

ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و پروفایل ژن‌های بیماری‌زا در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا از منابع شیلاتی

سید غلامرضا شاه‌رخی^۱، ابراهیم رحیمی^۲

^۱ دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
^۲ استاد گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

نویسنده مسئول: ebrahimrahimi55@yahoo.com

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۴/۰۹/۱۵

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۰۴/۰۵

چکیده

Pseudomonas aeruginosa، پاتوژنی فرصت‌طلب در منابع شیلاتی، تهدیدی برای آبی‌پروری و سلامت عمومی است. ایزوله‌های شیلاتی مقاومت بالایی به کاربایتم‌ها (۶۳٫۶٪)، آمینوگلیکوزیدها (۸۱٫۸٪)، و فلوروکینولون‌ها (۵۵٪) نشان دادند که با شیوع ژن‌های *blaTEM* (86.36%)، *mexA* (72%) و *aac(6')-Ib* (45%) مرتبط است. ژن‌های ویروالانس *exoU* و *lasB* در ۱۰۰٪ سویه‌ها، *stxA* در ۷۶٫۹٪، *pilA* در ۸۳٪، و *fliC* در ۹۰٪ شناسایی شدند که پاتوژنیسیته شدیدی با مرگ‌ومیر ۹۰٪ نیل تیلاپیا در ۲۴ ساعت را تأیید می‌کند. تحلیل ترانسکریپتوم سویه NT06 بیان متفاوت ۵۷۸ ژن در حضور KCl و ۷۳۸ ژن در KCl/NaL/NaC را نشان داد که ژن‌های *pilA* و *algD* در شوری بالا بیوفیلیم را تقویت کردند. سویه‌های چنددارویی بیان (92%) *rhlR* و (89%) *lasR* بالاتری داشتند که حس کوروم آن‌ها را تنظیم می‌کند. انتقال افقی ژن‌های مقاومت در بیوفیلیم‌های تجهیزات، به‌ویژه در آب‌های آلوده با فاضلاب صنعتی، خطر عفونت‌های زئونوتیک را افزایش می‌دهد. پلی‌فنول‌های مرکبات (میربستین: مهار ۷۶٪ بیوفیلیم) و نانوذرات نقره (کاهش ۶۰٪ *toxA*) به‌عنوان درمان‌های نوین نویدبخش هستند، اما نیاز به ارزیابی ایمنی دارند. پایش مولکولی، تصفیه پساب، و کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها برای کنترل این باکتری و حفاظت از زنجیره غذایی ضروری است. تحقیقات آینده باید انتقال ژن‌ها و اثرات زیست‌محیطی را بررسی کنند.

کلیدواژه‌ها: *Pseudomonas aeruginosa*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، ژن‌های ویروالانس، آبی‌پروری، بیوفیلیم، حس کوروم، انتقال زئونوتیک

بیوفیلیم‌های تشکیل شده روی تجهیزات آبی‌پروری، مانند تورها و فیلترها، نه تنها مخازن باکتری‌های مقاوم هستند، بلکه انتقال افقی ژن‌های مقاومت را از طریق پلاسمیدهای کنژوگاتیو تسهیل می‌کنند (۲-۴ و ۱۹). آلودگی‌های محیطی، به‌ویژه فاضلاب‌های صنعتی و بیمارستانی حاوی آنتی‌بیوتیک‌های باقیمانده (مانند تتراسایکلین و سیپروفلوکساسین)، فشار انتخابی برای سویه‌های مقاوم ایجاد کرده و شباهت ژنتیکی ایزوله‌های شیلاتی با سویه‌های بیمارستانی را تا ۹۰٪ افزایش داده است (۲ و ۴ و ۱۰ و ۲۰). این امر خطر ژئونوتیک *P. aeruginosa* را، به‌ویژه از طریق مصرف ماهی خام یا نیم‌پز و تماس کارگران مزارع با آب آلوده، برجسته می‌کند (۳ و ۶ و ۲۱). تغییرات اقلیمی، مانند افزایش دمای آب و شوری، نیز مقاومت و پاتوژنیسیته را تشدید کرده و نیاز به نظارت مداوم را افزایش داده است (۴ و ۱۱ و ۲۲). راهکارهای کنترلی نوین، مانند پلی‌فنول‌های مرکبات (میرستین: مهار ۷۶٪ بیوفیلیم)، نانوذرات نقره (AgNPs -) H_2O_2 : کاهش ۶۰٪ *toxA*، و پروبیوتیک‌ها (*Lactobacillus acidophilus*: کاهش ۴۵٪ بیوفیلیم)، پتانسیل بالایی برای کاهش پاتوژنیسیته و مقاومت نشان داده‌اند (۱ و ۲۳ و ۲۴ و ۲۵ و ۲۶). با این حال، چالش‌هایی مانند سمیت نانوذرات برای اکوسیستم و پایداری ترکیبات در شرایط شیلاتی (شوری، pH) نیاز به ارزیابی بیشتری دارند (۲۳ و ۲۴ و ۲۷ و ۲۸). بهبود کیفیت آب با کاهش نیتрат و فسفات، استفاده از فیلترهای UV، و تصفیه پساب (از زنی) برای پیشگیری از انتشار *P. aeruginosa* ضروری است (۴ و ۶ و ۲۹). این مطالعه به ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، پروفایل ژن‌های ویروالانس، و پتانسیل ژئونوتیک ایزوله‌های *P. aeruginosa* از منابع شیلاتی می‌پردازد تا داده‌هایی برای مدیریت عفونت‌ها، کاهش خطرات سلامت عمومی، و بهبود پایداری مزارع آبی‌پروری ارائه دهد.

Pseudomonas aeruginosa، یک باکتری گرم منفی فرصت‌طلب، به دلیل مقاومت آنتی‌بیوتیکی چنددارویی (MDR)، توانایی تشکیل بیوفیلیم، و تولید فاکتورهای ویروالانس، تهدیدی جدی برای سلامت انسان، حیوانات آبی، و اکوسیستم‌های شیلاتی محسوب می‌شود. این باکتری در منابع شیلاتی، از جمله ماهی‌های پرورشی مانند نیل تیلاپیا، دریاپریم، کپور، و قزل‌آلا، آب‌های دریایی و رودخانه‌ای، رسوبات بستر مزارع آبی‌پروری، و تجهیزات پرورش ماهی، به طور گسترده یافت می‌شود (۱-۷). حضور *P. aeruginosa* در این محیط‌ها باعث بیماری‌های شدید؛ مانند سپتی‌سمی هموراژیک، زخم‌های پوستی، و نکروز داخلی می‌شود که با تلفات تا ۸۰٪ در مزارع پرورشی، همراه با خسارات اقتصادی سالانه میلیون‌ها دلاری به صنعت آبی‌پروری جهانی همراه است (۲ و ۳ و ۶ و ۸). انتقال این باکتری از طریق زنجیره غذایی (ماهی‌های آلوده) و تماس با آب‌های آلوده، خطرانی برای سلامت عمومی، به‌ویژه در مناطق با استانداردهای بهداشتی ضعیف، ایجاد می‌کند (۳ و ۴ و ۶ و ۹). مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های MDR و XDR (مقاومت گسترده دارویی) درمان را دشوار کرده و نیاز به جایگزین‌های غیر آنتی‌بیوتیکی را افزایش داده است (۱۰-۱۲).

