های سیستم ترشحی تیپ ۳ را کد می کند(۶). برخی از فاکتورهای ویرولانس نیز برای بیماری‌زایی این باکتری ضروری هستند(۷). بیماری‌زایی سودوموناس آئروژینوزا مربوط به چندین فاکتور بیماری‌زایی وابسته و خارج سلولی است که می‌تواند طیف وسیعی از عفونت‌های شدید را ایجاد کنند. فاکتورهای وابسته به سلول شامل تاژک، پیلی، لیپوپلی ساکارید، آلژینات/ بیوفیلم، ادهزین های غیرپیلوس و فاکتورهای خارج سلولی مهم پروتئازها، همولیزین، اگزوتوکسین A، اگزوآنزیم S، پیوسیانین و سیدروفور می باشند(۸). اهمیت هر کدام از این فاکتورها وابسته به جایگاه و ماهیت عفونت است(۵).

پیوسیانین (PCN) ترکیب آروماتیک حاوی نیتروژن متعلق به ترکیبات کلاس فنازین سه حلقه ای است(۱۰و ۹). مطالعاتی چند عملکرد پیوسیانین را در بیماری‌زایی سودوموناس و توانایی سمی بودن پیوسیانین نشان داده است(۱۳-۱۱). این تحقیقات نشان داده اند که پیوسیانین اثرات آنتاگونیستی متعدد بر روی میزبان هم در شرایط داخل سلولی و هم در شرایط لوله آزمایش دارد. از جمله این اثرات رها سازی رادیکال‌های آزاد و اثرات التهابی است که منجر به آسیب و مرگ سلولی می‌شود(۱۳-۱۱). تا کنون بیشترین مطالعات در باره‌ی بررسی اثرات پیوسیانین بر مجاری هوایی انسان بوده است. اخیرا در چندین مطالعه به بررسی اثرات پیوسیانین بر اندام‌های دیگر به خصوص مجاری ادراری (۱۴و ۱۲)، سیستم قلبی عروقی (۱۵)، سیستم کبدی(۱۷و ۱۶) و سیستم عصبی مرکزی(۱۸) پرداخته‌اند.

سودوموناس آئروژینوزا به عنوان یک باکتری هوازی(۱۹)، نیاز زیادی به آهن دارد. *سودوموناس آئروژینوزا* به عنوان یک ارگانیسم آزاد، قادر به ترشح مقادیر زیادی از دو سیدروفور، به طور عمده پیووردین(*pvd*) و به میزان کمتر پیوچلین ، به محیط زیست است(۲۰). این سیدروفورها به عنوان انتقال دهنده ای قدرتمند آهن عمل کرده و حمل و نقل آهن از طریق غشاء باکتری و از طریق پروتئین های گیرنده خاصی(TonB-dependent receptors) در سطح غشای خارجی بعهده دارند(۲۲و۲۱). از ژن‌های درگیر در تولید پیووردین، *pvdA* و در تولید پیوسیانین، *phzM* است.

در سال ۲۰۰۴ Finnan و همکارانش مقاله‌ای با عنوان تنوع ژنوم از سودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده از بیماران مبتلا به فیبروز کیستیک و محیط زیست بیمارستان به چاپ رساندند. ژن‌های بیماری‌زایی زیادی توسط آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت که ژن‌های *phzM* و *pvdA* نیز در بین آن‌ها وجود داشت. در نتایج مشاهده شد، ۱۴ سویه دارای ژن *phzM* (۸۲/۳۵ درصد) و ۱۳ سویه نیز دارای ژن *pvdA* (۷۶/۴۷ درصد) بودند (۲۳). Holban و همکاران نیز در سال ۲۰۱۳ در مطالعه‌ای به دنبال شناسایی ژن‌های ویرولانس مختلف در سودوموناس آئروژینوزای گرفته شده از عفونت‌های بیمارستانی در بیماران دارای مشکلات قلبی

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.22102/22.6.74]

بودند که فراوانی ژن *pvdA* در نمونه‌های ادراری، خون، ترشحات ریوی و زخم به ترتیب ۰٪، ۳۰٪، ۰٪ و ۲۵٪ بودند(۲۴).

