

نویسنده مسئول: محمدرضا اسدی کرم، تهران، انستیتو پاستور ایران، بخش بیولوژی مولکولی
آدرس پست الکترونیک: m_asadi12@yahoo.com

مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا (*P. aeruginosa*) یکی از مهم‌ترین باکتری‌های گرم منفی است و به‌عنوان یک باکتری فرصت‌طلب مسئول حدود ۱۰ تا ۲۰ درصد عفونت‌های بیمارستانی در سراسر جهان است. این باکتری می‌تواند باعث طیف وسیعی از عفونت‌های خطرناک، از جمله عفونت ریوی مرتبط با دستگاه تنفس مصنوعی، عفونت‌های جریان خون، عفونت‌های دستگاه ادراری، عفونت‌های بافت نرم و عفونت‌های منتشر در بدن شود (۱). سودوموناس آئروژینوزا به‌طور ذاتی به کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم است و می‌تواند در برابر تقریباً تمام عوامل ضد میکروبی مؤثر مقاومت نشان دهد که منجر به ایجاد سویه‌های مقاوم به چند دارو (MDR) می‌شود (۲). این مقاومت ذاتی، همراه با فاکتورهای بیماری‌زای مختلف که در شرایط مختلف بیان می‌شوند، منجر به عوارض و مرگ‌ومیر قابل‌توجهی می‌شود (۳، ۴). فاکتورهای بیماری‌زای سودوموناس آئروژینوزا به عوامل مرتبط با سلول، از جمله فاکتورهای اتصال و لیپوپلی ساکاریدها و همچنین عوامل ترشحی مانند آگزوتوکسین A، پروتئازها، آگزونزیم‌ها، فسفولیپازهای C، پیوسیانین، آلزینات و DNase طبقه‌بندی می‌شوند (۵). علاوه بر این، سودوموناس آئروژینوزا می‌تواند ساختارهایی به نام بیوفیلم را در عفونت‌های حاد و مزمن تشکیل دهد که منجر به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی و عفونت‌های پایدار بیمارستانی تهدیدکننده حیات می‌شوند (۱). شناسایی عوامل بیماری‌زایی کلیدی برای طراحی عوامل مؤثر ضد فاکتورهای بیماری‌زا که می‌توانند برای غلبه بر مشکل توسعه مقاومت به درمان عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا مورد استفاده قرار گیرند، بسیار بااهمیت است. مطالعه حاضر باهدف شناسایی فاکتورهای بیماری‌زای جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزای جداسازی شده از بیماران دارای عفونت دستگاه ادراری بستری در دو بیمارستان شهر تهران و مقایسه آن‌ها با بیماران سرپایی انجام شد. این اطلاعات می‌تواند در آینده برای راهکارهای بهتر درمانی عفونت ادراری

به‌خصوص در بین بیماران بستری در بیمارستان مفید واقع شود.

روش‌ها

تعیین هویت جدایه‌های جمع‌آوری شده

در این مطالعه با مراجعه به آزمایشگاه دو تا از بیمارستان‌های شهر تهران، پلیت‌های حاوی جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزای جداسازی شده از عفونت‌های مجاری ادراری بیماران جمع‌آوری و به آزمایشگاه بخش بیولوژی مولکولی انستیتو پاستور ایران منتقل گردید. این جدایه‌ها از مهرماه تا بهمن‌ماه سال ۱۴۰۰ از بیمارستان‌ها جمع‌آوری گردیدند (۱). برای محاسبه حجم نمونه از فرمول ذیل با دقت ۹۵٪ استفاده گردید:

$$n = \frac{z_{1-\frac{\alpha}{2}}^2 p(1-p)}{d^2}$$

n = حجم نمونه

p = نسبت صفت موجود در جامعه

d = مقدار اشتباه مجاز یا درصد خطا

α = خطای نوع اول = 0.05

z = مقدار متغیر نرمال استاندارد در سطح اطمینان = $(1 - \alpha)$ 1.96٪

در آزمایشگاه، جدایه‌ها بر روی محیط‌های بلاد آگار و مک کانکی آگار (مرک، آلمان) کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. سپس جهت تشخیص جدایه‌ها و حصول اطمینان از جنس و گونه باکتری تست‌های بیوشیمیایی استاندارد از جمله تست اکسیدان، تست کاتالاز، واکنش در محیط TSI (Triple Sugar Iron Agar)، تست OF (Oxidation Fermentation Test)، کشت در محیط SIM در جهت بررسی وجود تحرک و تولید اندول و گاز، رشد در ۴۲ درجه سانتی‌گراد و تولید پیگمان پیوسیانین در محیط مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) انجام شد. سپس جهت انجام تست‌های بعدی، جدایه‌های خالص‌شده به محیط TSB (مرک، آلمان) حاوی ۲۰٪ گلیسرول تلقیح گردیده و در دمای ۷۰-

کننده بیوفیلم به سه دسته تولیدکننده بیوفیلم ضعیف (ODc < 2x ODc)، متوسط (2x ODc < ODc < 4x ODc) و قوی (ODc < 4x ODc) طبقه‌بندی شدند. در این طبقه‌بندی، به‌عنوان جذب نوری مقدار cut-off شناخته می‌شود که برابر است با مجموع میانگین جذب نوری (OD) کنترل منفی با سه برابر انحراف معیار (SD) کنترل منفی.

انجام روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرازی (PCR)

در مرحله بعدی جهت بررسی حضور یا عدم حضور ژن‌های کد کننده فاکتورهای بیماری‌زا در جدایه های سودوموناس آئروژینوزا از روش PCR استفاده گردید. این ژن‌ها شامل ژن‌های کد کننده پیلی (*PilB*)، آلزینات (*AlgD*)، الاستاز (*LasB*)، فسفولیپاز C (*PlcH* و *PlcN*)، اگزوتوکسین A (*ToxA*)، آلکالین پروتئاز (*AprA*) و سیستم ترشحی تیپ ۳ شامل *ExoU* و *ExoS* و *PcrV* بود (جدول ۱).

برای انجام روش PCR، در ابتدا از جدایه های بالینی جمع‌آوری‌شده، تخلیص DNA با روش جوشاندن (Boiling) صورت گرفت که سپس با الکتروفورز روی ژل آگارز (سیگما، آمریکا) و نیز استفاده از روش اسپکتروفتومتر غلظت و خلوص ژنوم تخلیص شده بررسی گردید. در مرحله بعد PCR برای تکثیر هرکدام از این ژن‌ها به‌صورت جداگانه بهینه‌سازی و انجام گردید. پس از تکثیر ژن‌ها، صحت اولیه محصولات PCR به‌دست‌آمده توسط الکتروفورز روی ژل آگارز بررسی شد. برای انجام این تست از سویه استاندارد سودوموناس آئروژینوزا PAO1 به‌عنوان کنترل مثبت و از سویه اشریشیا کلی K12 به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد.