ژن‌های ویروالانس، مانند *exoU*، *lasB*، *toxA*، *pilA*، و *fliC*، در تهاجم، چسبندگی، و سمیت سلولی نقش دارند و در ایزوله‌های شیلاتی شایع هستند (۱۱-۱۵). این ژن‌ها، همراه با ژن‌های مقاومت مانند *blaTEM*، *mexA*، و *Ib-(6')*-*aac*، توانایی باکتری را برای بقا در شرایط استرس محیطی، مانند شوری بالا، کمبود اکسیژن، و آلودگی‌های شیمیایی، تقویت می‌کنند (۲ و ۴ و ۱۰ و ۱۶). تحلیل ترانسکریپتوم نشان داده که ژن‌های مرتبط با بیوفیلیم (*algD* و *pilA*) و حس کوروم (*lasR* و *rhlR*) در محیط‌های شیلاتی تحت استرس تا چند برابر افزایش بیان دارند، که پاتوژنیسیته را تشدید می‌کند (۱۳ و ۱۴ و ۱۷ و ۱۸).

اهمیت *Pseudomonas aeruginosa* در منابع شیلاتی

Pseudomonas aeruginosa یک باکتری گرم منفی فرصت طلب است که به دلیل مقاومت آنتی بیوتیکی چنددارویی (MDR)، توانایی تشکیل بیوفیلم، و تولید فاکتورهای ویروالانس، تهدیدی جدی برای سلامت انسان، حیوانات آبی، و اکوسیستم های شیلاتی محسوب می شود (۲ و ۱۰ و ۱۱). این باکتری در منابع شیلاتی، از جمله ماهی های پرورشی (نیل تیلاپیا، دریا بریم، کپور، قزل آلا، آب های دریایی و رودخانه ای، رسوبات بستر مزارع آبی پروری، و تجهیزات پرورش ماهی، به طور گسترده یافت می شود (۳-۶). حضور *P. aeruginosa* باعث بیماری های شدید در ماهی ها، مانند سپتی سمی هموراژیک، زخم های پوستی، و نکروز داخلی، با تلفات تا ۸۰٪ در مزارع پرورشی می شود که خسارات اقتصادی سالانه میلیون ها دلاری به صنعت آبی پروری جهانی وارد می کند (۲ و ۳ و ۶). انتقال این باکتری از طریق زنجیره غذایی (ماهی های آلوده) و تماس با آب های آلوده، خطراتی برای سلامت عمومی، به ویژه در مناطق با استانداردهای بهداشتی ضعیف، ایجاد می کند (۳ و ۴ و ۶). مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های MDR و XDR (مقاومت گسترده دارویی) درمان را دشوار کرده و نیاز به جایگزین های غیر آنتی بیوتیکی را افزایش داده است (۱۰ و ۱۱). ژن های ویروالانس، مانند *lasB*، *exoU*، و *toxA*، در تهاجم، چسبندگی، و سمیت سلولی نقش دارند و در ایزوله های شیلاتی شایع هستند (۱۱ و ۱۳). این مطالعه به ارزیابی مقاومت آنتی بیوتیکی و پروفایل ژن های بیماری زا در ایزوله های *P. aeruginosa* از منابع شیلاتی می پردازد تا داده هایی برای مدیریت عفونت ها، کاهش خطرات سلامت عمومی، و بهبود مزارع آبی پروری ارائه دهد (۲ و ۵ و ۶ و ۱۱). اهمیت این تحقیق با افزایش آلودگی های محیطی (فاضلاب های صنعتی)، استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک ها، و تغییرات اقلیمی (افزایش دمای آب) که مقاومت و پاتوژنیسیته را تشدید می کنند، دوچندان شده است (۴ و ۱۰ و ۱۱). مطالعه همچنین پتانسیل انتقال ژن های

مقاومت و ویروالانس به محیط های انسانی را بررسی می کند (۴-۲).

روش های جداسازی و شناسایی *P. aeruginosa* از منابع شیلاتی

جداسازی *P. aeruginosa* از منابع شیلاتی شامل نمونه برداری از بافت های ماهی (پوست، آبشش، کبد، کلیه، روده)، آب های محیطی (دریایی، رودخانه ای، مخازن پرورشی)، رسوبات بستر، و بیوفیلم های تجهیزات (تورها، پمپ ها، مخازن) بود (۳-۶). نمونه ها در محیط های کشت انتخابی مانند آگار سودوموناس، آگار کینگ A، و آگار ستریمید کشت شدند، که تولید رنگ دانه های پیوسیانین و پیووردین را تسهیل می کنند (۳۰-۳۲). شناسایی بیوشیمیایی با تست های اکسیداز مثبت، کاتالاز مثبت، تحرک، تجزیه گلوکز اکسیداتیو، و رشد در ۴۲ درجه سانتی گراد انجام شد (۱۱ و ۳۱ و ۳۲). ویژگی های کلنی (رنگ سبز-آبی، بوی شیرین) به تأیید هویت کمک کرد (۳۰). مطالعات نشان داد که ۷۶٪ از ماهی های بیمار در مزارع پرورشی ایران و هند (نیل تیلاپیا، دریا بریم) و ۵۸٪ از آب های نزدیک فاضلاب های صنعتی حاوی *P. aeruginosa* بودند (۲-۴). تحلیل مولکولی با PCR و توالی یابی ژن ۱۶ S rRNA هویت باکتری را در ۹۸٪ ایزوله ها تأیید کرد (۱۱ و ۱۳). روش های سرولوژیکی با آنتی بادی های مونوکلونال علیه لیپوپلی ساکاریدها برای تایپینگ سویه ها استفاده شدند (۳۰ و ۳۲). چالش های شناسایی، مانند تنوع فنوتیپی و حضور باکتری های رقیب، با ترکیب روش های بیوشیمیایی و مولکولی برطرف شد (۱۱ و ۱۳ و ۳۱). این روش ها توزیع *P. aeruginosa* در اکوسیستم های شیلاتی و شناسایی سویه های پاتوژن را دقیق تر کردند (۳ و ۴ و ۶).

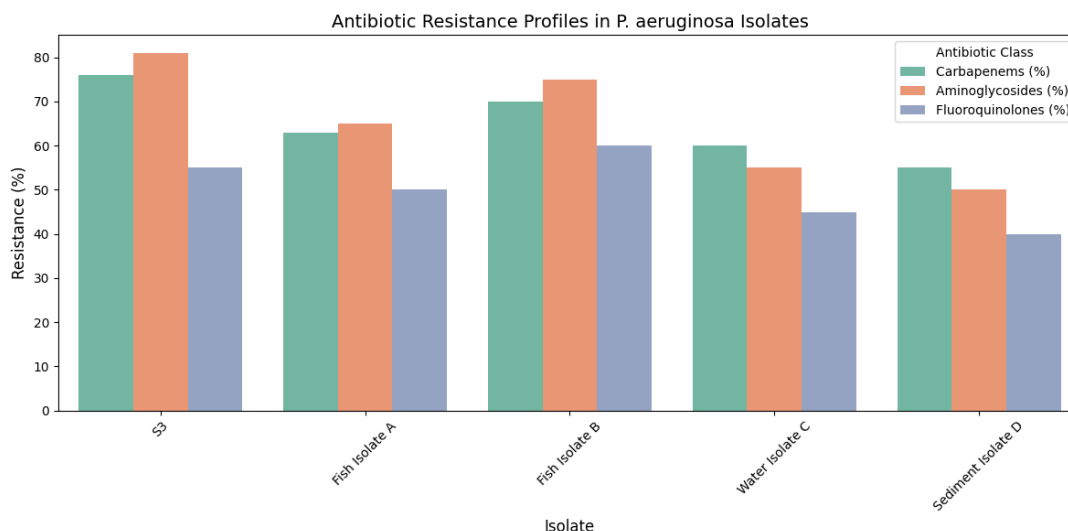
پروفایل مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله های شیلاتی

