

استفاده از روش فنوتیپی جهت تأیید حضور پمپ افلاکس مرتبط با مقاومت به سیپروفلوکسازین در سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از نمونه‌های پوستی

علی رحمتی*؛ محمدرضا ذوالفقاری**

چکیده

یکی از مهم‌ترین علل عفونت‌های بیمارستانی در بیماران مبتلا به عفونت‌های پوستی، سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد. بروز مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی با مکانیسم‌های مختلف، یکی از مشکلات درمان این بیماران است. نقش اساسی در بروز مقاومت چند گانه نسبت به داروهای ضد میکروبی را پمپ‌های افلاکس Mex به عهده دارند. هدف تحقیق پیش رو ارزیابی فنوتیپی حضور پمپ افلاکس در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد. در این مطالعه ۲۰۰ نمونه سواب از زخم بیماران مبتلا به عفونت‌های پوستی در بیمارستان‌های شهر قم جمع‌آوری و جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا با آزمون‌های بیوشیمیایی تأیید شدند حساسیت دارویی نسبت به سیپروفلوکسازین با روش انتشار دیسک و بررسی فنوتیپی فعالیت پمپ‌های افلاکس با روش کارت ویل انجام گرفت.

در مطالعه حاضر ۸۹ مورد (۴۵٪) نمونه‌ها، آلوده به سودوموناس آئروژینوزا بودند که از این تعداد ۱۹ مورد (۲۱٪) نسبت به سیپروفلوکسازین مقاوم بودند.

با توجه به حضور بیش از ۵۴٪ پمپ افلاکس در سودوموناس آئروژینوزا، بررسی حضور این پمپ‌ها به منظور پیشنهاد الگوی درمانی مناسب بیماران آلوده به این باکتری حائز اهمیت است.

واژگان کلیدی: سودوموناس آئروژینوزا، عفونت پوستی، پمپ افلاکس.

* دانشجوی، (ali.Rahmati1985@Yahoo.com)

** دکترای تخصصی، دانشیار گروه میکروبولوژی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه آزاد قم، ایران.

سودوموناس آئروژینوزا باسیلی گرم منفی، هوازی اجباری و با نیازهای غذایی حداقل است. تمایل برای رشد در محیط‌های مرطوب، به موفقیت اکولوژی و اهمیت آن به عنوان یک بیماری‌زای مهم در عفونت‌های کسب شده بیمارستانی (Nosocomial Infection) کمک می‌کند (۱). فاکتور بیماری‌زای این اورگانیزم مشتمل بر پروتئازها، آلزینات، پیوریدین، پیوسیانین، پیلی به منظور اتصال و کلونیزاسیون به سلول‌های میزبان و همچنین توانایی اش در تشکیل بیوفیل، مقاوم به دارو می‌باشد (۲). باکتری سودوموناس آئروژینوزا (*Pseudomonas aeruginosa*) به ندرت به عنوان بخشی از میکروفلور انسانی در افراد سالم ایفای نقش می‌کند (۳). این ارگانیزم به طور وسیع در طبیعت پراکنده است و برای انسان‌ها یک پاتوژن فرصت طلب محسوب می‌گردد که به بیماری‌های وسیع الطیف، از جمله عفونت‌های ادراری، عفونت در افراد دچار سوختگی، عفونت‌های تنفسی، سپتی سمی و باکتری می‌منجر می‌گردد. این باکتری یک عامل اولیه پنومونی مرتبط با ونتیلاتور در بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) می‌باشد (۴). سودوموناس آئروژینوزا عامل عمده عفونت‌های فرصت طلب و ایجادکننده ۹ تا ۱۰٪ از عفونت‌های بیمارستانی (Nosocomial infections) است. همچنین، این باکتری عامل عمده عفونت‌های ریوی مزمن دخیل در مرگ بیماران مبتلا به (Cystic fibrosis) است. یک دلیل عمده مؤثر سیستمیک فیبروزیس بر برتر بودن آن، به عنوان یک پاتوژن، مقاومت ذاتی بالای آن به بسیاری از آنتی بیوتیک‌ها می‌باشد (۵). عفونت‌های بیمارستانی یکی از معضلات مطرح پزشکی در کشورهای توسعه یافته و نیز در حال توسعه می‌باشد که شیوع بیماری‌های عفونی در جامعه را موجب می‌گردد (۶). در سال‌های اخیر، توجه به عفونت‌های بیمارستانی از اهمیت بسیاری برخوردار شده است؛ زیرا فقط در سال ۱۹۹۵ هشتاد و هشت هزار مورد مرگ بر اثر عفونت‌های بیمارستانی در دنیا گزارش شده است (۷). سودوموناس آئروژینوزا از شایع‌ترین عوامل عفونت بیمارستانی به ویژه در زخم‌های سوختگی است. عفونت با این باکتری می‌تواند سپتی سمی، پنومونی، مننژیت و بیماری‌های کشنده دیگری را نیز به دنبال داشته باشد (۸). سودوموناس نسبت به طیف وسیعی از مواد ضد میکروبی و ضد عفونی کننده، مانند ترکیبات آمونیم، هگزاکلروفن، صابون‌ها و محلول‌های ید دار دارای مقاومت ذاتی است (۹). علاوه بر این، استفاده گسترده از آنتی بیوتیک‌ها در سال‌های اخیر موجب شده که این باکتری نسبت به آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف از گروه‌های مختلف مقاوم شود؛ به طوری که در حال حاضر وجود سویه‌هایی با مقاومت چند دارویی (MDR) (Multi Drug Resistance) نسبت به آنتی بیوتیک‌ها، مشکل اصلی در درمان این باکتری در بخش‌های مهم بیمارستانی چون سوختگی و مراقبت‌های ویژه است. این مقاومت‌های چند دارویی، اهمیت سودوموناس آئروژینوزا را در عفونت‌های بیمارستانی دو چندان کرده است (۱۰ و ۱۱). سیستم‌های افلاکس به عنوان یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مقاومت ذاتی و اکتسابی در باکتری‌ها به حساب آمده و توانایی دفع مواد سمی مانند آنتی بیوتیک‌ها، داروها، مواد شیمیایی و همچنین ترشح فرآورده‌های سلولی را به خارج از سلول دارند. پمپ‌های افلاکس مانع ایجاد غلظت مناسبی از مواد سمی برای مهار باکتری‌ها