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن‌های مرتبط با فاکتورهای بیماری‌زا

مرجع	دمای اتصال (°C)	اندازه محصول (bp)	توالی پرایمر	ژن هدف
(۷)	۶۲	۱۳۰۰	ATGCGAATCAGCATCTTTGG CCAGCAGATGCCCTCGGCC	<i>algD</i>
(۷)	۶۰	۸۲۶	ATGAACGACAGCATCCAAC GGGTGTTGACGCGAAAGTCGAT	<i>pilB</i>
(۸)	۵۶	۳۰۰	GGAATGAACGAAGCGTTCTC GGTCCAGTAGTAGCGGTTGG	<i>lasB</i>
(۹)	۵۵	۴۶۶	GTTATCGCAACCAGCCCTAC AGGTGGAACACCTGGAACAC	<i>plcN</i>

درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. لازم به ذکر است که مطالعه حاضر با کد اخلاق IR.PII.REC.1399.007 توسط کمیته تحقیقات اخلاقی انستیتو پاستور ایران تأیید شد. از همه شرکت‌کنندگان در مطالعه رضایت آگاهانه تهیه شد. برای شرکت‌کنندگان زیر ۱۶ سال، رضایت آگاهانه از والدین و/یا قیم قانونی اخذ شد.

ارزیابی فنوتیپی و ژنوتیپی فاکتورهای بیماری‌زا در

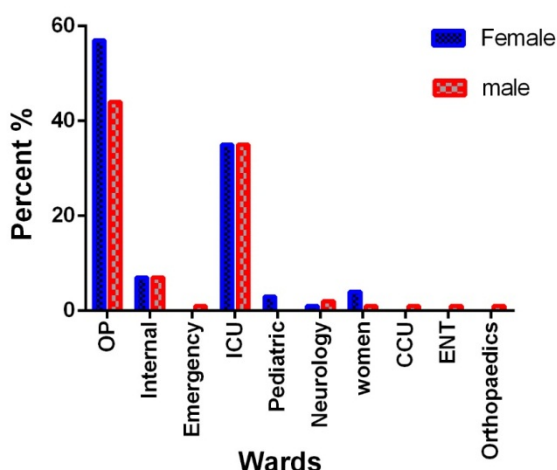
جدایه ها

بررسی تولید بیوفیلم

برای انجام این تست، جدایه ها را در محیط LB براث (مرک، آلمان کشت داده و سپس حدود ۱۰۰ میکرولیتر از این جدایه ها را در پلیتهای ۹۶ خانه‌ای کشت مجدد داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه گردیدند. در مرحله بعدی سلول‌هایی که به کف پلیت نچسبیده‌اند با چندین مرتبه شستشو با آب مقطر برداشته‌شده و سپس سلول‌های کف پلیت به مدت ۱۵ دقیقه با کریستال ویوله ۰/۲ درصد رنگ شدند. پس از خارج کردن رنگ اضافی و شستشوی چند مرتبه‌ای پلیت‌ها با آب مقطر تمیز، حدود ۲۰۰ میکرولیتر اتانول ۹۶ درصد به خانه‌های پلیت افزوده شد و سپس حدود ۱۲۵ میکرولیتر از این مخلوط به خانه‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای دیگر منتقل و با خواندن جذب پلیت‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر میزان تولید بیوفیلم توسط این جدایه ها بررسی شد. برای انجام این تست از سویه استاندارد سودوموناس آئروژینوزا ۲۷۸۵۳ به‌عنوان کنترل مثبت و از سویه اشریشیاکی K12 به‌عنوان کنترل منفی استفاده گردید (۶). در این مطالعه بر اساس میزان جذب نوری، جدایه های تولید

مرجع	دمای اتصال (°C)	اندازه محصول (bp)	توالی پرایمر	ژن هدف
(۸)	۵۶	۳۰۷	GAAGCCATGGGCTACTTCAA AGAGTGACGAGGAGCGGTAG	<i>plcH</i>
(۸)	۵۸	۳۲۵	GGTAACCAGCTCAGCCACAT TGATGTCCAGGTCATGCTTC	<i>toxA</i>
(۱۰)	۶۱	۹۹۳	GTCGACCAGGCGGCGAGCAGATC GCCGAGGCCGCCGTAGAGGATGTC	<i>aprA</i>
(۱۱)	۶۲	۸۸۴	ATGGAAGTCAGAAACCTT GATCGCGCTGAGAATGTCTG	<i>pcrV</i>
(۸)	۵۵	۵۰۴	CTTGAAGGGACTCGACAAGG TTCAGGTCCGCGTAGTGAAT	<i>exoS</i>
(۷)	۶۰	۴۲۸	GGGAATACTTTCCGGGAAGTT CGATCTCGCTGCTAATGTGTT	<i>exoU</i>

در این مطالعه، تعداد ۱۰۷ جدایه از جنس مؤنث و تعداد ۹۳ جدایه از جنس مذکر جدا گردید. همچنین توزیع این جدایه‌ها برحسب جنس بیمار نیز در کنار بخش بستری یا سرپایی بودن در نمودار ۱ آورده شده است.



نمودار ۱. توزیع بالینی جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا برحسب بخش بستری و جنس بیمار

ارزیابی فنوتیپی و ژنوتیپی فاکتورهای بیماری‌زای جدایه‌های باکتریایی

نتایج بررسی تشکیل بیوفیلم به روش میکروتیتراپل

نتایج تست تشکیل بیوفیلم نشان داد که همه جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از عفونت مجاری ادراری توانایی تشکیل بیوفیلم را داشتند که البته شدت تشکیل بیوفیلم

آنالیز آماری

کلیه بررسی‌های آماری توسط نرم‌افزار SPSS version 22.0 (IBM, Chicago, USA) انجام شد. از آزمون‌های آماری Chi-square، Independent sample t test و two tailed fisher exact برای مقایسه‌های آماری استفاده شد. همچنین مقدار آماری P value کمتر از ۰/۰۵ به عنوان شاخص آماری در آنالیز نتایج در نظر گرفته شد.

نتایج

فراوانی و توزیع بالینی جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا

در مطالعه حاضر با استفاده از کشت و تست‌های بیوشیمیایی استاندارد در نهایت ۲۰۰ جدایه سودوموناس آئروژینوزا جداسازی گردید. میانگین سنی افراد شرکت‌کننده در مطالعه حاضر $49/95 \pm 17/01$ سال بود. از مجموع ۲۰۰ جدایه بالینی مورد مطالعه، ۱۱۴ جدایه (۵۷٪) از نمونه‌های بالینی بیمارستان A و ۸۶ جدایه (۴۳٪) از نمونه‌های بالینی بیمارستان B جداسازی گردید. در این مطالعه جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا از بیماران سرپایی و همچنین بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان (شامل ۱۰ بخش) جدا گردیدند (جدول ۲). همان‌طور که در جدول ۲ آورده شده است اکثر جدایه‌های جدا شده از بیماران بستری مربوط به بخش ICU (۳۵٪) بوده است.