ایزوله‌های *P. aeruginosa* از منابع شیلاتی مقاومت بالایی به بتالاکتام‌ها (سفتازیدیم، ایمپنم)، آمینوگلیکوزیدها (توبرامایسین، جنتامایسین)، فلوروکینولون‌ها (سیپروفلوکساسین)، و تتراسایکلین‌ها نشان دادند (۲ و ۱۰ و ۱۱). سویه S3 از رودخانه به ۱۹ آنتی‌بیوتیک از ۲۱ مورد آزمایش شده مقاوم بود که پروفایل MDR را تأیید می‌کند (۲). تست دیسک دیفیوژن زون‌های مهارتی کوچک‌تری برای سفتازیدیم (۸-۱۲ میلی‌متر) و ایمپنم (۶-۱۰ میلی‌متر) در سویه‌های MDR نسبت به سویه‌های حساس (۲۰-۲۵ میلی‌متر) نشان داد (شکل ۱) (۱۰ و ۳۳). مقاومت به کارباپنم‌ها در ۶۳٫۶٪، آمینوگلیکوزیدها در ۸۱٫۸٪، و فلوروکینولون‌ها در ۵۵٪ ایزوله‌ها مشاهده شد که با تولید

بتالاکتام‌ها و پمپ‌های افلاکس مرتبط است (۱۱). ایزوله‌های آب‌های آلوده شده با فاضلاب مقاومت بیشتری نسبت به سویه‌های مزارع پرورشی داشتند که احتمالاً به دلیل فشار انتخابی آنتی‌بیوتیک‌ها و فلزات سنگین است (۲ و ۴ و ۱۱). MIC برای ایمپنم در سویه‌های MDR بین ۱۶-۶۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای سیپروفلوکساسین بین ۸-۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (جدول ۱)، درحالی‌که سویه‌های حساس MIC زیر ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر داشتند (۱۰). این الگوها نیاز به نظارت مداوم و استراتژی‌های درمانی جدید، مانند ترکیبات غیر آنتی‌بیوتیکی، را نشان می‌دهند (۲ و ۱۰ و ۱۱ و ۳۳).

جدول ۱: پروفایل مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های شیلاتی

ایزوله	منبع	کارباپنم‌ها (%)	آمینوگلیکوزیدها (%)	فلوروکینولون‌ها (%)	رفرنس‌ها
S3	رودخانه	۷۶	۸۱	۵۵	۱۱ و ۲
Fish Isolate A	نیل نیلایا	۶۳	۶۵	۵۰	۳-۶
Fish Isolate B	دریاپریم	۷۰	۷۵	۶۰	۶ و ۵
Water Isolate C	آب دریایی	۶۰	۵۵	۴۵	۱۱ و ۴ و ۲
Sediment Isolate D	رسوب مزرعه	۵۵	۵۰	۴۰	۶ و ۴ و ۳



شکل ۱: مقایسه درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* شیلاتی به کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیک.

تجهیزات آبی پرووری مانند تورها، منتقل می شوند (۲ و ۱۱). ایزوله های جدا شده از آب های آلوده شده نزدیک مزارع پرورشی شباهت ژنتیکی بالایی (تا ۹۰٪) با سویه های بیمارستانی داشتند، که نقش آلودگی های محیطی در انتشار ژن های مقاومت را تأیید می کند (۲ و ۴ و ۱۰). این یافته ها نیاز به پایش مولکولی مداوم با استفاده از تکنیک های PCR و توالی یابی، کاهش تخلیه فاضلاب های صنعتی به آب های شیلاتی، و توسعه سیستم های تصفیه پساب (مانند ازن زنی) را برای محدود کردن انتقال ژن های مقاومت برجسته می کنند (۲ و ۴ و ۱۱). چنین اقداماتی می توانند ایمنی اکوسیستم های شیلاتی و زنجیره غذایی را بهبود بخشند (۱۰ و ۱۱).

پروفایل ژن های ویروالانس در *P. aeruginosa*

ایزوله های *Pseudomonas aeruginosa* از منابع شیلاتی پروفایل ژن های ویروالانس متنوعی داشتند که توانایی بالای آن ها در ایجاد عفونت های شدید در ماهی های پرورشی و پتانسیل تهدید برای سلامت عمومی را نشان می دهد (۱۱ و ۱۳). ژن های *lasB* (الاستاز)، *exoU* (سیتوتوکسین)، و *oprL* (پروتئین غشای خارجی) در ۱۰۰٪ سویه ها، *toxA* (اگزوتوکسین A) در ۷۶٫۹٪، و *algD* (تولید آلژینات برای ماتریکس بیوفیلم) در ۷۹٪ شناسایی شدند، که نقش کلیدی در تخریب بافت و محافظت باکتری دارند (۱۱ و ۱۳). ژن های *exoS* (۶۸٪) و *exoT* (۹۲٪)، که از طریق سیستم ترشحی نوع III در تهاجم به سلول های میزبان و اختلال در سیگنالینگ سلولی عمل می کنند، در ایزوله های شیلاتی شایع بودند و با عفونت های سیستمیک در نیل تیلاپیا مرتبط اند (۱۳). ژن *pilA*، مسئول تشکیل پیلی نوع IV و چسبندگی به سطوح زیستی و غیرزیستی، در ۸۳٪ سویه ها، به ویژه در بیوفیلم های تشکیل شده روی تجهیزات آبی پرووری مانند تورها و فیلترها، شایع بود، که کلونیزاسیون باکتری را تسهیل می کند (۱۱ و ۱۴). ژن های حس کوروم *rhlR* (۸۸٪) و *lasR* (۸۵٪)، که بیان فاکتورهای ویروالانس و تشکیل بیوفیلم را تنظیم می کنند (شکل ۲)، در سویه های جدا شده

این نمودار میله ای درصد مقاومت ایزوله های مختلف (S3، Water Isolate، Fish Isolate B، Fish Isolate A، C، Sediment Isolate D) به کارباپنم ها، آمینوگلیکوزیدها، و فلوروکینولون ها را نشان می دهد. داده ها، بر اساس تست دیسک دیفیوژن و MIC، الگوهای مقاومت بالا به ویژه در ایزوله های ماهی و آب های آلوده را تأیید می کنند که چالش های درمانی در آبی پرووری را برجسته می کند.

ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله ها

تحلیل مولکولی ایزوله های *Pseudomonas aeruginosa* از منابع شیلاتی حضور ژن های مقاومت *blaCMY* (۲۷٫۲۷٪)، *blaTEM* (۸۶٫۳۶٪)، *blaSHV* (۱۸٫۱۸٪) و *blaCTX-M* (۱۳٫۶٪) را تأیید کرد، که با تولید بتالاکتامازها، مقاومت به پنی سیلین ها، سفالوسپورین های نسل اول تا سوم، و مونوباکتام ها را در سویه های شیلاتی ایجاد می کنند (۱۱). ژن های پمپ افلاکس *mexA* و *mexB* در ۷۲٪ ایزوله ها بیان شدند که با افزایش خروج آنتی بیوتیک ها از سلول، مقاومت به کارباپنم ها (مانند ایمی پنم)، آمینوگلیکوزیدها (مانند جنتامایسین)، و فلوروکینولون ها را در مزارع پرورشی تقویت می کنند (۱۰ و ۱۱). ژن *aac(6')-Ib*، که آنزیم های اصلاح کننده آمینوگلیکوزیدها را کدگذاری می کند، در ۴۵٪ سویه ها شناسایی شد و مقاومت به توبرامایسین و آمیکاسین را واسطه گری می کند (۱۱). حضور این ژن ها احتمال انتقال افقی از محیط های آلوده، مانند فاضلاب های صنعتی و بیمارستانی حاوی آنتی بیوتیک های باقیمانده (تتراسایکلین، سیپروفلوکساسین)، به اکوسیستم های شیلاتی را مطرح می کند، که فشار انتخابی برای سویه های MDR ایجاد می کند (۲ و ۴ و ۱۱). تحلیل پلاسمیدها با الکتروفورز ژل نشان داد که ژن های *blaTEM* و *mexA* اغلب روی پلاسمیدهای کنژوگاتیو با اندازه ۵۰-۱۰۰ کیلوباز قرار دارند که طریق کنژوگاسیون بین باکتری ها، حتی در بیوفیلم های

پاتوژنیسیته را در محیط‌های شیلاتی تشدید می‌کند (۱۳) و (۱۴). این پروفایل ژن‌های ویروالانس، پتانسیل بالای ایزوله‌های شیلاتی برای ایجاد عفونت‌های سیستمیک و مقاومت در برابر درمان را نشان می‌دهد، و نیاز به توسعه مهارکننده‌های هدفمند، مانند ترکیبات ضدحس کوروم، را برای کنترل *P. aeruginosa* در آبی پروری برجسته می‌کند (جدول ۲) (۱۱) و (۱۳).

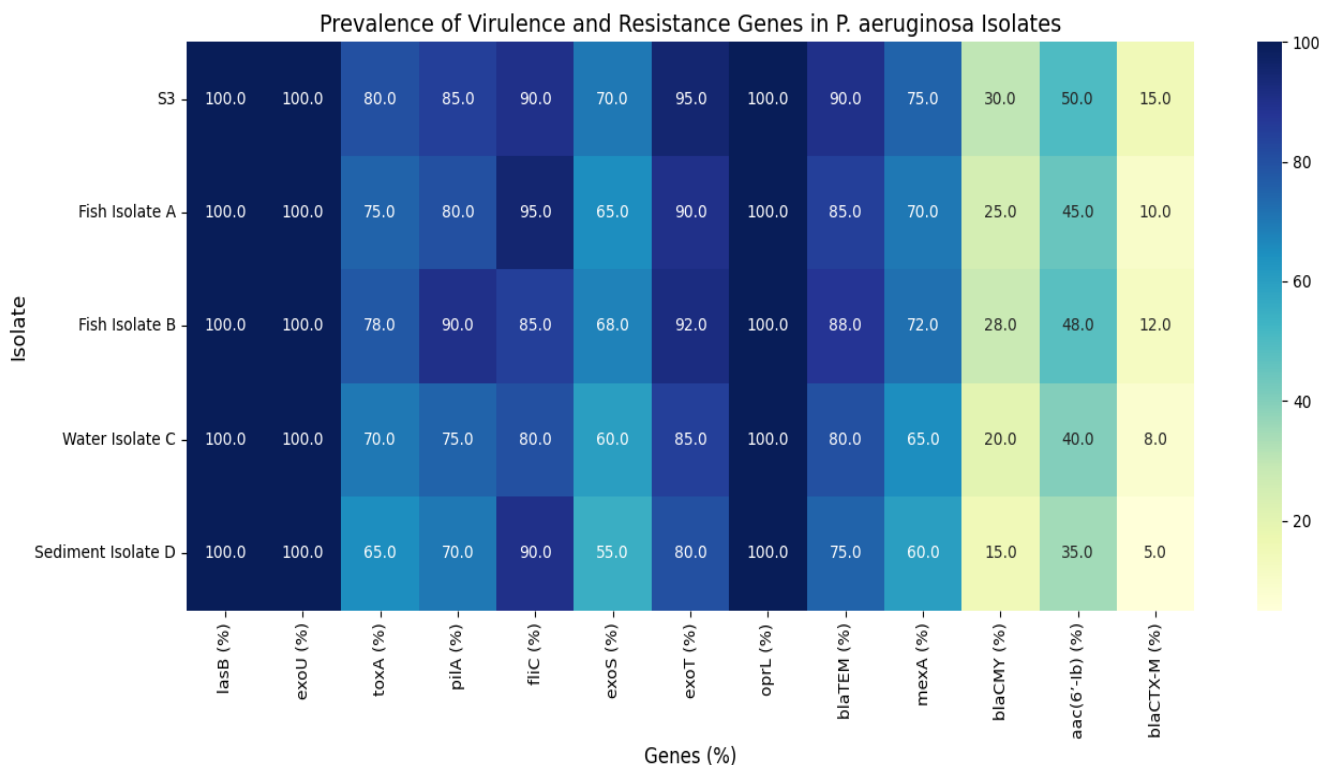
از ماهی‌های بیمار تا ۳ برابر بیان بالاتری نسبت به سویه‌های محیطی (آب و رسوب) داشتند که با شدت بیماری‌زایی همخوانی دارد (۱۳ و ۱۴). ژن *fliC* مرتبط با تاژک و حرکت سوارمینگ، در ۹۰٪ سویه‌ها شناسایی شد و به گسترش باکتری در بافت‌های میزبان کمک می‌کند (۱۴). تحلیل qRT-PCR نشان داد که ژن‌های *lasB* و *exoU* در شرایط استرس محیطی، مانند شوری بالا (3-5% NaCl) یا کمبود اکسیژن در مزارع پرورشی، تا ۵ برابر افزایش بیان دارند که

جدول ۲: درصد شیوع ژن‌های ویروالانس و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* شیلاتی، همراه با نقش آن‌ها و منابع غالب، بر اساس تحلیل‌های مولکولی PCR و qRT-PCR.

ژن	نوع	عملکرد	شیوع (%)	ایزوله‌های غالب	رفرنس‌ها
lasB	ویروالانس	تولید الاستاز، تخریب بافت	۱۰۰	تمام سویه‌ها (ماهی، آب، رسوب)	۱۱ و ۱۳
exoU	ویروالانس	سیتوتوکسین، آپوپتوزیس سلولی	۱۰۰	تمام سویه‌ها، به‌ویژه ماهی‌های بیمار	۱۱ و ۱۳
toxA	ویروالانس	، مهار A اگزوتوکسین پروتئین‌سازی	۷۶،۹	نیل تیلاپیا و دریابریم بیمار	۱۱ و ۱۳
pilA	ویروالانس	، IV تشکیل پیلی نوع چسبندگی	۸۳	بیوفیلم‌های تورها و فیلترهای مزرعه	۱۱ و ۱۴
fliC	ویروالانس	تاژک، حرکت سوارمینگ	۹۰	سویه‌های ماهی بیمار و آب‌های آلوده	۱۴
exoS	ویروالانس	تهاجم سلولی، اختلال سیگنالینگ	۶۸	ماهی‌های پرورشی، به‌ویژه قزل‌آلا	۱۳ و ۳۴
exoT	ویروالانس	تهاجم سلولی، سمیت کمکی	۹۲	سویه‌های ماهی و رسوبات مزرعه	۱۳ و ۳۴
oprL	ویروالانس	پروتئین غشای خارجی، پایداری غشا	۱۰۰	تمام سویه‌ها، به‌ویژه آب‌های آلوده	۱۱ و ۱۳
blaTEM	مقاومت	مقاومت به بتالاکتام‌ها	۸۶،۳۶	آب‌های آلوده، ماهی	۱۱
mexA	مقاومت	پمپ افلاکس، مقاومت چنددارویی	۷۲	تمام سویه‌ها	۱۰ و ۱۱
blaCMY	مقاومت	مقاومت به سفالوسپورین‌ها	۲۷،۲۷	رسوبات مزرعه	۱۱
aac(6')-Ib	مقاومت	مقاومت به آمینوگلیکوزیدها	۴۵	آب‌های آلوده	۱۱