شده و به عنوان مکانیسم دفاعی علیه مواد مضر محیط سبب بقا باکتری در محیط‌های مختلف می‌شوند (۱۲). امروزه مشکل مهم درمان عفونت‌های سودوموناسی، مقاومت بالای این باکتری نسبت به آنتی بیوتیک‌هایی است که از نظر ساختاری و عملکردی با یکدیگر شباهتی ندارند (۱۲). مکانیسم‌های مختلفی توسط این باکتری به کار گرفته می‌شود تا از آثار زیان بار آنتی بیوتیک‌ها مصون بماند. یکی از مهم‌ترین آن‌ها، سیستم تراوشی می‌باشد. سودوموناس آئروژینوزا پتانسیل بیان ۱۲ نوع پمپ تراوشی چند دارویی تحت عنوان Mex^۱ را دارد. از این میان ۵ پمپ به نام‌های MexAB-OprM ، MexCD-OprJ ، MexEF-OprN ، MexXY-OprM ، MexGH - OprM مهم‌ترین عوامل مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها به شمار می‌روند. پمپ‌های افلاکس از نظر بالینی به طور مؤثری در ارتباط با گروه‌های RND یا MFS می‌باشند که با آزاد سازی انرژی نیروی محرکه پروتون (PMF) (Proton Motive Force) در خارج کردن آنتی بیوتیک از سلول نقش دارند (۱۳). انتقال‌دهنده‌های خانواده RND به تعداد زیادی در باکتری‌های گرم منفی وجود دارند. این انتقال‌دهنده‌ها به طور خاص در اتصال به پروتئین اتصال غشای پری پلاسمیک (MFP)^۲ که اغلب افلاکس پروتئین پری پلاسمیک خوانده می‌شود، ایفای نقش می‌کنند. (MexAB-OprM) پمپ تراوشی است که در مقاومت ذاتی این باکتری نقش دارد و در سویه‌های وحشی سودوموناس آئروژینوزا بیان می‌شود. سایر پمپ‌ها بر اثر بروز جهش، بیان شده و در مقاومت اکتسابی این باکتری به برخی از آنتی بیوتیک‌ها نقش دارند (۱۳). سیستم‌های انتقالی Mex (Multidrug efflux system) به خانواده RND^۳ تعلق دارند. اعضای این خانواده با به کارگیری نیروی محرکه پروتونی غشا، ترکیبات ضد میکروبی را از سلول خارج می‌کنند (۱۴). بیان این پمپ عامل مقاومت به بتالاکتام‌ها، فلوروکینولون‌ها، تتراسیکلین، ماکرولیدها، کلرامفنیکل، و تری متوپریم می‌باشد. همچنین قادر است طیف وسیعی از رنگ‌ها، دترجنت‌ها، مهارکننده‌های بیوسنتز اسید چرب، حلال‌های آلی را تراوش کند. کینولون‌ها عوامل ضد باکتریایی وسیع‌الطیف خوراکی هستند که به صورت گسترده مورد استفاده درمانی قرار می‌گیرند. این آنتی بیوتیک‌ها یک گروه جدید از آنتی بیوتیک‌های سنتزی هستند و مشتقاتی از نالیدیکسیک اسید می‌باشند. کینولون‌ها مولکول‌های آب دوست کم وزنی هستند که همانندسازی DNA را بدون اثر بر روی سنتز RNA یا پروتئین در باکتری‌های حساس مهار می‌کنند. در میان نسل کینولون‌ها، فلوروکینولون‌ها، از جمله سیپروفلوکساسین، نورفلوکساسین، لوفلوکساسین و اوفلوکساسین می‌باشند که بر روی طیف وسیع‌تری از باکتری‌ها مؤثر هستند. سیپروفلوکساسین تنها فلوروکینولونی است که بالاترین اثر مهارری را علیه سودوموناس آئروژینوزا دارا است. با وجود این، توصیه نمی‌شود که به عنوان تنها دارو برای درمان استفاده شود؛ زیرا این ارگانسیم به راحتی در مدت درمان مقاوم می‌شود. برای مقابله با پمپ‌های افلاکس دارویی می‌توان از