فاضلی و همکاران در سال ۲۰۱۴ پروفایل کامل ژن-های ویرولانس سودوموناس آئروژینوزای بیمارستانی را در مطالعه‌ای بررسی کردند. در نتایج آن‌ها آمده است که ژن‌های *phzM* و *pvdA* در کل نمونه‌ها دارای فراوانی به ترتیب برابر با ۳۶/۲۷ درصد و ۲۴/۵ درصد بودند. که شیوع ژن *phzM* بیشتر در نمونه-های سوختگی و ژن *pvdA* بیشتر در نمونه‌های زخم یافت شده است(۲۵).

بنا به آنچه بیان شد هدف از این مطالعه بررسی شیوع ژن‌های بیماری‌زای *phzM* و *pvdA* در سودوموناس آئروژینوزا-های جدا شده از بیماران بخش عفونی بیمارستان های کرمانشاه و تعیین ارتباط بین محل عفونت و حضور این ژن‌ها بود.

روش بررسی

شناسایی و ذخیره سازی ایزوله ها:

مطالعه حاضر یک مطالعه توصیفی – تحلیلی است که در فاصله زمانی یکسال از خرداد ۱۳۹۴ تا خرداد ۱۳۹۵ صورت گرفت. در این فاصله زمانی ۱۲۳ نمونه‌ی بالینی (زخم، ادرار، ترشحات ریه و خون) از بیماران مختلف مراجعه کننده به بخش عفونی مراکز درمانی کرمانشاه بعد از گرفتن رضایت نامه از آنها، جمع‌آوری و به آزمایشگاه انتقال داده شد. از میان این ۱۲۳ نمونه بالینی تعداد ۱۰۶ سویه‌ی سودوموناس آئروژینوزا توسط رنگ‌آمیزی و تست‌های بیوشیمیایی جداسازی و شناسایی شد. بیماران مراجعه کننده به بیمارستان های آموزشی کرمانشاه که بیماری آن ها توسط پزشک مربوطه تایید شد، با رضایت کامل و تکمیل پرسشنامه جهت نمونه برداری آماده شدند. در تمامی موارد داده های مربوط به سن، جنس، نوع نمونه، بیماری تشخیص داده شده توسط پزشک، استفاده بیمار از آنتی بیوتیک، داروی تجویز شده توسط پزشک، سابقه بستری شدن در بیمارستان در پرسشنامه تنظیمی، ثبت گردید. نمونه برداری از بیماران به صورت استفاده از یک آبسلانگ چوبی برای نمونه برداری از ریه توسط پزشک، یا سواپ سر پنبه ای استریل و کشیدن آن بر سطح زخم و همچنین استفاده از پیپت های استریل و ظرف های استریل برای نمونه برداری از خون و ادرار، انجام شد.

در ابتدا هر نمونه بر روی هر دو محیط کشت‌های EMB، بلاد آگارکشت داده شدند تا گرم منفی بودن آنها تایید شود در ادامه روی آنها رنگ آمیزی گرام هم صورت گرفت. در ادامه پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون بر روی نمونه های باکتریایی رشد یافته و انجام رنگ آمیزی گرام تست های افتراقی شامل کاتالاز، سیترات، تحریک و تولید اندول، متیل رد، VP، TSI ، اوره آز و اکسیداز انجام شد(۲۵ – ۲۳). برای نگهداری سویه‌ها از محیط LB Luria Bertani (Broth) استفاده شد. پس از تهیه محیط و ریختن ۸۰۰ لاندا از آن‌ها در ویال های ۱/۵ میکرولیتری به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در فشار ۱۵ پوند اتوکلاو شدند. سپس چند کلنی خالص از روی محیط جامد برداشته و در شرایط استریل به محیط مزبور تلقیح شده و کاملا حل شد و به مدت ۲ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس به ویال‌هایی که حاوی ۸۰۰ لاندا محیط LB حاوی باکتری رشد یافته ، ۲۰۰ لاندا گلیسرول اضافه و مخلوط شد و بعد داخل کرایوتیوب های استریل چند پرل استریل قرار گرفت و پس از چند بار invert کردن مستقیما در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد قرار گرفت.