جدول ۲. فراوانی جدایه‌های بالینی مورد بررسی برحسب وضعیت بیمار

وضعیت بیمار (سرپایی/ بخش بستری)	تعداد	فراوانی نسبی (درصد)
سرپایی	۱۰۰	۵۰
ICU	۷۰	۳۵
داخلی	۱۴	۷
گوارش	۵	۲/۵
اطفال	۳	۱/۵
مغز و اعصاب	۳	۱/۵
زنان	۱	۰/۵
گوش، حلق و بینی (ENT)	۱	۰/۵
CCU	۱	۰/۵
ارتوپدی	۱	۰/۵
اورژانس	۱	۰/۵
تعداد کل	۲۰۰	۱۰۰

۱۷۱ جدایه (۸۵/۵٪)، ژن *aprA* در ۱۶۸ جدایه (۸۴٪)، ژن *plcN* در ۱۶۰ جدایه (۸۰٪)، ژن *toxA* در ۱۵۵ جدایه (۷۷/۵٪)، ژن *exoS* در ۱۳۳ جدایه (۶۶/۵٪)، ژن *pilB* در ۱۲۴ جدایه (۶۲٪)، ژن *plcH* در ۱۱۷ جدایه (۵۸/۵٪) و ژن *exoU* در ۹۰ جدایه (۴۵٪) شناسایی شد (جدول ۴). در این بررسی هیچ ارتباط معنی‌داری بین حضور ژن‌های بیماری‌زا برحسب جنسیت و وضعیت بیمار مشاهده نشد ($P>0.05$)، ولی ارتباط معنی‌داری بین حضور ژن بیماری‌زای *exoS* و سن بیماران مشاهده شد ($P=0.04$). همچنین ارتباط معناداری بین حضور تمام ژن‌های مورد بررسی و نوع بیمارستان مشاهده شد، به‌جز ژن‌های *plcN* و *toxA* که در این رابطه استثنا بودند. در این بررسی، ژن‌های بیماری‌زا در ۸۹ الگوی مشخص شناسایی شدند که بر این اساس شایع‌ترین الگوهای مرتبط با فاکتورهای بیماری‌زا در جدول ۵ آورده شده است. همان‌گونه که در این جدول مشاهده می‌شود ۸۶ جدایه دارای ۹ الگوی بیماری‌زای شایع بودند و در ۲۱ جدایه حضور هم‌زمان ۹ ژن بیماری‌زای مورد بررسی مشاهده شد.

در آن‌ها به‌صورت قوی، متوسط و ضعیف بود. بالغ‌بر ۵۰٪ (۱۰۶ نمونه) از جدایه‌های جمع‌آوری‌شده قدرت تولید بیوفیلیم قوی را داشتند که ۶۱ جدایه از این جدایه‌ها از بیمارستان A و ۴۵ جدایه از بیمارستان B جداسازی شدند. همچنین جدایه‌های جمع‌آوری‌شده از بیماران بستری در مقایسه با بیماران سرپایی توانایی بیشتری در تولید بیوفیلیم قوی را نشان دادند که البته این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P>0.05$). در جدول ۳ توزیع جدایه‌های دارای قدرت تولید بیوفیلیم برحسب نوع بیمارستان، وضعیت، جنسیت و سن بیمار آمده است. در این بررسی هیچ ارتباط معنی‌داری بین قدرت تشکیل بیوفیلیم و متغیرهای بیمارستان، وضعیت، جنسیت و سن بیمار مشاهده نشد ($P>0.05$).

واکنش PCR برای شناسایی فاکتورهای بیماری‌زا

فاکتورهای بیماری‌زا مورد مطالعه شامل ۱۰ ژن بیماری‌زا بودند که در تمامی جدایه‌های جدا شده حضور یا عدم حضور آن‌ها با روش PCR بررسی گردید. در میان ۱۰ ژن بیماری‌زا، ژن *algD* از همه شایع‌تر بود و در ۱۸۰ جدایه (۹۰٪) یافت شد. علاوه بر این ژن، ژن *lasB* در ۱۷۶ جدایه (۸۸٪)، ژن *pcrV* در

این جدایه‌ها است. همچنین، جدایه‌های دارای تفاوت بیشتر در الگوهای ژنی، مانند V7 با ۱۲ جدایه که فقط دو ژن بیماری‌زا (*toxA* و *lasB*) را دارد، در شاخه‌های دورتر از سایر الگوها قرار گرفته‌اند. این درخت به خوبی تفاوت‌ها و شباهت‌های موجود بین جدایه‌ها را نشان می‌دهد و می‌تواند به عنوان یک ابزار مفید برای درک توزیع و تکامل ژن‌های بیماری‌زا در جمعیت‌های مختلف سودوموناس آئروژینوزا مورد استفاده قرار گیرد.

همچنین در این مطالعه درخت فیلوژنتیک جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا بر اساس الگوهای ژن‌های بیماری‌زا ترسیم گردید (شکل ۱). این درخت ۸۶ جدایه را که در ۹ الگوی مختلف بیماری‌زایی طبقه‌بندی شده‌اند، مقایسه می‌کند. هر شاخه در درخت نشان‌دهنده یک گروه از جدایه‌ها است که شباهت‌های ژنتیکی بیشتری دارند. جدایه‌های دارای الگوهای مشابه ژنی، مانند V5 با ۲۱ جدایه و V60 با ۱۵ جدایه در شاخه‌های نزدیک به هم قرار گرفته‌اند که این نزدیکی نشان‌دهنده شباهت بالای بین

جدول ۳. توانایی تولید بیوفیلم در جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا به تفکیک متغیرهای بیمارستان، وضعیت، جنسیت و سن بیمار

سن بیمار				جنسیت بیمار		وضعیت بیمار		بیمارستان		تعداد (درصد)	بیوفیلم
۶۰-۸۷	۴۰-۵۹	۲۰-۳۹	۹-۱۹	مؤنث	مذکر	بستری	سرپایی	B	A	۲۰۰ (۱۰۰)	
(۳۳/۹۶)	(۳۴/۹۰)	(۳۱/۱)	۰	(۴۹/۰۵)	(۵۰/۹۵)	(۵۱/۸۸)	(۴۸/۱۱)	(۴۲/۴)	(۵۷/۵)	۱۰۶ (۵۳)	قوی
۳۶	۳۷	۳۳		۵۲	۵۴	۵۵	۵۱	۴۵	۶۱		
(۲۶/۳۱)	(۴۰/۷۸)	(۲۸/۹۴)	(۳/۹۴)	(۶۰/۲)	(۳۹/۴۷)	(۵۵/۲)	(۵۵/۲)	(۴۰/۷)	(۵۹/۲۱)	۷۶ (۳۸)	متوسط
۲۰	۳۱	۲۲	۳	۴۶	۳۰	۴۲	۴۲	۳۱	۴۵		
۴ (۲۲/۲)	۹ (۵۰)	(۲۷/۷۷)	۰	۹ (۵۰)	۹ (۵۰)	(۶۱/۱)	۷ (۳۸/۸)	(۵۵/۵)	(۴۴/۴)	۱۸ (۹)	ضعیف
		۵				۱۱		۱۰	۸		