^۱. Multidrug efflux system

^۲. Membrane Fusion Protein

^۳. (Resistance Nodulation Division cell family)

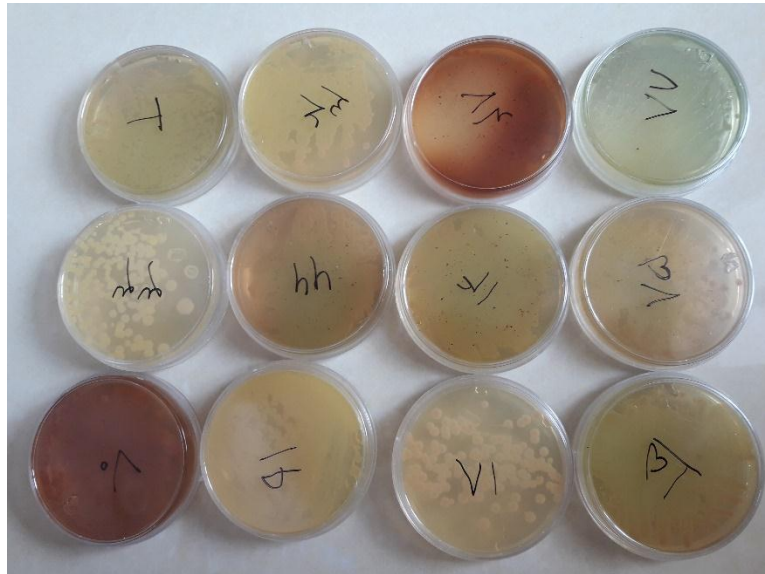
مهارکننده‌های افلاکس استفاده کرد (۱۵). پمپ‌های افلاکس با دفع آنتی بیوتیک، داروها و مواد شیمیایی باعث افزایش حداقل غلظت بازدارنده این مواد شده و با کاهش غلظت دارو در درون سلول سویه‌های موتانت مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها، داروها و مواد شیمیایی را موجب می‌شوند. این مطالعه با هدف ارزیابی فنوتیپی شیوع پمپ افلاکس در باکتری سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از عفونت‌های پوستی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

پس از کشت نمونه در محیط ستریمید آگار، کلنی‌هایی که از لحاظ ظاهری به سودوموناس آئروژینوزا مشابه بوده و در رنگ آمیزی گرم به صورت باسیل‌های گرم منفی دیده می‌شدند، در مرحله اول به عنوان سودوموناس آئروژینوزا در نظر گرفته شدند و در مرحله بعد باسیل‌های گرم منفی کاتالاز مثبت و اکسیداز مثبت انتخاب شدند. نمونه‌هایی که در محیط‌های افتراقی نتایج جدول (۱) را داشته‌اند، به عنوان سودوموناس آئروژینوزا تشخیص داده شدند (۱۶).