استخراج و بررسی کمی و کیفی DNA:

جهت تهیه‌ی کشت فعال محیط کشت LB که از قبل تهیه شده بود، در دمای محیط قرار داده شد. سپس یک لوپ پر از کلنی باکتری کشت داده شده بر روی نوترینت آگار در مرحله قبل برداشته و داخل محیط مایع LB فرو برده شد و

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.22102/22.6.74]

چند ثانیه در داخل محیط تکان داد شد تا کلنی از لوپ رها شود. سپس محیط LB که باکتری وارد آن شده در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار در دور rpm ۱۳۰ انکوبه شد. در مراحل بعدی برای استخراج DNA از این کشت استفاده می‌شود. استخراج DNA باکتری توسط کیت استخراج DNA باکتری‌های گرم منفی (Sina Gene, Iran) بر اساس دستورالعمل مربوط انجام شد. پس از استخراج از هر نمونه ۴ میکرولیتر به همراه ۲ میکرولیتر Loading dye رقیق شده به روی ژل آگارز ۱/۵٪ ران شد و الکتروفورز انجام گرفت. در ادامه جهت اندازه گیری غلظتDNA µl ۳ از نمونه DNA استخراج شده به همراه µl۹۷ آب مقطر (ضریب رقت ۳۳) به کووت دستگاه اضافه شد و میزان جذب نوری آن اندازه گیری شد. با در نظر گرفتن نسبت OD260/OD280=1.8-2 عنوان کیفیت مطلوب DNA برای استفاده در PCR، نمونه های مناسب تعیین گردید (۲۳).

واکنشPCR برای شناسایی ژن‌های بیماری زایی *pvdA*، *phzM*:

پرایمرهای طراحی شده و مورد استفاده و سایز قطعات برای هر ژن در جدول ۱ آورده شده است، که برای کلیه DNA های استخراج شده انجام شد.

PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتری با استفاده از کیت Acc Power PCR PreMIX ,PCR (شرکت BioNEER ساخت کشور کره) انجام شد. PCR در حجم۲۰ نهایی میکرولیتری با استفاده ازکیت Acc Power PCR PreMIX ,PCR (شرکت BioNEER ساخت کشور کره) انجام شد. پس از آماده سازی، میکروتیوب‌ها در دستگاه ترموسایکلر Mastercycler (Eppendorf) gradien قرار داده شد. ژن های هدف در ترموسایکلر با برنامه ای شامل واسرشت سازی اولیه در ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴ دقیقه و در ادامه ۳۵ چرخه شامل واسرشت شدن (Denaturation) در ۹۵ درجه سانتی گراد، به مدت ۴۵ثانیه، اتصال (Annealing) در دمای ۵۶ درجه سانتی گراد بمدت ۳۰ ثانیه و گسترش (Extention) در ۷۲ درجه سانتی گراد بمدت ۵۰ ثانیه ، سپس گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت. در این بررسی از سایز مارکر ۱۰۰(bp) (Sina Gene, Iran) جهت مشخص نمودن اندازه باندها استفاده گردید (۲۳) . پس از اتمام واکنش، محصولات PCR توسط الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد بررسی شد (شکلهای ۱و۲).

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده و سایز قطعات برای شناسایی ژن‌های بیماری زایی

Target	Primer(5′→3′)	Product size
pvdA	Forward: GGAGACTTTCTGGCGGTAGA	597 bp
	Reverse: GAGTTCAACGACTACCTGCG	
phzM	Forward: GGATGGCCTTGGTCAATTCG	510 bp
	Reverse: TTACCGGGGAATGGAAGTCC	

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.22102/22.6.74]

آنالیز آماری:

در نهایت داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS V20 با استفاده از آزمون logistic regression تجزیه و تحلیل گردید. همچنین نتایج با فاصله اطمینان ۹۵٪ محاسبه شد و P<۰/۰۵ معنی دار تلقی گردید.