تشکیل بیوفیلم متوسط (۳۹٪) و ضعیف (۸/۵٪) را نشان دادند. بیش از نیمی از جدارها قادر به تولید بیوفیلم قوی بودند که این ویژگی می‌تواند به افزایش مقاومت باکتریایی و دشواری در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری منجر شود. یافته‌های مشابهی توسط سایر محققان گزارش شده است (۱۲-۱۴). مطالعات انجام‌شده در سال ۲۰۱۸ توسط J. Lima و همکاران (۱۳) برای ارزیابی توانایی تشکیل بیوفیلم نشان داد که ۷۷/۵٪ از جدایه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا قادر به تولید بیوفیلم بودند. Da Silva Carvalho و همکاران (۱۴) دریافتند که ۸۶/۵٪ از جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا مورد مطالعه به عنوان تولیدکنندگان بیوفیلم قوی یا متوسط طبقه‌بندی شدند. در مطالعه حاضر اگرچه تفاوت‌هایی در توزیع جدایه‌های تولیدکننده بیوفیلم قوی میان بیمارستان‌های مختلف و بین

ارتباط بین تشکیل بیوفیلم با ژن‌های بیماری‌زا

در بررسی ارتباط بین نوع ژن بیماری‌زا و شدت تولید بیوفیلم ارتباط معناداری بین حضور ژن *exoS* و قدرت تشکیل بیوفیلم مشاهده شد ($P=0.03$). در بررسی سایر ژن‌ها نیز به طور کلی جدایه‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم قوی دارای فراوانی بیشتری از ژن‌های بیماری‌زا نسبت به جدایه‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم متوسط و ضعیف بودند ($P>0.05$) (جدول ۶).

بحث

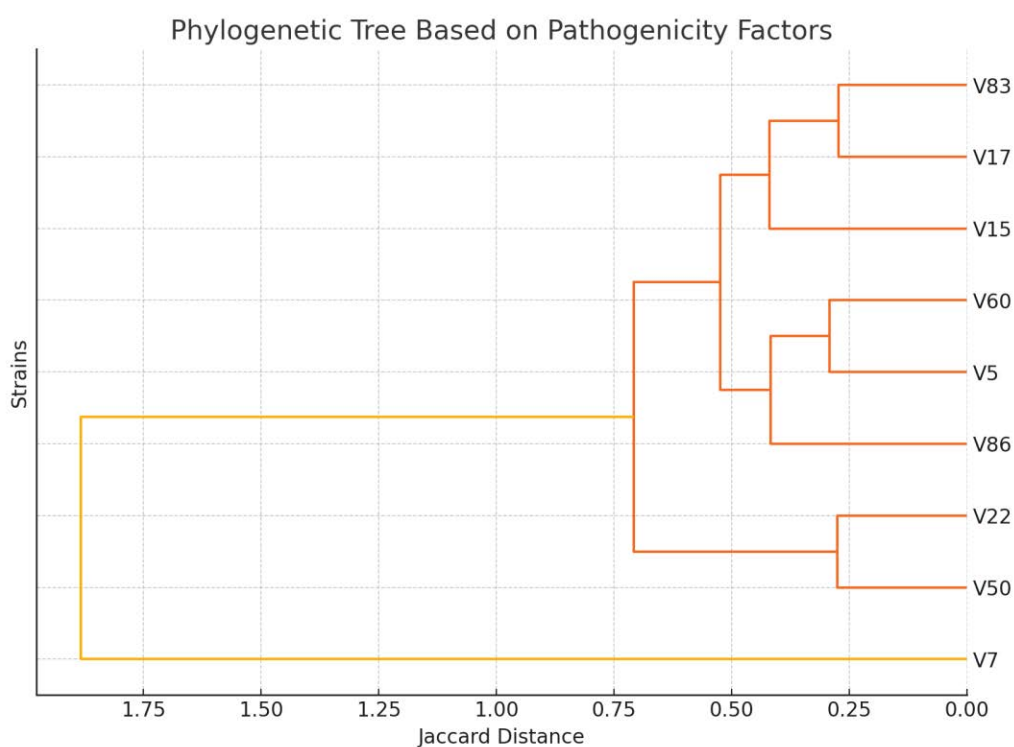
تشکیل بیوفیلم ممکن است منجر به مشکلاتی در درمان عفونت‌های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا شود. مطالعه حاضر نشان داد که تمامی جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا جداسازی شده از نمونه‌های ادراری قادر به تشکیل بیوفیلم در شرایط آزمایشگاهی بودند. با این حال، آن‌ها دارای قدرت تشکیل بیوفیلم متفاوت بودند. اکثر جدایه‌ها ظرفیت تشکیل بیوفیلم قوی (۵۲/۵٪) را نشان دادند، در حالی که جدایه‌های کمتری پتانسیل

جدول ۴. فراوانی نسبی ژن‌های بیماری‌زای جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا بر اساس جنس، بخش بستری و بیمارستان