جدول ۱. نتایج تست‌های بیوشیمیایی مورد استفاده به منظور شناسایی سودوموناس آئروژینوزا جدا شده

نتایج	نام تست
+	رشد در محیط ستریماید آگار
+	رشد در ۴۲ درجه سانتی گراد
+	تولید بوی میوه
+	تولید پیگمان پیوسیانین
+	اکسیداز
+	سیترات
+	حرکت
-	ایندول
-	تولید سولفید هیدروژن (H ₂ S)
-	لازین دکربوکسیلاز
-	DNase



شکل ۱. پیگمان‌های مختلف سودوموناس آئروژینوز در محیط ستریمید آگار

الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی

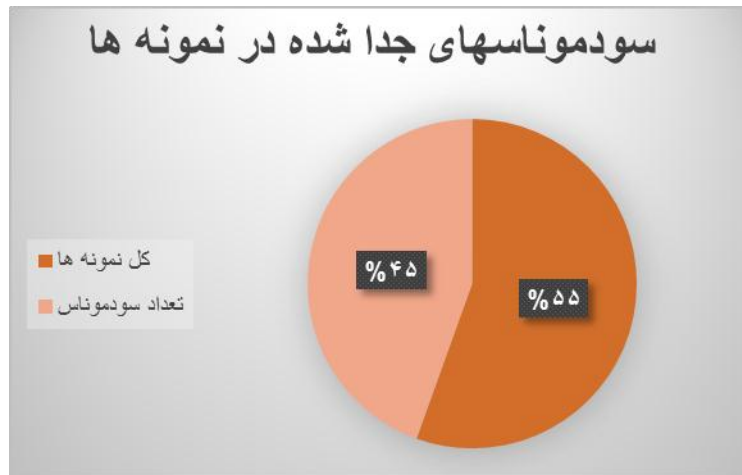
پس از جدا سازی و تشخیص ۸۹ جدایه سودوموناس آئروژینوزا از نمونه‌های بالینی، الگوی مقاومت این جدایه‌ها نسبت به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین (cip) به روش دیسک دیفیوژن و طبق معیارهای استاندارد های آزمایشگاهی بالینی CLSI مورد بررسی قرار گرفت که از نظر تست آنتی بیوگرام برای سیپروفلوکساسین قطره‌اله کم‌تر و مساوی (≤ 15) مقاوم، بیش‌تر و مساوی ۲۱ (≥ 21) حساس هستند که ۱۶-۲۰ نیز نیمه حساس می‌باشند.

ج) روش کارت ویل

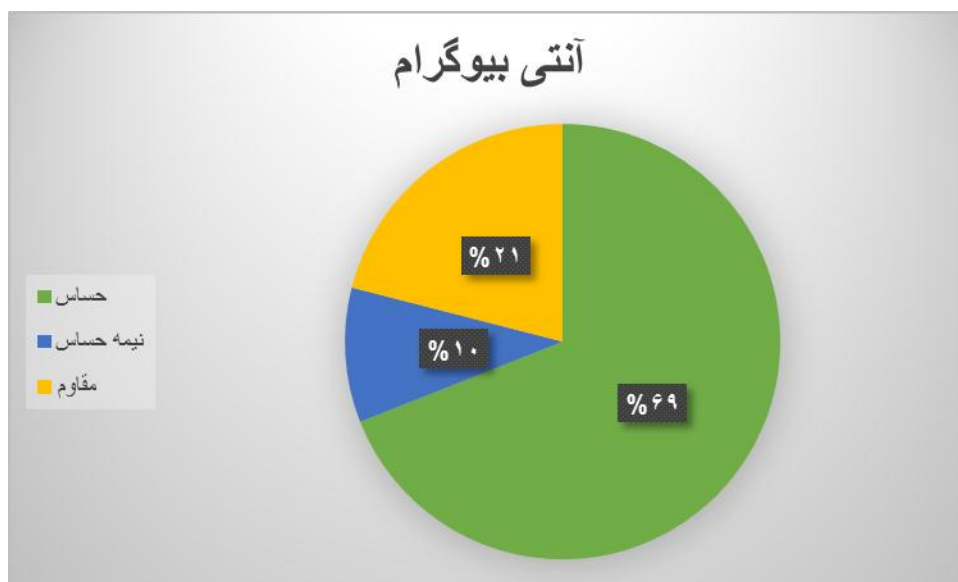
محیط LB را ساخته و داخل لوله آزمایش می‌ریزیم و اتوکلاو و دستگاه اسپکتروفتومتر را با LB صفر می‌کنیم. از کشت تازه باکتری به محیط LB اضافه کرده و در اسپکتروفتومتر $OD=1/6$ در طول موج 600nm می‌خوانیم. پس از ساخت محیط TSA و اتوکلاو کردن آن، اتیدیوم بروماید را وزن کرده و غلظت ۰ تا $2/5$ میلی گرم بر لیتر را در ۶ ظرف جداگانه و سپس محیط را داخل پلیت ریخته تا ببندد و باکتری روی آن کشت داده شد. سپس پلیت‌ها را به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری و نتایج را با دستگاه ژل داک بررسی کردیم تا کم‌ترین غلظت اتیدیوم بروماید مؤثر بر باکتری مشخص گردد. در صورت مقاومت باکتری به اتیدیوم بروماید و نیز داشتن پمپ افلاکس، کلونی باکتری در دستگاه درخشان دیده نخواهد شد ولی اگر پمپ افلاکس نداشته باشد اتیدیوم بروماید در باکتری تجمع و تخت تابش اشعه ماورای بنفش به صورت درخشان دیده خواهد شد (۱۶).