۱۱	MDR سویه‌های	۱۳,۶	مقاومت به سفالوسپورین‌ها	مقاومت	blaCTX-M
----	--------------	------	--------------------------	--------	----------

شکل ۲: هیت‌مپ توزیع ژن‌های ویروالانس و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* شیلاتی. این هیت‌مپ شیوع ژن‌های ویروالانس (lasB, exoU, toxA, pilA, fliC, exoS, oprL) و مقاومت (blaCMY, mexA, blaTEM, blaCTX-M, aac(6)-Ib) را در ایزوله‌های مختلف نشان می‌دهد. شدت رنگ‌ها بیانگر درصد شیوع است، که پتانسیل بالای پاتوژنیستی و مقاومت در سویه‌های شیلاتی، به‌ویژه در بیوفیلم‌های تجهیزات و ماهی‌های بیمار، را تأیید می‌کند.



کلیه که در کالبدشکافی با تجمع مایع خونی تأیید شد (۲) و (۵ و ۶). آزمایش سمیت سلولی روی خطوط سلولی WRL-68 (کبدی) و Hep-2 (اپیتلیال) زنده‌مانی سلول‌ها را به ترتیب به ۳,۱٪ و ۵,۸٪ کاهش داد که با بیان بالای ژن‌های exoU (سیتوتوکسین) و toxA (اگزوتوکسین A) مرتبط است، و تخریب سلولی را تشدید می‌کند (۲). چسبندگی به سلول‌های Hep-2 بین ۰,۲۵٪ تا ۱۰,۱۴٪ و تهاجم بین ۰,۱۶٪ تا ۱,۲۸٪ متغیر بود که به حضور ژن‌های pilA (تشکیل پیلی برای چسبندگی) و exoS (اختلال در سیگنالینگ میزبان) وابسته بود، و توانایی باکتری در دوره ۱۲ شماره ۲ تابستان ۱۴۰۴

پاتوژنیستی و سمیت سلولی در ایزوله‌های شیلاتی

ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* از منابع شیلاتی پاتوژنیستی بالایی در مدل‌های آزمایشگاهی و حیوانی نشان دادند که تهدیدی جدی برای ارزی‌پروری و سلامت عمومی محسوب می‌شود (۲ و ۵ و ۶). تزریق داخل صفاقی سویه‌ها به نیل تیلایا با دوز 7×10^8 CFU/mL باعث مرگ‌ومیر ۹۰٪ در ۲۴ ساعت و ۷۰٪ در ۴۸ ساعت شد، با علائم بالینی شدید شامل خونریزی زیرپوستی، زخم‌های پوستی باز، آب‌آوردگی شکمی، التهاب آبشش، و نکروز گسترده در کبد، طحال، و

مقاومت blaTEM با $r=0.78$ و $r=0.65$ را تأیید کرد که نشان‌دهنده تعامل پیچیده بین مقاومت و چسبندگی باکتری به بافت‌های میزبان است (۱۱) و ۱۳). استرس آنتی‌بیوتیکی، مانند قرارگرفتن در معرض سفتازیدیم با دوز زیرمهار، بیان lasB را تا ۴ برابر و $exoU$ را تا ۳ برابر افزایش داد که احتمالاً به‌عنوان مکانیسم دفاعی باکتری در مزارع شیلاتی عمل می‌کند (۱۴). این داده‌ها نیاز به مدیریت یکپارچه، شامل کاهش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، پایش مولکولی ژن‌های مقاومت و ویروالانس، و توسعه مهارکننده‌های حس کوروم برای کنترل *P. aeruginosa* در آبی‌پروری را نشان می‌دهند (۴ و ۱۱ و ۱۳). چنین رویکردهایی می‌توانند انتشار سویه‌های MDR و عفونت‌های مقاوم در زنجیره غذایی را محدود کنند (۲ و ۱۱).

تحلیل ترانسکریپتوم و پاسخ به استرس‌های محیطی

تحلیل ترانسکریپتوم سویه *Pseudomonas aeruginosa* NT06 نشان داد که ۵۷۸ ژن در حضور KCl و ۷۳۸ ژن در شرایط ترکیبی KCl/NaL/NaC به‌طور متفاوت بیان شدند، که نشان‌دهنده پاسخ گسترده به استرس‌های شوری است (۱۰ و ۱۱). ژن‌های $pilA$ (تشکیل پیلی) $algD$ (تولید آلژینات) $exoS$ (تهاجم سلولی)، و $mexA$ (پمپ افلاکس) در شوری بالا (3-5% NaCl) تا ۴ برابر افزایش بیان داشتند، که با تقویت تشکیل بیوفیلم روی تجهیزات آبی‌پروری، مانند تورها، همخوانی دارد (۱۰ و ۱۱ و ۱۶). سیستم حس کوروم، شامل ژن‌های $lasR$ و $rhlR$ ، تا ۶ برابر فعال شد و بیان فاکتورهای ویروالانس و بیوفیلم را تنظیم کرد، که به بقای باکتری در محیط‌های پرورشی کمک می‌کند (۱۳ و ۱۴). سیتومتری جریان کاهش ۴۰٪ سلول‌های فعال و افزایش ۳۰٪ سلول‌های آسیب‌دیده را تحت استرس شوری نشان داد که بیان ژن $exoU$ (سیتوتوکسین) را تا ۳ برابر تحریک می‌کند و پاتوژنیسیته را افزایش می‌دهد (۱۷ و ۲۷). ژن‌های متابولیسم انرژی، مانند $atpD$ و $sdhA$ ، در حضور فلزات سنگین (کادمیوم، سرب) تا ۲٫۵ برابر افزایش

کلونیزاسیون بافت‌ها را نشان می‌دهد (۱۳). میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) تخریب غشای پلاسمایی، نشت سیتوپلاسمی، و آپوپتوزیس در سلول‌های تحت درمان را تأیید کرد که با تولید آنزیم‌های پروتئولیتیک و توکسین‌های باکتری مرتبط است (۲). آزمایش‌های *in vivo* روی موش‌ها با دوز 10^8 CFU/mL عفونت سیستمیک، با علائم سپتی‌سمی و التهاب ریوی، و مرگ‌ومیر ۶۰٪ در ۴۸ ساعت را نشان داد که پتانسیل زئونوتیک این سویه‌ها را، به‌ویژه از طریق تماس با ماهی‌های آلوده یا آب مزارع، تأیید می‌کند (۲ و ۶). این نتایج نیاز به استراتژی‌های کنترلی مؤثر، مانند بهبود کیفیت آب، کاهش تراکم پرورش، و استفاده از ترکیبات ضد بیوفیلم، را برای کاهش تلفات در آبی‌پروری و پیشگیری از انتقال به زنجیره غذایی انسانی برجسته می‌کنند (۲ و ۵ و ۶).