ژن بیماری‌زا	تعداد(درصد)	جنسیت بیمار			وضعیت بیمار			نوع بیمارستان			سن بیمار				
		مؤنث	مذکر	P Value	بستری	سرپایی	P Value	B	A	P Value	۹-۱۹	۲۰-۳۹	۴۰-۵۹	۶۰-۸۷	P Value
<i>algD</i>	۱۸۰(۹۰)	۹۷(۵۳/۸)	۸۳(۴۶/۲)	۰/۷۵	۹۰(۵۰)	۹۰(۵۰)	۰/۹۱	۸۴(۴۶/۶)	۹۶(۵۳/۳)	۰/۰۰۱	۲ (۱)	۵۵ (۲۷/۵)	۶۴ (۳۲)	۳۷ (۱۸/۵)	۰/۰۵
<i>lasB</i>	۱۷۶(۸۸)	۸۵(۴۸/۲)	۹۱(۵۱/۸)	۰/۱۹	۹۱(۵۱/۸)	۸۵(۴۸/۲)	۰/۰۹	۸۰(۴۵/۴۵)	۹۶(۵۴/۵۴)	۰/۰۴	۳ (۱/۵)	۵۳ (۲۶/۵)	۶۶ (۳۳)	۳۴ (۱۷)	۰/۹۱
<i>pcrV</i>	۱۷۱(۸۵/۵)	۷۹(۴۶/۱)	۹۲(۵۳/۹)	۰/۷۰	۸۴(۴۹/۱)	۸۷(۵۰/۹)	۰/۴۷	۸۰(۴۶/۷۸)	۹۱(۵۳/۲۱)	۰/۰۰۹	۲ (۱)	۴۸ (۲۴)	۶۵ (۳۲/۵)	۳۷ (۱۸/۵)	۰/۱۴
<i>aprA</i>	۱۶۸(۸۴)	۸۹(۵۳)	۷۹(۵۱/۸)	۰/۷۳	۸۴(۵۰)	۸۴(۵۰)	۰/۷۰	۷۹(۴۷/۰۲)	۸۹(۵۲/۹۷)	۰/۰۰۶	۲ (۱)	۵۱ (۲۵/۵)	۶۴ (۳۲)	۳۳ (۱۶/۵)	۰/۸۴
<i>plcN</i>	۱۶۰(۸۰)	۸۷(۵۴/۳)	۷۳(۴۵/۷)	۰/۶۴	۸۴(۵۲/۵)	۷۶(۴۷/۵)	۰/۲۳	۶۶(۴۱/۲۵)	۹۴(۵۸/۷۵)	۰/۲	۳ (۱/۵)	۴۸ (۲۴)	۵۹ (۲۹/۵)	۳۱ (۱۵/۵)	۰/۷۷
<i>toxA</i>	۱۵۵(۷۷/۵)	۸۰(۵۱/۶)	۷۵(۴۸/۴)	۰/۳۰	۷۹(۵۰/۹)	۷۶(۴۹/۱)	۰/۲۷	۷۷(۴۹/۶۷)	۷۸(۵۰/۳۲)	۰/۱۵	۳ (۱/۵)	۴۷ (۲۳/۵)	۵۹ (۲۹/۵)	۳۰ (۱۵)	۰/۷۷
<i>exoS</i>	۱۳۳(۶۶/۵)	۷۶(۵۷/۱)	۵۷(۴۲/۹)	۰/۱۵	۶۴(۴۸/۱)	۶۹(۵۱/۹)	۰/۱۵	۷۰(۵۲/۶۳)	۶۳(۴۷/۳۶)	۰/۰۰۱	۱ (۰/۵)	۳۳ (۱۶/۵)	۵۲ (۲۶)	۳۱ (۱۵/۵)	۰/۰۴
<i>pilB</i>	۱۲۴(۶۲)	۶۳(۵۰/۸)	۶۱(۴۹/۲)	۰/۳۹	۶۱(۴۹/۲)	۶۳(۵۰/۸)	۰/۳۸	۵۵(۴۴/۳۵)	۶۹(۵۵/۶۴)	۰/۰۶	۱ (۰/۵)	۴۰	۵۰ (۲۵)	۲۱ (۱۰/۵)	۰/۴۵
<i>plcH</i>	۱۱۷(۵۸/۵)	۶۳(۵۳/۸)	۵۴(۴۶/۲)	۰/۹۵	۵۶(۴۷/۸)	۶۱(۵۲/۲)	۰/۵۰	۵۷(۴۸/۷۱)	۶۰(۵۱/۲۸)	۰/۰۶	۲ (۱)	۳۲	۴۵	۲۱ (۱۰/۵)	۰/۸۰
<i>exoU</i>	۹۰(۴۵)	۴۶(۵۱/۱)	۴۴(۴۸/۹)	۰/۴۹	۴۹(۵۴/۴)	۴۱(۴۵/۶)	۰/۳۷	۴۰ (۳۵/۵)	۵۰(۶۴/۵)	۰/۰۲	۲ (۱)	۳۰ (۱۵)	۱۸ (۹)	۱۸ (۹)	۰/۳۲

جدول ۵. تیپ بندی جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا بر اساس الگوی فاکتورهای بیماری‌زا

تعداد جدایه‌ها	ژن‌های حدت	الگوی بیماری‌زایی
۲۱	<i>pilB, algD, lasB, plcH, plcN, toxA, aprA, exoS, pcrV</i>	V5
۱۵	<i>pilB, algD, lasB, plcN, toxA, aprA, exoS, pcrV</i>	V60
۱۲	<i>lasB, toxA</i>	V7
۱۰	<i>algD, lasB, plcH, plcN, toxA, aprA, exoS, pcrV</i>	V17
۶	<i>algD, lasB, plcN, toxA, aprA, exoS, pcrV</i>	V15
۶	<i>pilB, algD, lasB, plcH, plcN, toxA, aprA, exoU, pcrV</i>	V50
۶	<i>algD, lasB, plcH, plcN, toxA, aprA, exoS, exoU, pcrV</i>	V83
۵	<i>pilB, algD, lasB, plcN, toxA, aprA, exoU, pcrV</i>	V22
۵	<i>pilB, algD, lasB, plcH, toxA, aprA, exoS, pcrV</i>	V86



شکل ۱: درخت فیلوژنتیک جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا بر اساس الگوی ژن‌های بیماری‌زا. این درخت، روابط تکاملی و میزان

شباهت ژنی بین جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا را بر اساس فاصله ژاکارد نشان می‌دهد. جدایه‌های نزدیک‌تر، الگوهای ژنتیکی

مشابه‌تری دارند.

جدول ۶. بررسی ارتباط بین ژن‌های مورد مطالعه و تولید بیوفیلم

ژن	بیوفیلم قوی (درصد)	بیوفیلم متوسط (درصد)	بیوفیلم ضعیف (درصد)	سطح معنی‌داری (P value)
<i>algD</i>	۵۳/۵	۳۸/۶	۷/۷	۰/۱۶
<i>lasB</i>	۵۳/۹	۳۸/۶	۷/۵	۰/۲۹
<i>plcH</i>	۵۳	۳۸/۵	۸/۵	۰/۹۶
<i>plcN</i>	۵۵	۳۷/۵	۷/۵	۰/۳۳
<i>toxA</i>	۵۱	۴۱/۳	۷/۷	۰/۴۹
<i>aprA</i>	۵۳/۵	۳۹/۸	۶/۷	۰/۱۱
<i>exoU</i>	۵۶/۷	۳۳/۳	۱۰	۰/۳۹
<i>exoS</i>	۵۴/۹	۴۰/۶	۴/۵	۰/۰۳
<i>pcrV</i>	۵۴/۴	۳۸/۶	۷	۰/۱۸
<i>pilB</i>	۵۵	۳۷	۸	۰/۶۶

در مطالعه حاضر، سطح بالایی از ژن *algD* در بین جدایه‌های مورد آزمایش (۹۰٪) مشاهده شد. ژن *algD* تنظیم‌کننده تولید کپسول آلزینات توسط سودوموناس آئروژینوزا، نقش مهمی در عفونت‌های مزمن ریه ایفا می‌کند. بیان آن ممکن است با تشکیل بیوفیلم همراه باشد که بر فعالیت درمانی آنتی‌بیوتیک‌ها تأثیر می‌گذارد و به‌عنوان مانعی برای تأثیر مستقیم آن‌ها بر ارگانیسم عمل می‌کند (۱۵).