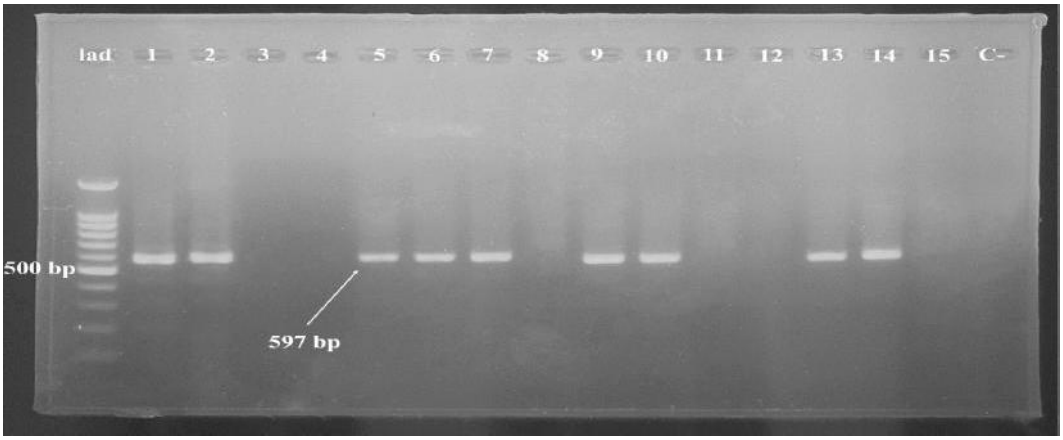
یافته ها

سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا در ۵۱/۸۸ درصد از نمونه‌ی بالینی ادرار، ۱۷/۹۲ درصد نمونه های خون، ۱۴/۱۵ درصد ترشحات زخم و ۱۶/۰۵ درصد از ترشحات ریه جداسازی شدند. پس از انجام PCR دیده شد که در میان ۱۰۶ سویه مورد مطالعه ۳۴ سویه دارای ژن *pvdA* و ۴۷ سویه دارای ژن *phzM* و ۲۵ نمونه حاوی هر دو ژن بودند. در شکل ۱ و ۲ تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR برای شناسایی ژن *pvdA* و *phzM* آورده شده است. همچنین نتایج نشان داد، بیشترین میزان حضور ژن *phzM* در نمونه‌های ادراری و میزان آن برابر با ۵۵/۳۱ درصد بود. بعد از آن نمونه‌ی خون و سپس ترشحات ریه و در آخر نمونه‌های زخمی به ترتیب با فراوانی های ۱۹/۱۴ ٪، ۱۴/۸۹ ٪ و ۱۰/۶۳ ٪ دارای ژن *phzM* بودند. بعلاوه مشاهده شد که ژن *pvdA* در نمونه‌های خونی بیشترین درصد حضور (۳۵/۲۹ درصد)، در نمونه‌های ادرار کمترین درصد حضور (۵/۵۸ ٪) و در نمونه‌های بالینی ترشحات ریه و زخم شیوع برابر به میزان ۲۹/۴۱ ٪ را دارا است. نتایج آنالیز آماری رگرسیون لجستیک بر اساس نوع نمونه بالینی باکتری‌ها و حضور ژن *phzM* و *pvdA* در جدول ۲ آورده شده است.

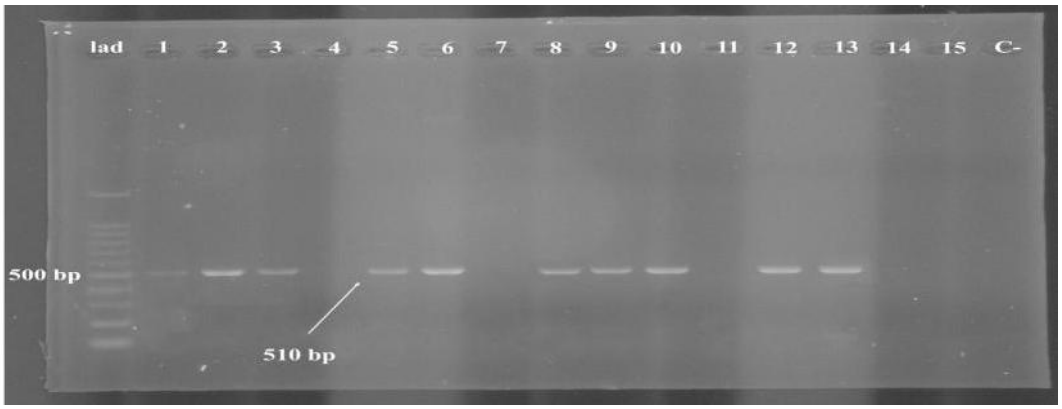
در این آنالیز دیده شد که بین حضور ژن *pvdA* و نمونه‌های گرفته شده از ادرار p<۰/۰۰۱، خون با p برابر با ۰/۰۰۲، زخم با p برابر با ۰/۰۰۴ و ترشحات ریه با p برابر با ۰/۰۱۳ ارتباط معنی داری وجود دارد. همچنین بین حضور ژن *phzM* و نمونه‌های گرفته شده رابطه‌ای یافت نشد. محاسبه‌ی نسبت شانس یا همان OR برای رابطه‌ی حضور ژن *pvdA* و نمونه‌های گرفته شده از ادرار برابر با ۰/۰۲۲ بود(پایین‌تر از ۱) بعبارتی سویه‌هایی که از ادرار جدا شده اند به احتمال خیلی پایینی دارای ژن *pvdA* هستند. نسبت شانس برای رابطه‌ی حضور ژن *pvdA* و نمونه‌های گرفته شده از خون برابر با ۵/۰۶۵ بود(بالاتر از ۱) یعنی ، سویه‌هایی که از خون جدا شده اند ۵/۰۶۵ برابر بیشتر احتمال داشتن ژن *pvdA* را دارند. نسبت شانس برای رابطه‌ی حضور ژن *pvdA* و نمونه‌های گرفته شده از زخم برابر با ۵/۵۸۳ بود (بالاتر از ۱) بعبارتی سویه‌هایی که از زخم جدا شده اند ۵/۵۸۳ برابر بیشتر احتمال داشتن ژن *pvdA* را دارند. نسبت شانس برای رابطه‌ی حضور ژن *pvdA* و نمونه‌های گرفته شده از ریه برابر با ۳/۸۶۹ بود (بالاتر از ۱)، بعبارتی سویه‌هایی که از ریه جدا می‌شوند ۳/۸۶۹ برابر بیشتر احتمال داشتن ژن *pvdA* را دارند.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.22102/22.6.74]