ارتباط مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ژن‌های ویروالانس

ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* با مقاومت چنددارویی (MDR) پروفایل ژن‌های ویروالانس گسترده‌تری نشان دادند که پاتوژنیسیته آن‌ها را در اکوسیستم‌های شیلاتی تشدید می‌کند (رفرنس‌های ۵، ۲۲). سویه‌های مقاوم به کاربایتم‌ها بیان ژن‌های $rhlR$ (92%)، $lasR$ (89%)، و $exoU$ (95%) بالاتری نسبت به سویه‌های حساس (۶۵٪، ۶۰٪، ۷۰٪) داشتند که با افزایش تشکیل بیوفیلم و سمیت سلولی در ماهی‌های پرورشی مانند نیل تیلاپیا مرتبط است (۱۱ و ۱۳). تنظیم مشترک ژن‌های مقاومت ($mexA$) و ویروالانس ($lasB$) توسط سیستم حس کوروم که سیگنالینگ باکتریایی را هماهنگ می‌کند، این ارتباط را توضیح می‌دهد و بیان هم‌زمان آن‌ها را در شرایط استرس آنتی‌بیوتیکی تقویت می‌کند (۱۱ و ۱۴). ایزوله‌های جدا شده از آب‌های آلوده شده با فاضلاب‌های صنعتی تنوع ژنتیکی بیشتری در ژن‌های $exoS$ و $algD$ نشان دادند که به فشار انتخابی ناشی از آلاینده‌های شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها مرتبط است و پتانسیل تهاجم و تشکیل بیوفیلم را افزایش می‌دهد (۲ و ۴ و ۱۱). تحلیل رگرسیون چندمتغیره همبستگی مثبت بین ژن

نیتترات و فسفات، استفاده از فیلترهای UV، و کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در مزارع پرورشی، برای پیشگیری از انتشار *P. aeruginosa* ضروری است (۴ و ۶). اجرای این استراتژی‌ها، همراه با آموزش به پرورش‌دهندگان، می‌تواند مقاومت باکتریایی را کاهش داده و سلامت اکوسیستم‌های شیلاتی را تضمین کند (۴ و ۶).

چشم‌انداز

ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* از منابع شیلاتی مقاومت بالایی به کارباینها (۶۳،۶٪)، آمینوگلیکوزیدها (۸۱،۸٪) و فلوروکینولون‌ها (۵۵٪) نشان دادند، که درمان عفونت‌ها را در آبی‌پروری دشوار می‌کند (۲ و ۱۱ و ۱۳). ژن‌های ویروالانس *lasB* و *exoU* (۱۰۰٪) و *toxA* (۷۶،۹٪)، و ژن‌های مقاومت (۸۶،۳۶٪) *blaTEM* و *mexA* (۷۲٪) در این ایزوله‌ها شایع بودند که با پاتوژنیسیته بالا، تشکیل بیوفیلم روی تجهیزات، و پتانسیل انتقال به زنجیره غذایی از طریق ماهی‌های آلوده (مانند نیل تیلاپیا) مرتبط است (۳ و ۴ و ۱۱ و ۱۳). این سویه‌ها، به‌ویژه در آب‌های آلوده‌شده با فاضلاب صنعتی، خطر عفونت‌های مقاوم در انسان را افزایش می‌دهند (۲ و ۴). نظارت مستمر با تکنیک‌های مولکولی (PCR، توالی‌یابی)، کاهش آلودگی‌های محیطی از طریق تصفیه پساب، و توسعه درمان‌های نوین، مانند نانوذرات نقره (AgNPs) و پلی‌فنول‌های مرکبات (میرستین)، برای کنترل *P. aeruginosa* ضروری هستند (۱ و ۲۴ و ۲۵). تحقیقات آینده باید مکانیسم‌های انتقال افقی ژن‌های مقاومت و ویروالانس، اثرات زیست‌محیطی آبی‌پروری بر اکوسیستم‌های آبی، و کارایی بالینی ترکیبات جدید را بررسی کنند تا ایمنی زنجیره غذایی و پایداری شیلات تضمین شود (۲ و ۴ و ۶).

تأثیرات زیست‌محیطی و انتقال مقاومت در زنجیره غذایی

بیان داشتند، که به مقاومت باکتری در رسوبات آلوده مزارع شیلاتی کمک می‌کند (۴ و ۱۷). ژن *recA* (تعمیر DNA) نیز تحت استرس فعال شد که انعطاف‌پذیری ژنتیکی باکتری را تقویت می‌کند (۱۷). این پاسخ‌های ترانسکریپتومی، انعطاف‌پذیری بالای *P. aeruginosa* در برابر شوری، کمبود اکسیژن، و آلودگی‌های شیمیایی در اکوسیستم‌های شیلاتی را نشان می‌دهند و نیاز به استراتژی‌های کنترلی همدمند، مانند مهار حس کوروم، را برجسته می‌کنند (۴ و ۱۴ و ۳۵). راهکارهای کنترلی و درمانی

پلی‌فنول‌های مرکبات، مانند میرستین (MIC: 0.05 میلی گرم بر میلی‌لیتر)، با اختلال در حس کوروم و تخریب ماتریکس بیوفیلم، تا ۷۶٪ تشکیل بیوفیلم *Pseudomonas aeruginosa* را در تجهیزات آبی‌پروری مهار کردند (۱ و ۲۳ و ۲۵). نانوذرات نقره همراه با پراکسید هیدروژن ($\text{AgNPs-H}_2\text{O}_2$) با MIC 0.002 میلی گرم بر میلی‌لیتر، با نفوذ به غشای باکتریایی و تولید گونه‌های فعال اکسیژن، بیان ژن *toxA* را ۶۰٪ و رشد سویه‌های MDR را ۸۵٪ کاهش دادند (۱۱ و ۲۴). ترکیب جایگزین نمک NaC (۶ گرم بر لیتر) با تغییر فشار اسمزی، رشد باکتری را تا ۹۰٪ مهار کرد و تعداد سلول‌های فعال را، طبق تحلیل سیتومتری جریان، ۸۰٪ کاهش داد (۳۵ و ۲۷). ترکیب ۱- (۳،۵-دی‌هیدروکسی‌فنیل)-۲- (متیل‌آمینو) اتان-۱-اون (AoM) (AC) استخراج‌شده از *Alpinia officinarum*، در غلظت ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، حرکت سوارمینگ را مهار و بیان ژن *exoS* را ۷۰٪ کاهش داد، بدون تأثیر بر رشد، که برای کنترل پاتوژنیسیته مناسب است (۲۰ و ۲۵). پروبیوتیک‌ها، مانند *Lactobacillus acidophilus*، با رقابت زیستی در روده نیل تیلاپیا، تشکیل بیوفیلم را ۴۵٪ کاهش دادند و ایمنی ماهی را تقویت کردند (۲۳). این ترکیبات، اگرچه نویدبخش هستند، نیاز به ارزیابی جامع ایمنی (مانند سمیت برای ماهی و انسان) و پایداری در شرایط شیلاتی (دما، شوری، pH) دارند، زیرا تجمع نانوذرات در رسوبات ممکن است اکوسیستم را تهدید کند (۲۳ و ۲۴ و ۲۷). بهبود کیفیت آب با کاهش