ژن‌های *lasB*، *pcrV*، *aprA* و *plcN* در حداقل ۸۰٪ جدایه‌ها شناسایی شدند. ژن‌های *exoS* و *pilB* در حداقل ۶۰٪ جدایه‌ها و ژن *plcH* در ۵۸/۵٪ و ژن *exoU* در ۴۵٪ جدایه‌ها شناسایی شد. مقاومت دارویی و ژن‌های بیماری‌زا دو عامل کلیدی برای اتصال سودوموناس آئروژینوزا در محیط‌هایی با فشار آنتی‌بیوتیک بالا، مانند بیمارستان‌ها و ایجاد عفونت‌های اکتسابی در بیمارستان هستند. در مطالعه صورت گرفته توسط بازقندی و همکاران شیوع سه ژن بیماری‌زایی شامل *lasB*، *plcH* و *plcN* (۸۶/۹٪) در سودوموناس آئروژینوزا بیشتر از سایر ژن‌های

بیماران بستری و سرپایی وجود داشت، اما این تفاوت‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). همچنین، نتایج نشان داد که جنسیت بیماران تأثیر قابل‌توجهی بر توانایی تولید بیوفیلم نداشته است. این نتایج بر اهمیت شناسایی و مدیریت به‌موقع بیوفیلم‌ها تأکید دارد تا از گسترش عفونت‌های مزمن جلوگیری شود. کسب توانایی تولید بیوفیلم می‌تواند یک استراتژی خوب به‌منظور افزایش بقا تحت شرایط استرس، به‌عنوان مثال، در طول تهاجم میزبان یا پس از درمان آنتی‌بیوتیکی باشد. به دلیل خواص متمایز و نقش بیوفیلم در کاهش نفوذ دارو به داخل سلول‌های باکتریایی، باکتری‌های مولد بیوفیلم مقاومت دارویی قابل‌توجهی دارند که این مساله هشدار برای جامعه پزشکی هست که می‌تواند باعث افزایش مرگ‌ومیر در بیمارستان‌ها گردد. درک بیشتر ماهیت بیوفیلم و ارتباطات بین سلولی در بیوفیلم و همچنین نقش آن‌ها در ارتباط با مقاومت، به درمان عفونت‌های ناشی از آن کمک خواهد کرد.

Kiyaga این جدایه به تمام آنتی‌بیوتیک‌های موردبررسی حساس و حاوی حداقل ژن‌های مقاومت بود. Horna و همکاران (۲۶)، این ژنوتیپ ($exoU+/exoS+$) را با افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی مرتبط دانستند؛ بنابراین، به نظر می‌رسد که این جدایه تعادلی بین شدت بیماری‌زایی بالا و مقاومت آنتی‌بیوتیکی را نشان می‌دهد. سودوموناس آئروژینوزا پروتئین‌های افکتوری مانند $ExoS$ ، $ExoU$ و $ToxA$ ترشح می‌کند. در این مطالعه جدایه‌های دارای بیوفیلیم قوی، به ترتیب $54/19\%$ ، $56/7\%$ و 51% دارای ژن‌های $tox A$ ، $exoS$ و $exoU$ بودند. در مطالعه صورت گرفته توسط بهادر و همکاران در جدایه‌های دارای بیوفیلیم قوی، به ترتیب $58/82\%$ ، $32/35\%$ و $29/41\%$ از آن‌ها حاوی ژن‌های $tox A$ ، $exoS$ و $exoU$ بودند (۲۷). در مطالعه حاضر در بررسی ارتباط بین نوع ژن بیماری‌زا و شدت تولید بیوفیلیم، ارتباط معناداری بین حضور ژن $exoS$ و قدرت تشکیل بیوفیلیم مشاهده شد. $ExoS$ یک توکسین دو عملکردی با فعالیت فعال‌کننده ADP ریبوزیل ترانسفراز و $GTPase$ است. $ExoU$ فعالیت فسفولیپاز را نشان می‌دهد و غشاهای یوکاریوتی را پس از تحویل آن به سیتوپلاسم مختل می‌کند. در مطالعه حاضر فراوانی ژن‌های $tox A$ ، $exoS$ و $exoU$ در جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب $77/5\%$ ، $66/5\%$ و 45% گزارش شد. مطالعات دیگر نشان می‌دهند که فراوانی ژن‌های موردبررسی ممکن است متفاوت باشد. برای مثال، در مطالعه Yousefi-Avarvand فراوانی این ژن‌ها نسبت به مطالعه حاضر بیشتر بود (100% برای ژن $tox A$ ، $66/7\%$ برای $exoS$ و $65/4\%$ برای ژن $exoU$) (۲۸). در مقایسه با این، مطالعه Ghanbarzadeh فراوانی ژن $tox A$ را 75% گزارش کرده است (۲۹) که کمتر از $77/5\%$ یافته شده در تحقیق حاضر است. همچنین، در مطالعه Amirmozafari، فراوانی ژن $tox A$ 81% گزارش گردید (۱۹) که بازهم بیشتر از مقدار $77/5\%$ در مطالعه ما بود. این تفاوت‌ها نشان می‌دهند که شیوع ژن‌ها می‌تواند تحت تأثیر عوامل جغرافیایی و ویژگی‌های محیطی مختلف قرار گیرد. به‌طورکلی، تحقیق حاضر اطلاعات مهمی درباره توزیع ژن‌های بیماری‌زای سودوموناس آئروژینوزا

مرتبط با بیماری‌زایی در اردبیل بود (۱۶). شایع‌ترین ژن‌های بیماری‌زای سودوموناس آئروژینوزا که در مطالعات دیگر در ایران گزارش شده است به شرح زیر است: (۱) ژن $lasB$ ($95/4\%$) (۱۷)، (۲) ژن $exoS$ ($92/9\%$) (۱۸)، (۳) $tox A$ ($79/4\%$) (۱۹)، ژن $lasB$ ($92/9\%$) (۲۰)، $tox A$ (100%) (۲۱)، $lasB$ (100%) (۲۲) و $lasB$ (100%) (۲۳). همچنین در مطالعه آن‌ها به‌جز برای ژن‌های $plcH$ و $plcN$ ارتباط آماری معنی‌داری بین وجود ژن‌های بیماری‌زا و نوع نمونه وجود نداشت ($P=0/02$). علاوه بر این، مشابه مطالعه حاضر تفاوت معنی‌داری در شیوع ژن‌های بیماری‌زا بین جنسیت‌های مختلف و بخش‌های بیمارستان وجود نداشت.