شکل ۱. تصویر ژل الکتروفوز محصول PCR برای شناسایی ژن *pvdA*



شکل ۲. تصویر ژل الکتروفوز محصول PCR برای شناسایی ژن *phzM*

جدول ۲. آنالیز آماری تعیین رابطه‌ی محل عفونت با حضور ژن‌های مورد بررسی

ژن ها	مکان عفونت	P	Exp(B)	CI (۹۵%) for EXP(B)	
				پایین ترین	بالاترین
pvdA	ادرار	<۰/۰۰۱	۰/۰۲۲	۰/۰۰۵	۰/۱۰۳
	خون	۰/۰۰۲	۵/۰۶۵	۱/۷۷۲	۱۴/۴۷۵
	زخم	۰/۰۰۴	۵/۵۸۳	۱/۷۳۲	۱۷/۹۹۷
	ترشحات ریه	۰/۰۱۳	۳/۸۶۹	۱/۳۲۳	۱۱/۳۱۸
phzM	ادرار	۰/۵۲۸	۱/۲۸۱	۰/۵۹۴	۲/۷۶۳
	خون	۰/۷۶۹	۱/۱۶۱	۰/۴۲۹	۳/۱۴۰
	زخم	۰/۳۵۸	۰/۵۸۳	۰/۱۸۵	۱/۸۴۲
	ترشحات ریه	۰/۷۷۵	۰/۸۵۸	۰/۲۹۹	۲/۴۵۶

p value :sig.

-Exp(B) : نسبت شانس یا OR، بدست آمده برای نمونه ها بر اساس منشا کسب نمونه

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.22102/22.6.74]