یافته‌ها

از بیماران بستری شده در بیمارستان‌های شهر قم تعداد ۲۰۰ نمونه پوستی جدا شده مورد بررسی قرار گرفتند که بعد از اجرای تست‌های تشخیصی شیمیایی مشخص شد که از این تعداد، ۸۹ مورد (۴۵٪) سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد. نمودار (۱):



نمودار ۱. تعداد و درصد سودوموناس آئروژینوزای‌های جدا شده از نمونه‌های بالینی ارزیابی حساسیت آنتی بیوتیکی نشان داد که از تعداد ۸۹ سویه سودوموناس ۱۹ ایزوله (۲۱٪) به سیپروفلوکسازین مقاوم هستند. نمودار (۲) - شکل (۱):



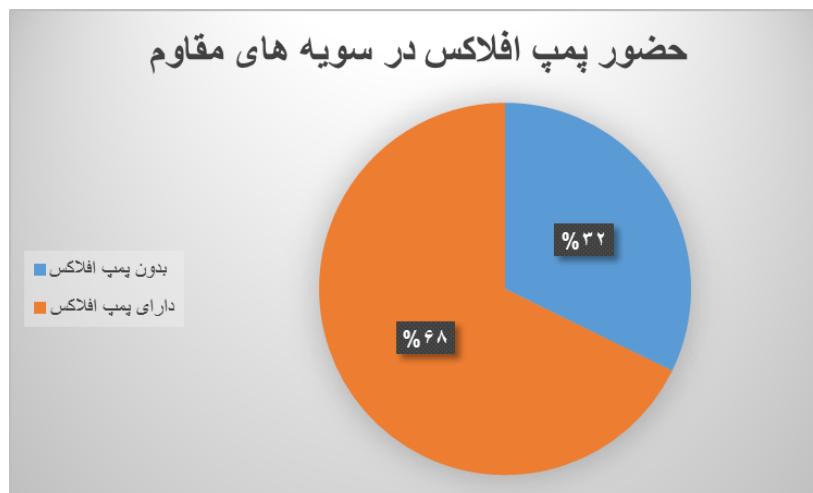
نمودار ۲. فراوانی ایزوله‌های مقاوم به سیپروفلوکسازین