ژن‌های کدکننده تاژک، پیلی و آلژینات، اتصال باکتری به سلول را امکان‌پذیر می‌کنند، چسبندگی به سلول‌ها را افزایش می‌دهند، چرخش باکتری را در سطوح جامد افزایش می‌دهند و تشکیل بیوفیلیم را تقویت می‌کنند. بسیاری از مطالعات تأثیر متقابل بین بیماری‌زایی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی را نشان داده‌اند. فرض بر این است که مقاومت میکروبی با تحمیل هزینه‌های بیولوژیکی منجر به بیماری‌زایی باکتری‌ها می‌شود، اما اینکه آیا مقاومت تأثیر منفی یا مثبتی بر بیماری‌زایی دارد، بحث‌برانگیز است. این سازش بیولوژیکی در فاکتور بیماری‌زایی مورد مطالعه سودوموناس آئروژینوزا شامل سیستم ترششی نوع III مشهود است. این سیستم سیتوتوکسین‌های $ExoU$ ، $ExoS$ ، $ExoT$ یا $ExoY$ را به سلول‌های انسانی تزریق می‌کند که میزان آسیب بافت میزبان را تعیین می‌کند. ژن‌های $exoU$ و $exoS$ اغلب رابطه متقابل دارند و حضور آن‌ها با میزان حدت بیماری مرتبط است (۲۴). مطالعه‌ای در اسپانیا گزارش داد که ژنوتیپ سیستم ترششی $exoS+/exoU-$ نوع III به‌طور مثبت با کلون‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی پرخطر مرتبط است (۲۵). در مطالعه حاضر شش جدایه $exoU+/exoS+$ شناسایی شد که نادر است، زیرا حضور هم‌زمان این دو ژن به‌ندرت اتفاق می‌افتد. به‌طور مثال در مطالعه صورت گرفته توسط Kiyaga و همکاران تنها یک جدایه به‌طور هم‌زمان دارای این دو ژن بود (۲۴). در مطالعه

آنتی‌بیوتیک‌های رایج در کشور انجام گیرد. توجه به این مسئله از آن جهت اهمیت دارد که عدم کنترل و مدیریت مناسب می‌تواند منجر به کاهش کارایی آنتی‌بیوتیک‌های فعلی و ایجاد مشکلات جدی در حوزه بهداشت عمومی شود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش دارای کد اخلاق IR.PII.REC.1399.007 از کمیته تحقیقات اخلاقی انستیتو پاستور ایران می‌باشد. از انستیتو پاستور ایران جهت تأمین بودجه انجام این پروژه کمال تشکر و قدردانی را داریم.

تضاد منافع

در این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان گزارش نشده است.

مشارکت نویسندگان:

- (۱) مفهوم‌پردازی و طراحی مطالعه، یا جمع‌آوری داده‌ها، یا تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها: همه نویسندگان
- (۲) تهیه پیش‌نویس مقاله یا بازبینی آن جهت تدوین محتوای اندیشمندانه: دکتر شهلا شهبازی، دکتر محمدرضا اسدی کرم
- (۳) تأیید نهایی دست‌نوشته پیش از ارسال به مجله: همه نویسندگان

ارائه می‌دهد و می‌تواند به بهبود استراتژی‌های درمانی کمک کند.

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به مشکلات در زمینه جمع‌آوری نمونه و انتقال آن‌ها به آزمایشگاه اشاره کرد که در برخی موارد عدم همکاری لازمه در بیمارستان‌های ذکرشده روند کار را با مشکل مواجه می‌کرد.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا جداشده از عفونت‌های مجاری ادراری دارای قدرت بیماری‌زایی شاخصی هستند که می‌تواند به‌عنوان یک تهدید جدی در محیط‌های بیمارستانی مطرح شود. با توجه به نقش این جدایه‌ها در ایجاد عفونت‌های شدید و پیچیده، انجام مطالعات اپیدمیولوژیک اولیه، ازجمله بررسی فاکتورهای بیماری‌زایی این باکتری‌ها، برای طراحی واکسن‌های مؤثر و بومی علیه عفونت‌های دستگاه ادراری بسیار حائز اهمیت است. علاوه بر این، نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند اطلاعات ارزشمندی در زمینه مدیریت و درمان عفونت‌های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا در بیماران بستری در بیمارستان‌ها ارائه دهد که این امر به‌ویژه در ایران که با معضلات درمانی خاصی مواجه است، ضروری است. برای مقابله با این چالش‌ها، پیشنهاد می‌شود تحقیقات گسترده‌تری در زمینه ویژگی‌های فنوتیپی و ژنوتیپی این باکتری‌ها و ارتباط آن‌ها با مصرف

References

1. Rahimzadeh M, Shahbazi S, Sabzi S, Habibi M, Asadi Karam MR. Antibiotic resistance and genetic diversity among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from urinary tract infections in Iran. *Future Microbiology*. 2023;18(16):1171-83.
<https://doi.org/10.2217/fmb-2023-0118>
2. Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin T-J, Cheng Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology advances*. 2019;37(1):177-92.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013>
3. Edward EA, El Shehawey MR, Abouelfetouh A, Aboulmagd E. Prevalence of different virulence factors and their association with antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Egypt. *BMC microbiology*. 2023;23(1):161.
<https://doi.org/10.1186/s12866-023-02897-8>
4. Parvaei M, Habibi M, Shahbazi S, Babaluei M, Farokhi M, Karam MRA. Immunostimulatory chimeric protein encapsulated in gelatin nanoparticles elicits protective immunity against *Pseudomonas aeruginosa* respiratory tract infection. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;133964.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133964>
5. Liao C, Huang X, Wang Q, Yao D, Lu W. Virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* and antivirulence strategies to combat its drug resistance. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2022;12:926758.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.926758>
6. Heydari S, Eftekhari F. Biofilm formation and β -lactamase production in burn isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Jundishapur journal of microbiology*. 2015;8(3).
<https://doi.org/10.5812/jjm.15514>
7. Habibi A, Honarmand R. Profile of virulence factors in the multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains of human urinary tract infections (UTI). *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 2015;17(12).
<https://doi.org/10.5812/ircmj.26095>
8. Ullah W, Qasim M, Rahman H, Jie Y, Muhammad N. Beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*: Phenotypic characteristics and molecular identification of virulence genes. *Journal of the Chinese Medical Association*. 2017;80(3):173-7.
<https://doi.org/10.1016/j.jcma.2016.08.011>
9. Cotar A-I, Chifiriuc M-C, Dinu S, Bucur M, Iordache C, Banu O, et al. Screening of molecular virulence markers in *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical infections. *International journal of molecular sciences*. 2010;11(12):5273-91.
<https://doi.org/10.3390/ijms11125273>
10. Sabharwal N, Dhall S, Chhibber S, Harjai K. Molecular detection of virulence genes as markers in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from urinary tract infections. *International journal of molecular epidemiology and genetics*. 2014;5(3):125.
11. Lynch SV, Flanagan JL, Sawa T, Fang A, Baek MS, Rubio-Mills A, et al. Polymorphisms in the *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion protein, PcrV-implications for anti-PcrV immunotherapy. *Microbial Pathogenesis*. 2010;48(6):197-204.
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2010.02.008>
12. Olejníčková K, Hola V. The comparison of selected virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* catheter isolates. *Epidemiologie, Mikrobiologie, Imunologie: Casopis Společnosti pro Epidemiologii a Mikrobiologii*

Ceske Lekarske Spolecnosti JE Purkyne. 2012;61(1-2):21-8.

13. Lima JLdC, Alves LR, Jacomé PRLdA, Bezerra JP, Maciel MAV, Morais MMCd. Biofilm production by clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and structural changes in LasR protein of isolates non biofilm-producing. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2018;22(2):129-36.

<https://doi.org/10.1016/j.bjid.2018.03.003>

14. da Silva Carvalho T, Perez LRR. Impact of biofilm production on polymyxin B susceptibility among *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2019;40(6):739-40.