بحث

۱۰۶ سویه سودوموناس آئروژینوزا وارد این مطالعه شد که ۵۱/۸۸ درصد از نمونه‌ی بالینی ادرار، ۱۷/۹۲ درصد از خون، ۱۴/۱۵ درصد از ترشحات زخم و ۱۶/۰۳ درصد از ریه جداسازی و شناسایی شدند. در میان این ۱۰۶ سویه ۳۴ سویه (۳۲/۰۷ درصد) دارای ژن *pvdA* (تولید کننده‌ی پیووردین) بودند. همچنین ۴۷ سویه ۴۴/۳۳ درصد دارای ژن *phzM* (تولید کننده‌ی پیوسیانین) بودند. در کل ۱۷ سویه (۱۶/۰۳ درصد) به صورت همزمان دارای این دو ژن بودند. توسط آنالیز رگرسیون لجستیک ارتباط بین حضور ژن‌ها و محل عفونت بررسی گردید. در نتایج این مطالعه دیده شد که بین نمونه‌های خون، زخم و ریه و حضور سیدروفور پیووردین در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا رابطه‌ی معنی‌دار با OR بالای یک وجود دارد. هنگامی که آهن از روده کوچک جذب می‌شود بلافاصله در پلاسمای خون با یک بتاگلوبولین موسوم به آپوترانسفرین ترکیب شده و ترانسفرین را تشکیل می‌دهد و سپس در پلاسمای خون انتقال می‌یابد. آهن به صورت بسیار سستی با مولکول گلوبولین ترکیب شده و در نتیجه می‌تواند در هر نقطه از بدن به هر یک از بافت‌ها آزاد شود. مازاد آهن خون در تمام سلول‌های بدن بخصوص در سلول‌های کبدی و به مقدار کمتر در سلول‌های رتیکوآندوتلیال مغز استخوان رسوب می‌کند. آهن درسیتوپلاسم سلول با پروتئینی به نام آپوفریتین ترکیب شده و فریتین را تشکیل می‌دهد(۲۲). بنابراین مقدار آهن آزاد در بسیاری از بافت‌ها بسیار پایین است و اکثرا به صورت ترکیبی وجود دارند. لذا، سویه‌هایی که از خون جدا شده اند باید دارای سیدورفورهایی برای جذب بهینه‌ی آهن‌های آزاد خون باشند، که یکی از آن‌ها پیووردین در سودوموناس آئروژینوزا است. هرچند این را نباید نادیده گرفت که در حالت عادی خون فاقد هر گونه میکروب است، مگر اینکه فرد دچار سپتی سمی شده باشد و میکروب وارد خون شده باشد، در این حالت نیز باکتری از عفونت‌های مختلف در نقاط مختلف بدن می‌تواند به خون راه پیدا کرده باشد. بنابراین سویه‌هایی که از خون جدا شده‌اند می‌توانند مربوط به هر بافت دیگر مانند روده باشند. در زخم نیز مقدار آهن پایین است و بدیهی است که OR برای این نمونه‌ها نیز احتمالا بالای ۱ می‌باشد(۲۲). ریه نیز مانند بافت‌های دیگر دارای مقدار کمی آهن است. در مطالعاتی دیده شده هنگامی که سودوموناس به ریه‌ها حمله می‌کند، قادر به تولید پیووردین می باشد، اما هرچه کلنیزاسیون باکتری در ریه پیشرفت می‌کند دیگر تولید پیووردین کاهش می‌یابد و باکتری پاسخ التهابی قوی داشته و به تولید پیوچلین می‌پردازد که منجر به آسیب بافتی و رها شدن محتویات سلولی شامل هموپروتئین‌ها و دیگر پروتئین‌های حاوی آهن می‌شود. سیدروفورها از جمله پیووردین، در نمونه خلط از بیماران CF تشخیص داده شده است. (۲۲). بنابراین وجود رابطه‌ی معنی دار مستقیم بین حضور ژن تولید کننده‌ی پیووردین و عفونت در ریه ها، منطقی است.

در سال Finnan۲۰۰۴ تنوع ژنوم سودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده از بیماران مبتلا به فیبروز کیستیک را بررسی کرد. ۱۴ سویه دارای ژن *phzM* بودند که برابر با ۸۲/۳۵ درصد است. همچنین ۱۳ سویه نیز دارای ژن *pvdA* بودند که برابر با ۷۶/۴۷ درصد است(۲۳).HOLBAN و همکاران در سال ۲۰۱۳ در مطالعه‌ای به دنبال شناسایی ژن‌های ویرولانس مختلف در سودوموناس آئروژینوزای گرفته شده از عفونت‌های بیمارستانی در بیماران

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.22102/22.6.74]