شکل ۲. روش انتشار از دیسک به منظور بررسی ایزوله‌های مقاوم به سیپروفلوکسازین

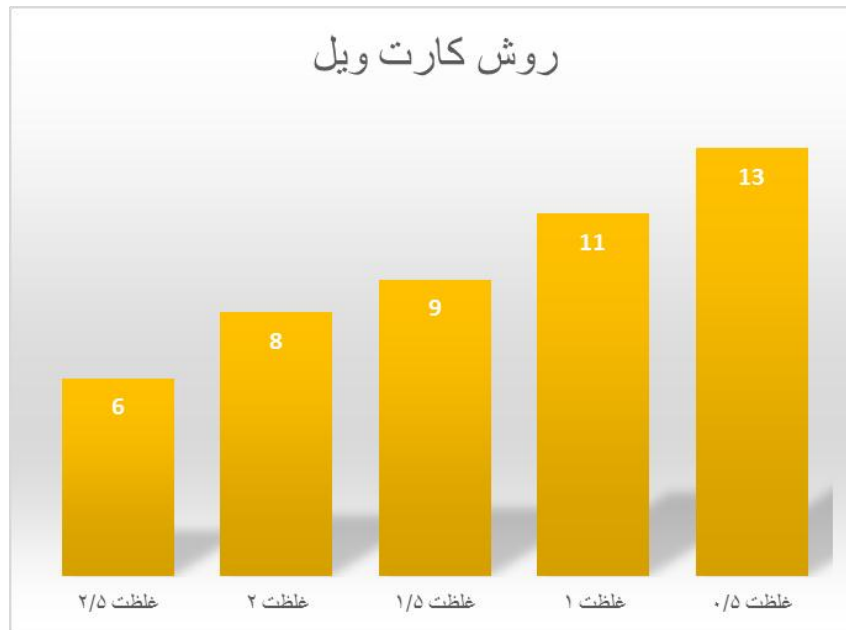
مطالعه فنوتیپی بیان سیستم افلاکس با استفاده از اتیدیوم بروماید در سویه‌های بالینی مقاوم به سیپروفلوکسازین، نشان دهنده حضور پمپ‌های افلاکس در ۱۳ جدایه (۶۸٪) بود نمودار (۳). از ۱۹ سویه مورد بررسی در غلظت ۵٪ ۷ میلی گرم بر لیتر، ۱۳ مورد بدون فلورسانس (یعنی دارای پمپ افلاکس) بودند در غلظت ۱ میلی گرم بر لیتر، ۱۱ مورد بدون فلورانس، در غلظت ۱/۵ میلی گرم بر لیتر، ۹ مورد بدون فلورسانس، در غلظت ۲ میلی گرم بر لیتر، ۸ مورد بدون فلورسانس، در غلظت ۲/۵ میلی گرم بر لیتر، ۶ مورد بدون فلورسانس بودند نمودار (۴)، شکل (۳).

حضور پمپ افلاکس در سویه‌های مقاوم

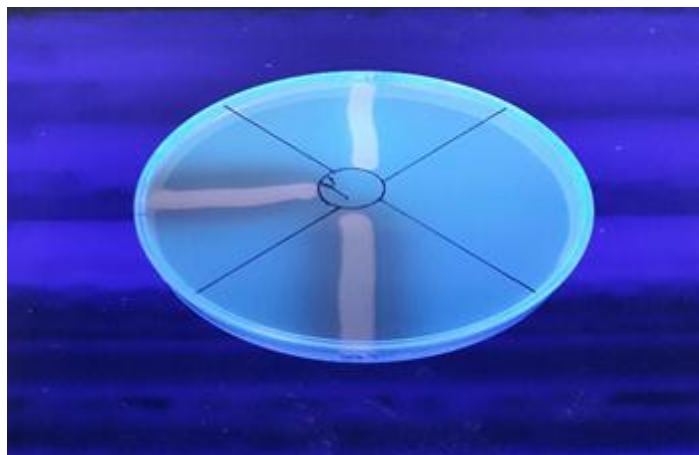


نمودار ۳. تعداد جدایه‌های دارای پمپ افلاکس به روش فنوتیپی کارت ویل

استفاده از روش فنوتیپی جهت تأیید حضور پمپ افلاکس مرتبط با مقاومت به سیپروفلوکسازین در سودوموناس



نمودار ۴. تعداد ایزوله‌های دارای پمپ افلاکس در غلظت‌های مختلف اتیدیوم بر مایند



شکل ۳. روش کارت ویل جهت تعیین فنوتیپی حضور پمپ افلاکس در ایزوله‌های مقاوم به سیپروفلوکسازین خط کشت دارای درخشش فاقد پمپ افلاکس می‌باشد و اتیدیوم بروماید در باکتری تجمع دارد