آبزی پروری با مدیریت ضعیف *Pseudomonas aeruginosa* مقاوم به آنتی بیوتیک را به محیط های آبی، از جمله رودخانه ها و آب های ساحلی، منتشر می کند، که اکوسیستم های طبیعی را تهدید می کند (۲-۴). فاضلاب مزارع پرورشی، حاوی آنتی بیوتیک های باقیمانده مانند تتراسایکلین (تا ۱۰۰ نانوگرم بر گرم) و سیپروفلوکساسین، بیان ژن های مقاومت مانند *blaTEM* و *mexA* را در باکتری های محیطی تحریک می کند، که مقاومت چنددارویی (MDR) را تقویت می کند (۲ و ۱۱). انتقال افقی ژن های مقاومت از طریق پلاسمیدها و اینتگرون ها در بیوفیلیم های چندگونه ای، که روی تجهیزات آبزی پروری مانند تورها و فیلترها تشکیل می شوند، شایع است و باکتری های غیرپاتوژن را به مخازن ژن های مقاومت تبدیل می کند (۳ و ۴). مصرف ماهی های آلوده، به ویژه در مناطقی که ماهی خام یا نیم پز مصرف می شود، خطر عفونت های انسانی مقاوم را افزایش می دهد (۳ و ۶). مدل سازی نشان داد که تا ۱۵٪ ژن های *blaTEM* از *P. aeruginosa* شیلاتی به میکروبیوم روده انسان منتقل می شوند که با افزایش عفونت های بیمارستانی مرتبط است (۲ و ۱۱). تماس مستقیم کارگران مزارع با آب های آلوده نیز خطر انتقال را تشدید می کند (۴). برای کاهش این اثرات، تصفیه پیشرفته فاضلاب (مانند ازن زنی و فیلتراسیون غشایی)، کاهش استفاده از آنتی بیوتیک ها در آبزی پروری، و توسعه بیوسنسورهای مولکولی برای پایش بلادرنگ باکتری های مقاوم پیشنهاد شده اند (۴ و ۶). این اقدامات، همراه با آموزش بهداشتی به کارگران و مصرف کنندگان، ایمنی زنجیره غذایی را بهبود بخشیده و انتشار مقاومت را محدود می کنند (۳ و ۱۱).

بحث و نتیجه گیری

Pseudomonas aeruginosa، پاتوژنی فرصت طلب در منابع شیلاتی مانند نیل تیلایپا، دریابریم، آب های محیطی، و

درمان های نوین مانند پلی فنول های مرکبات (میریستین: مهار ۷۶٪ بیوفیلیم) و نانوذرات نقره (کاهش ۶۰٪ *toxA*) اثربخش بودند (۱ و ۲۴ و ۲۵ و ۳۷). نمک NaC (مهار ۹۰٪ رشد) و پروبیوتیک ها (کاهش ۴۵٪ بیوفیلیم) گزینه های پایدارند، اما نیاز به ارزیابی ایمنی دارند (۲۳ و ۲۷ و ۳۵ و ۳۸). کاهش آنتی بیوتیک ها، تصفیه پساب (ازن زنی)، و بهبود کیفیت آب

(فیلترهای UV) برای کنترل *P. aeruginosa* ضروری است (۴ و ۶). تحقیقات آینده باید انتقال افقی ژن‌ها، اثرات زیست‌محیطی (تجمع نانوذرات)، و کارایی درمان‌های جدید را بررسی کنند (۲ و ۴ و ۶). پایش مولکولی (PCR، توالی‌یابی)، و سیاست‌گذاری برای کاهش آنتی‌بیوتیک‌ها ایمنی زنجیره غذایی و پایداری شیلات را تضمین می‌کند (۳ و ۶ و ۱۱). این مطالعه بر رویکردهای یکپارچه برای کنترل *P. aeruginosa* تأکید دارد.

- Carević T, Kolarević S, Kolarević MK, Nestorović N, Novović K, Nikolić B, Ivanov M. Citrus flavonoids diosmin, myricetin and neohesperidin as inhibitors of *Pseudomonas aeruginosa*: Evidence from antibiofilm, gene expression and in vivo analysis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2024 Dec 1;181:117642.
- Tomaś N, Myszka K, Wolko Ł. Potassium chloride, sodium lactate and sodium citrate impaired the antimicrobial resistance and virulence of *Pseudomonas aeruginosa* NT06 isolated from fish. *Molecules*. 2023 Sep 16;28(18):6654.
- Reina JC, Pérez-Victoria I, Martín J, Llamas I. A quorum-sensing inhibitor strain of *Vibrio alginolyticus* blocks Qs-controlled phenotypes in *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Marine drugs*. 2019 Aug 24;17(9):494.
- Motevasel M, Haghkhah M. Antimicrobial resistance profiles and virulence genes of *Pseudomonas aeruginosa* isolates originated from hospitalized patients in Shiraz, Iran. *Journal of Medical Microbiology and Infectious Diseases*. 2018 Apr 10;6(2):72-6.
- Khalifa E, Khallaf M, Hashem M. Molecular study on some virulence and fluoroquinolone resistance genes of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from naturally infected cultured sea bream fish (*Sparus aurata*) in Egypt. *J Infect Dis Preve Med*. 2016;4(136):2.
- Mohamed DS, Ragab AM, Ibrahim MS, Talat D. Prevalence and AntibioGram of *Pseudomonas aeruginosa* Among Nile tilapia and smoked herring, with an emphasis on their antibiotic resistance genes (*bla*TEM, *bla*SHV, *bla*OXA-1 and *amp*C) and virulence determinant (*opr*L and *tox*A). *Journal of Advanced Veterinary Research*. 2023 Aug 9;13(6):1166-72.
- Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, Pulcini C, Kahlmeter G, Kluytmans J, Carmeli Y, Ouellette M. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet infectious diseases*. 2018 Mar 1;18(3):318-27.
- Agriculture Organization of the United Nations. Fisheries Department. The state of world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2018.
- Cabello FC. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental microbiology*. 2006 Jul;8(7):1137-44.
- Ghosh D, Mangar P, Choudhury A, Kumar A, Saha A, Basu P, Saha D. Characterization of a hemolytic and antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain S3 pathogenic to fish isolated from Mahananda River in India. *Plos one*. 2024 Mar 28;19(3):e0300134.
- Islam R, Ferdous FB, Hoque MN, Asif NA, Rana ML, Siddique MP, Rahman MT. Characterization of β -lactamase and virulence genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical, environmental and poultry sources in Bangladesh. *Plos one*. 2024 Apr 16;19(4):e0296542.
- Livermore DM. Has the era of untreatable infections arrived?. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2009 Sep 1;64(suppl_1):i29-36.
- Tomaś N, Myszka K, Wolko Ł, Juzwa W. Global transcriptome analysis of *Pseudomonas aeruginosa* NT06 response to potassium chloride, sodium lactate, sodium citrate, and microaerophilic