دارای مشکلات قلبی بودند. در میان ژن‌های زیادی که آن‌ها شناسایی کردند فراوانی ژن *pvdA* در نمونه‌های ادراری، خون، ترشحات ریوی و زخم به ترتیب ۰٪، ۳۰٪، ۰٪ و ۲۵٪ بود(۲۴). فاضلی و همکاران نیز در سال ۲۰۱۴ پروفایل کامل ژن‌های ویرولانس سودوموناس آئروژینوزای بیمارستانی را در مطالعه‌ای بررسی کردند. فراوانی ژن‌های *phzM* و *pvdA* در نمونه‌ها به ترتیب ۳۶/۲۷ درصد و ۲۴/۵ درصد بود. ژن *phzM* بیشتر در نمونه‌های سوختگی و ژن *pvdA* بیشتر در نمونه‌های زخم یافت شد (۲۵). با مقایسه نتایج مطالعه‌ی آن‌ها با مطالعه‌ی حاضر می‌توان دید که اختلاف‌های و شباهت‌هایی وجود دارد. به عنوان مثال آن‌ها در ادرار سویه‌ای که دارای ژن *pvdA* باشد، یافت نکرده‌اند و همانطور که گفته شد در مطالعه‌ی حاضر نیز رابطه‌ی بین حضور ژن *pvdA* و ادرار را به صورت معکوس گزارش شده است(OR=۰/۰۲۲). نتایج حضور ژن *pvdA* در خون هماهنگ است. نتایج آن‌ها برای زخم نیز تقریبا مشابه مطالعه حاضر بود. اما تفاوت در این دو مطالعه در نتایج به دست آمده در رابطه با سویه‌های ریوی بود. دلیل این تفاوت را می‌توان در این دید که شاید سویه‌های مطالعه‌ی آن‌ها دارای مکانیسم‌های دیگر جذب آهن بوده‌اند. ژن *phzM* دارای پراکندگی یکسان در محل‌های عفونت مختلف بود به همین دلیل رابطه‌ی معنی‌داری بین محل عفونت و حضور این ژن یافت نشد. تفاوت در منطقه‌ی جغرافیایی اصلی‌ترین دلیل این تفاوت در چنین مطالعاتی محسوب می‌شود. دلیل دیگر نیز می‌تواند تفاوت در نوع سویه باشد که آن‌ها از سویه‌های محیطی نیز در مطالعه‌ی خود استفاده کرده‌اند و همچنین اینکه آن‌ها از تعداد سویه‌های کم استفاده کرده اند.

نتیجه گیری

با بررسی شیوع ژن‌های ویرولانس در سویه‌های بیماری‌زایی در نقاط مختلف جهان می‌توان به الگوی پراکندگی این ژن‌ها دست یافت که در شناخت بهتر نحوه‌ی بیماری‌زایی و نقش این ژن‌ها در بیماری‌زایی سویه‌ها کمک فراوان می‌کند. با شناخت بهتر بیماری‌زایی و نقش این ژن‌ها پزشکان می‌توانند مسیر درمان را به بهترین صورت انتخاب کنند. ژن‌های *phzM* و *pvdA* در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای کرمانشاه تقریبا شیوع متوسطی دارد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر نتیجه پایان نامه کارشناسی ارشد دانشجوی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات سنندج است. نویسندگان این مقاله از همکاری صمیمانه مدیریت بیمارستان های امام خمینی و امام علی کرمانشاه و پرسنل آزمایشگاه تشکر و قدردانی دارند.

Reference

1. Streeter K, Katouli M. Pseudomonas aeruginosa: A review of their Pathogenesis and Prevalence in Clinical Settings and the Environment. Infect Epidemiol Med 2016;2:25-32.
2. Pereira S, Rosa A, Ferreira A, Moreira L, Proença D, Morais P, et al. Virulence factors and infection ability of Pseudomonas aeruginosa isolates from a hydropathic facility and respiratory infections. J Appl Microbiol 2014;116:1359-68.
3. Fricks-Lima J, Hendrickson C, Allgaier M, Zhuo H, Wiener-Kronish J, Lynch S, et al. Differences in biofilm formation and antimicrobial resistance of Pseudomonas aeruginosa isolated from airways of mechanically ventilated patients and cystic fibrosis patients. Int J Antimicrob Agents 2011;37:309-15.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.22102/22.6.74]