<https://doi.org/10.1017/ice.2019.85>

15. Dorri K, Modarresi F, Shakibaie M, Moazamian E. Frequency of Gene-Producing Strains (aprA, rhlI, rhlR, algD) in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, Isolated from Hospitals of South Fars. *Pars Journal of Medical Sciences*. 2022;20(2):39-47.

16. Bazghandi SA, Arzanlou M, Peeridogaheh H, Vaez H, Sahebkar A, Khademi F. Prevalence of virulence genes and drug resistance profiles of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical specimens. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2021;14(8).

<https://doi.org/10.5812/jjm.118452>

17. Faraji F, Mahzounieh M, Ebrahimi A, Fallah F, Teymournejad O, Lajevardi B. Molecular detection of virulence genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from children with Cystic Fibrosis and burn wounds in Iran. *Microbial pathogenesis*. 2016;99:1-4.

<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.07.013>

18. Heidary Z, Bandani E, Eftekhary M, Jafari AA. Virulence genes profile of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Iranian children with UTIs. *Acta Medica*

Iranica. 2016;201-10.

19. Amirmozafari N, Mehrabadi JF, Habibi A. Association of the exotoxin A and exoenzyme S with antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Archives of Iranian Medicine*. 2016;19(5):0.

20. Badamchi A, Masoumi H, Javadinia S, Asgarian R, Tabatabaee A. Molecular detection of six virulence genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolates detected in children with urinary tract infection. *Microbial pathogenesis*. 2017;107:44-7.

<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.03.009>

21. Mohammadzadeh A, Mardaneh J, Ahmadi R, Adabi J. Evaluation of the virulence features and antibiotic resistance patterns of pathogenic *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from hospitalized patients in Gonabad, Iran. *Archives of Pediatric Infectious Diseases*. 2017;5(3).

<https://doi.org/10.5812/pedinfect.41267>

22. Nikbin V, Aslani MM, Sharafi Z, Hashemipour M, Shahcheraghi F, Ebrahimipour G. Molecular identification and detection of virulence genes among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from different infectious origins. *Iranian journal of microbiology*. 2012;4(3):118.

23. Pournajaf A, Razavi S, Irajian G, Ardebili A, Erfani Y, Solgi S, et al. Integron types, antimicrobial resistance genes, virulence gene profile, alginate production and biofilm formation in Iranian cystic fibrosis *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Infez Med*. 2018;26(3):226-36.

24. Kiyaga S, Kyany'a C, Muraya AW, Smith HJ, Mills EG, Kibet C, et al. Genetic diversity, distribution, and genomic characterization of antibiotic resistance and virulence of clinical *Pseudomonas aeruginosa* Strains in Kenya.

Frontiers in Microbiology. 2022;13:835403.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.835403>

25. Peña C, Cabot G, Gómez-Zorrilla S, Zamorano L, Ocampo-Sosa A, Murillas J, et al. Influence of virulence genotype and resistance profile in the mortality of *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections. *Clinical Infectious Diseases*. 2015;60(4):539-48.

<https://doi.org/10.1093/cid/ciu866>

26. Horna G, Quezada K, Ramos S, Mosqueda N, Rubio M, Guerra H, et al. Specific type IV pili groups in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *International Microbiology*. 2019;22:131-41.

<https://doi.org/10.1007/s10123-018-00035-3>

27. Bahador N, Shoja S, Faridi F, Dozandeh-Mobarrez B, Qeshmi FI, Javadpour S, et al. Molecular detection of virulence factors and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* obtained from different clinical specimens in Bandar Abbas. *Iranian Journal of Microbiology*. 2019;11(1):25.

<https://doi.org/10.18502/ijm.v11i1.701>

28. Magalhães MJTL, Pontes G, Serra PT, Balieiro A, Castro D, Pieri FA, et al. Multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* survey in a stream receiving effluents from ineffective wastewater hospital plants. *BMC microbiology*. 2016;16:1-8.

<https://doi.org/10.1186/s12866-016-0798-0>

29. Corehtash ZG, Khorshidi A, Firoozeh F, Akbari H, Aznavesh AM. Biofilm formation and virulence factors among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *Jundishapur journal of microbiology*. 2015;8(10).

<https://doi.org/10.5812/jjm.22345>

Investigation of biofilm formation and virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from urinary tract infection patients in Tehran hospitals

Shahla Shahbazi¹, Mohammad Rahimzadeh¹, Mehri Habibi², Omid Azizi^{3,4}, Mohammad Reza Asadi Karam¹

1. Department of Molecular biology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

2. Department of Biotechnology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

3. Department of Laboratory Sciences, School of Paramedical Sciences, Torbat Heydaryeh University of Medical Sciences, Torbat Heydaryeh, Iran

4. Health Sciences Research Center, Torbat Heydaryeh University of Medical Sciences, Torbat Heydaryeh, Iran

Corresponding author: Mohammad Reza Asadi Karam, Department of Molecular Biology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran. **E-Mail:** m_asadi12@yahoo.com

Submitted: 11 July 2024

Accepted: 19 August 2024

Abstract

Background & Aim: Virulence factors play a crucial role in the ability of *Pseudomonas aeruginosa* to cause urinary tract infections. This study aimed to identify virulence genes in clinical isolates of *P. aeruginosa* from two hospitals in Tehran, Iran.

Methods: In this study, 200 *P. aeruginosa* isolates were collected from urinary tract infections in two general hospitals in Tehran, Iran. The isolates were confirmed using standard laboratory tests. Biofilm formation ability was assessed using a phenotypic method. Furthermore, genes encoding selected virulence factors were identified using polymerase chain reaction (PCR).

Results: 53% of the collected isolates exhibited strong biofilm production. The presence of *algD*, *lasB*, *pcrV*, *aprA*, *plcN*, *toxA*, *exoS*, *pilB*, *plcH* and *exoU* genes was observed in 90%, 88%, 85%, 84%, 80%, 77%, 66%, 62%, 58%, and 45% of the isolates, respectively. A significant association was observed between the presence of the *exoS* virulence gene and patient age ($P=0.04$). Furthermore, a significant association was observed between the presence of all investigated genes (except *plcN* and *toxA*) and the type of hospital. When investigating the relationship between virulence gene type and biofilm formation intensity, a significant association was observed between the presence of the *exoS* gene and biofilm formation capacity ($p=0.03$).

Conclusion: This study demonstrated that *P. aeruginosa* isolated from urinary tract infections possess virulence genes and a high capacity for biofilm formation. This finding suggests that *P. aeruginosa* could pose significant challenges in treatment and increase the risk of infection and mortality in patients.

Keywords:

Pseudomonas aeruginosa,
Urinary Tract
Infection,
Biofilm,
Virulence

How to Cite this Article: Shahbazi Sh, Rahimzadeh M, Habibi M, Azizi O, Asadi Karam MR. Investigation of biofilm formation and virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from urinary tract infection patients in Tehran hospitals. Journal of Torbat Heydaryeh University of Medical Sciences. 2024;12(2):1-15.