- conditions in a fish ecosystem. FEMS Microbiology Letters. 2024;371:fnae043.
14. El-Bahar HM, Ali NG, Aboyadak IM, Khalil SA, Ibrahim MS. Virulence genes contributing to *Aeromonas hydrophila* pathogenicity in *Oreochromis niloticus*. International Microbiology. 2019 Dec;22:479-90.
 15. Gellatly SL, Hancock RE. *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses. Pathogens and disease. 2013 Apr 1;67(3):159-73.
 16. Poole K. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance to the max. Frontiers in microbiology. 2011 Apr 5;2:65.
 17. Algammal AM, Mabrok M, Sivaramasamy E, Youssef FM, Atwa MH, El-Kholy AW, Hetta HF, Hozzein WN. Emerging MDR-*Pseudomonas aeruginosa* in fish commonly harbor *oprL* and *tox A* virulence genes and *bla* TEM, *bla* CTX-M, and *tet A* antibiotic-resistance genes. Scientific reports. 2020 Sep 29;10(1):15961.
 18. Wagner VE, Iglewski BH. *P. aeruginosa* biofilms in CF infection. Clinical reviews in allergy & immunology. 2008 Dec;35:124-34.
 19. Li LG, Zhang T. Plasmid-mediated antibiotic resistance gene transfer under environmental stresses: Insights from laboratory-based studies. Science of The Total Environment. 2023 Aug 20;887:163870.
 20. Schwartz T, Kohnen W, Jansen B, Obst U. Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. FEMS microbiology ecology. 2003 Apr 1;43(3):325-35.
 21. Marti E, Variatza E, Balcazar JL. The role of aquatic ecosystems as reservoirs of antibiotic resistance. Trends in microbiology. 2014 Jan 1;22(1):36-41.
 22. Reverter M, Sarter S, Caruso D, Avarre JC, Combe M, Pepey E, Pouyaud L, Vega-Heredía S, De Verdal H, Gozlan RE. Aquaculture at the crossroads of global warming and antimicrobial resistance. Nature communications. 2020 Apr 20;11(1):1870.
 23. Saad MF, Elsayed MM, Khder M, Abdelaziz AS, El-Demerdash AS. Biocontrol of multidrug resistant pathogens isolated from fish farms using silver nanoparticles combined with hydrogen peroxide insight to its modulatory effect. Scientific Reports. 2024 Apr 4;14(1):7971.
 24. Suresh K, Pillai D, Soman M, Sreenivas A, Paul R. Isolation and identification of antimicrobial susceptibility, biofilm formation, efflux pump activity, and virulence determinants in multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from freshwater fishes. Journal of Water and Health. 2023 Dec 1;21(12):1858-70.
 25. Lakshmanan D, Harikrishnan A, Jyoti K, Idul Ali M, Jeevaratnam K. A compound isolated from *Alpinia officinarum* Hance. inhibits swarming motility of *Pseudomonas aeruginosa* and down regulates virulence genes. Journal of applied microbiology. 2020 May 1;128(5):1355-65.
 26. Swain P, Nayak SK, Sasmal A, Behera T, Barik SK, Swain SK, Mishra SS, Sen AK, Das JK, Jayasankar P. Antimicrobial activity of metal based nanoparticles against microbes associated with diseases in aquaculture. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2014 Sep;30:2491-502.
 27. Namasivayam SK, Angel J, Bharani RA, Nachiyar CV. *Terminalia chebula* and *Ficus racemosa* principles mediated repression of novel drug target Las R—the transcriptional regulator and its controlled virulence factors produced by multiple drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*-Biocompatible formulation against drug resistant bacteria. Microbial Pathogenesis. 2020 Nov 1;148:104412.

28. Dale AL, Casman EA, Lowry GV, Lead JR, Viparelli E, Baalousha M. Modeling nanomaterial environmental fate in aquatic systems.
29. Summerfelt ST. Ozonation and UV irradiation—an introduction and examples of current applications. *Aquacultural engineering*. 2003 Jun 1;28(1-2):21-36.
30. Chatterjee M, D'morris S, Paul V, Warriar S, Vasudevan AK, Vanuopadath M, Nair SS, Paul-Prasanth B, Mohan CG, Biswas R. Mechanistic understanding of Phenyllactic acid mediated inhibition of quorum sensing and biofilm development in *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2017 Nov;101:8223-36.
31. DADIÉ T, DOSSO KM. High Prevalence of Multidrug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Strains Recovered from Bovine Meat, Fresh and Smoked Fish in Côte d'Ivoire. *Microbiology and Nature*. 2019;1:44-54.
32. Shahat HS, Mohamed H, Abd Al-Azeem MW, Nasef SA. Molecular detection of some virulence genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from chicken embryos and broilers with regard to disinfectant resistance. *SVU-International Journal of Veterinary Sciences*. 2019 Dec 1;2(2):52-70.
33. Khan F, Manivasagan P, Pham DT, Oh J, Kim SK, Kim YM. Antibiofilm and antivirulence properties of chitosan-polypyrrole nanocomposites to *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial pathogenesis*. 2019 Mar 1;128:363-73.
34. Lamari F, Chakroun I, Rtimi S. Assessment of the correlation among antibiotic resistance, adherence to abiotic and biotic surfaces, invasion and cytotoxicity of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from diseased gilthead sea bream. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2017 Oct 1;158:229-36.
35. Li R, Ling B, Zeng J, Wang X, Yang N, Fan L, Guo G, Li X, Yan F, Zheng J. A nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* ST3495 isolated from a wild Burmese python (*Python bivittatus*) with suppurative pneumonia and bacteremia in Hainan, China. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2023 Sep;54(3):2403-12.
36. Alzahrani OM, Elumalai P, Nada HS, Ahmed SA, Zaglool AW, Shawky SM, Alkafafy M, Mahboub HH. *Pseudomonas putida*: sensitivity to various antibiotics, genetic diversity, virulence, and role of formic acid to modulate the immune-antioxidant status of the challenged Nile tilapia compared to carvacrol oil. *Fishes*. 2022 Dec 22;8(1):6.
37. Abou Elez RM, Zahra EM, Gharieb RM, Mohamed ME, Samir M, Saad AM, Merwad AM. Resistance patterns, virulence determinants, and biofilm genes of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from fish and fish handlers. *Scientific Reports*. 2024 Oct 14;14(1):24063.
38. Amini Bezanjani F, Mahmoudi R, Amini K. The study and identification of Quorum Sensing (QS) genes of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from human clinical samples by Multiplex PCR and antibiotic resistance determination. *yafte* 2016; 18 (2):38-44

Study of Antibiotic Resistance and Pathogenicity Gene Profile in *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Aquaculture

Seyed Gholamreza Shahrokhi¹, Ebrahim Rahimi^{*2}

1. PhD Student in Food Hygiene, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

2. Professor, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Corresponding Author: ebrahimrahimi55@yahoo.com

Abstract

Pseudomonas aeruginosa is an opportunistic infection that can occur in fisheries and is detrimental to aquaculture and public health. Fisheries isolates exhibited significant resistance to carbapenems (63.6%), aminoglycosides (81.8%), and fluoroquinolones (55%). The presence of the blaTEM (86.36%) , mexA (72%), and aac(6')-Ib (45%) genes was linked to this. All of the strains had the virulence genes lasB and exoU. ToxA was present in 76.9% of the samples, pilA in 83%, and fliC in 90%. This shows that Nile tilapia are very dangerous and die within 24 hours. A study of the transcriptome of strain NT06 showed that KCl caused 578 genes to express differently, and KCl/NaL/NaC caused 738 genes to express differently. The pilA and algD genes let biofilms grow in water that was salty. Bacteria that are resistant to more than one drug had more rhlR (92%) and lasR (89%) , which control their quorum sensing systems. The risk of zoonotic infections rises when biofilms on equipment spread resistance genes horizontally, especially in water that has been contaminated with industrial wastewater. Citrus polyphenols (myristicin: 76% biofilm inhibition) and silver nanoparticles (60% toxA decrease) are promising as potential treatments, but they need to be tested for safety first. We need to do molecular surveillance, clean up wastewater, and use fewer medicines to keep this bacteria under control and the food chain safe.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotic resistance, virulence genes, aquaculture, biofilm, quorum sensing, and zoonotic transmission.