4. Sibila O, Laserna E, Maselli DJ, Fernandez JF, Mortensen EM, Anzueto A, et al. Risk factors and antibiotic therapy in P. aeruginosa community-acquired pneumonia. Respirology 2015;20:660-66.
5. Engel J, Balachandran P. Role of Pseudomonas aeruginosa type III effectors in disease. Curr Opin Microbiol 2009;12:61-6.
6. Stover C, Pham X, Erwin A, Mizoguchi S, Warrener P, Hickey M, et al. Complete genome sequence of Pseudomonas aeruginosa PAO1, an opportunistic pathogen. Nature 2000;406:959-64.
7. Gellatly SL, Hancock RE. Pseudomonas aeruginosa: new insights into pathogenesis and host defenses. Pathog Dis 2013;67:159-73.
8. Vandelden C, Iglewski BH. Cell-to-cell signaling and Pseudomonas aeruginosa infections. Emerg Infect Dis 1998;4:551–60.
9. Omalley, YQ, Reszka KJ, Britigan BE. Direct oxidation of 2',7'-dichlorodihydrofluorescein by pyocyanin and other redox-active compounds independent of reactive oxygen species production. Free Radic Biol Med 2004;36:90-100.
10. Hall, S, McDermott C, Anoopkumar-Dukie S, McFarland AJ, Forbes A, Perkins AV, et al. Cellular effects of pyocyanin, a secreted virulence factor of pseudomonas aeruginosa. Toxins 2016;8:236.
11. Lau GW, Ran H, Kong F, Hassett DJ, Mavrodi D. Pseudomonas aeruginosa pyocyanin is critical for lung infection in mice. Infect Immun 2004;72:4275-8.
12. McDermott C, Chess-Williams R, Mills KA, Kang SH, Farr S, Grant GD, et al. Alterations in acetylcholine, PGE 2 and IL6 release from urothelial cells following treatment with pyocyanin and lipopolysaccharide. Toxicol In Vitro 2013;27:1693-8.
13. Britigan BE, Roeder TL, Rasmussen GT, Shasby DM, McCormick ML, Cox CD. Interaction of the Pseudomonas aeruginosa secretory products pyocyanin and pyochelin generates hydroxyl radical and causes synergistic damage to endothelial cells. Implications for Pseudomonas-associated tissue injury. Eur J Clin Invest 1992;90:2187-96.
14. McDermott C, Chess-Williams R, Grant GD, Perkins AV. McFarland AJ, Davey AK, et al. Effects of Pseudomonas aeruginosa virulence factor pyocyanin on human urothelial cell function and viability. J Urol 2012;187:1087-93.
15. Hempenstall A, Grant GD, Anoopkumar-Dukie S, Johnson PJ. Pyocyanin inhibits both nitric oxide-dependent and-independent relaxation in porcine coronary arteries. Clin Exp Pharmacol Physiol 2015;42:186-91.
16. Cheluvappa R, Jamieson HA, Hilmer SN, Muller M, Le Couteur DG. The effect of Pseudomonas aeruginosa virulence factor, pyocyanin, on the liver sinusoidal endothelial cell. *J* Gastroenterol Hepatol 2007;22:1350-1.
17. Cheluvappa R, Cogger VC, Kwun SY, O'Reilly JN, LeCouteur DG, Hilmer SN. Liver sinusoidal endothelial cells and acute non-oxidative hepatic injury induced by Pseudomonas aeruginosa pyocyanin. Int J Clin Exp Pathol 2008;89:410-8.
18. McFarland AJ, Grant GD, Perkins AV, Flegg C, Davey AK, Allsopp TJ, et al. Paradoxical role of 3-methyladenine in pyocyanin-induced toxicity in 1321N1 astrocytoma and SH-SY5Y neuroblastoma cells. Int J Toxicol 2013;32:209-18.
19. Krämer A, Herzer J, Overhage J, Meyer-Almes FJ. Substrate specificity and function of acetylpolyamine amidohydrolases from Pseudomonas aeruginosa. BMC Biochem 2016;17:4.
20. Meyer JM, Neely A, Stintzi A, Georges C, Holder IA. Pyoverdin is essential for virulence of Pseudomonas aeruginosa. Infect Immun 1996;64:518-23.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.22102/22.6.74]

21. Cornelis P, Dingemans J. Pseudomonas aeruginosa adapts its iron uptake strategies in function of the type of infections. Front Cell Infect Microbiol 2013;3:75.
22. Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. Int J Hematol 2008;88:7-15.
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;42:5783-92.
24. Holban AM, Chifiriuc MC, Cotar AI, Bleotu C, Grumezescu AM, Banu O, et al. Virulence markers in Pseudomonas aeruginosa isolates from hospital-acquired infections occurred in patients with underlying cardiovascular disease. Rom Biotehnol Lett 2013;18:8843-54.
25. Fazeli N, Momtaz H. Virulence Gene Profiles of Multidrug-Resistant Pseudomonas aeruginosa Isolated From Iranian Hospital Infections. Iran Red Crescent Med J 2014;16:1-10.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.22102/22.6.74]