بحث و نتیجه گیری

«عفونت‌های بیمارستانی»، یکی از معضلات مطرح پزشکی در کشورهای توسعه یافته و نیز کشورهای در حال توسعه می‌باشد که موجب شیوع بیماری‌های عفونی در جامعه می‌گردد (Arvanitidou M et al; ۲۰۰۵). در سال‌های اخیر توجه به عفونت‌های بیمارستانی از اهمیت زیادی برخوردار شده است؛ زیرا فقط در سال ۱۹۹۵ هشتاد و هشت هزار مورد مرگ بر اثر عفونت‌های بیمارستانی در دنیا گزارش شده است. سودوموناس آئروژینوزا از شایع‌ترین عوامل عفونت بیمارستانی، به ویژه در زخم‌های سوختگی است. عفونت با این باکتری می‌تواند سپتی سمی، پنومونی، مننژیت و بیماری‌های کشنده دیگری را نیز به دنبال داشته باشد. سیستم‌های افلاکس، به عنوان یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مقاومت ذاتی و اکتسابی در باکتری‌ها به حساب می‌آید و نسبت به دفع مواد سمی مانند آنتی بیوتیک‌ها، داروها، مواد شیمیایی و همچنین ترشح فرآورده‌های سلولی را به خارج از سلول توانا هستند. پمپ‌های افلاکس مانع ایجاد غلظت مناسبی از مواد سمی برای مهار باکتری‌ها شده و به عنوان مکانیسم دفاعی علیه مواد مضر محیط سبب بقای باکتری در محیط‌های مختلف می‌شود. با نگاهی اجمالی به مطالعات گذشته می‌توان نتیجه گرفت که میزان مقاومت به آنتی بیوتیک‌های متفاوت در مورد سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا نسبتاً بالاست؛ که نتایج آن‌ها بر حسب زمان و مکان جداسازی سویه‌ها متفاوت است. از طرف دیگر، این الگوهای مقاومتی دائماً در حال تغییر هستند که باید مورد توجه قرار گیرند. ظهور مقاومت روز افزون به عوامل ضد میکروبی در این باکتری به عنوان تهدیدی برای بهداشت عمومی، باعث نگرانی‌هایی، از قبیل کاهش انتخاب‌های درمانی، افزایش هزینه‌ها و مرگ و میر شده است. اکرامی و همکاران نشان دادند که تمامی ۵۳ سویه سودوموناس آئروژینوزا جداسازی شده دارای پمپ افلاکس و ژن‌های با این پمپ، یعنی MexA و MexB مرتبط بوده‌اند (۱۷)؛ در حالی که در مطالعه حاضر فقط ۶۸٪ از سودوموناس‌های جدا شده دارای پمپ افلاکس بوده‌اند. نتایج مطالعه صالحی و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان می‌دهد که از لحاظ آماری بین وجود ژن‌های MexA و MexB و همین‌طور مقاومت‌های آنتی بیوتیکی سودوموناس آئروژینوزا ارتباط معناداری وجود دارد (۱۸).

در مطالعه ای دیگر، میهنی و همکاران در سال ۱۳۸۶ نشان دادند که ۶۷٪ سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیماران سوختگی در بیمارستان طالقانی اهواز به سیپروفلوکسازین مقاوم بودند (۱۹)؛ در حالی که در مطالعه حاضر تنها ۲۱/۳۴ سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیماران به سیپروفلوکسازین مقاوم بودند و این اختلاف ممکن است به شرایط جغرافیایی مرتبط باشد. مطالعه‌ای دیگر نشان می‌دهد که سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیماران سوختگی نسبت به سیپروفلوکسازین دارای ۱۰۰٪ مقاومت هستند (۲۰).

استفاده از روش فنوتیپی جهت تأیید حضور پمت افلاکس مرتبط با مقاومت به سیپروفلاکسازین در سودوموناس

رحمانی بادی (Badi-Rahmani) و همکاران در سال ۱۳۸۵ تنها در ۱۷ % از سویه‌های مورد مطالعه پمپ MexAB-OprM را مشاهده کردند . (۲۱). اختلاف نتایج در مورد این باکتری به انعطاف پذیری ژنوم این باکتری و ورود و خروج عوامل ژنتیکی، نظیر اینتگرون‌ها و پلاسمیدها به داخل باکتری و ایجاد یا حذف ژن‌های وابسته به مقاومت مربوط می‌باشد. مواردی نظیر منطقه و نیز مصرف بی رویه داروها نیز می‌تواند بر ایجاد مقاومت دارویی مؤثر باشد.

Reference

۱. Qiu D, Eisinger VM, Rowen DW, Yu HD. Regulated proteolysis controls mucoid conversion in *Pseudomonas aeruginosa*. Proc Natl Acad Sci USA. ۲۰۰۷; ۱۰۴(۱۹):۸۱۰۷-۸۱۱۲.

۲. Jefferies JM, Cooper T, Yam T, Clarke SC. *Pseudomonas aeruginosa* outbreaks in the neonatal intensive care unit – asystematic review of risk factors and environmental sources. J Med Microbiol. ۲۰۱۲; ۶۱(Pt ۸):۱۰۵۲-۱۰۶۱.

۳. Arvanitidou M, Katikaridou E, Douboyas J, Tsakris A. Prognostic factors for nosocomial bacteraemia outcome: a prospective study in a Greek teaching hospital. J Hosp Infect. ۲۰۰۵; ۶۱(۳): ۲۱۹-۲۴.

۴. Wenzel, R.P. The economics of nosocomial infections. J Hosp Infect. ۱۹۹۵ ۳۱, pp. ۷۹-۸۷.

۵. Eriksen HM, Iversen BG, Aavitsland P. Prevalence of nosocomial infections in hospitals in Norway, ۲۰۰۲ and ۲۰۰۳. J Hosp Infect. ۲۰۰۵; ۶۰(۱): ۴۰-۵.

۱۱ ۶. Mirsalehian A, Feyzabadi M, Akbari Nakhjavani F, Jabal Ameli F. Prevalence of Extended Spectrum Beta Lactamases among Strains of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Burn Patients. Tehran Univ Med J ۲۰۰۸; ۶۶(۵):۳۳۳۷. [Full Text in Persian]

۷. Schneiders T, Findlay J, Amyes SG. Efflux Pumps in *Acinetobacter baumannii*. *Acinetobacter Biology and Pathogenesis* Springer; ۲۰۰۸. p. ۱۰۵-۲۷.

۸. Acton A. *Pseudomonas aeruginosa*: new insights for the healthcare professional. Scholarly Brief. Scholarly Editions. ۲۰۱۳; pp: ۱۱-۳۲.

۹. Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Kaye KS, Ben-Ami R, Schwartz D & Carmeli Y. (۲۰۰۶). Clinical and Economic Impact of Bacteremia with Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae

۱۰. Mavri A, Mozina S.S. Involvement of efflux mechanisms in biocide resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. J Med Microbiol ۲۰۱۲; ۶۱: ۸۰۰-۸.

۱۱. Barrero MAO, Pietralonga P a. G, Schwarz DGG, Silva A, Paula SO, Moreira M a. S. Effect of the inhibitors phenylalanine arginyl β naphthylamide(PA β N) and β -

naphthylmethyl)-piperazine (NMP) on expression of genes in multidrug efflux systems of *Escherichia coli* isolates from bovine mastitis. *Res Vet Sci* ۲۰۱۴; ۹۷(۲): ۱۷۶-۸۱.

۱۲. Tandukar M, Oh S, Tezel U, Konstantinidis K, Pavlostathis S. Long-Term Exposure to Benzalkonium Chloride Disinfectants Results in Change of Microbial Community Structure and Increased Antimicrobial Resistance. *Environ Sci Technol* ۲۰۱۳; ۴۷: ۹۷۳۰-۸.

۱۳. Lomovskaya O, Bostian KA. Practical applications and feasibility of efflux pump inhibitors in the clinic. A vision for applied use. *Biochem Pharmacol* ۲۰۰۶; ۷۱: ۹۱۰-۸.

۱۴. Mahamoud A, Chevalier J, Alibert Franc S, Pages J. Antibiotic efflux pumps in Gram negative bacteria: the inhibitor response strategy. *J Antimicrob Chemother.* ۲۰۱۰; ۵۹: ۱۲۲۳-۱۲۲۹.

۱۵. Nikaido H. Antibiotic resistance caused by Gram-negative multidrug efflux pumps. *Clin Infect Dis.* ۱۹۹۸; ۲۷(Supplement ۱): S۳۲-S۴۱.

۱۶. Saier MH, Paulsen IT, Sliwinski MK, Pao SS, Skurray RA, Nikaido H. Evolutionary origins of multidrug and drug specific efflux pumps in bacteria. *FASEB J.* ۱۹۹۸; ۱۲(۳): ۲۶۵-۲۷۴.

۱۷. Ekrami A, Enayat K. Bacterial infections in burn patients at burn hospital in Iran. *Indian J Med Res.* ۲۰۰۷; ۱۲۶: ۵۴۱-۵۴۴.

۱۸. Salehi M, Hekmatdoost M, Hosseini F. Quinolone resistance associated with efflux pumps mexAB-*oprM* in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Microbial World.* ۲۰۱۴; ۶(۴): ۲۹۰-۲۹۸.

۱۹. Mihani F, Khosravi A. MBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients with burn wound infections and PCR methods to identify *blaVIM*, *blaIMP* genes. *Iran J Microbiol.* ۲۰۰۷; ۱(۱): ۲۳-۳۱.

۲۰. Brown MH, Paulsen IT, Skurray RA. The multidrug efflux protein NorM is a prototype of a new family of transporters. *Mol Microbiol.* ۱۹۹۹; ۳۱(۱): ۳۹۴-۴۰۵.

۲۱. Rahmani-Badi A, Abdi-Ali A, Falsafi T, Nikname V. Study of antibiotic resistance by

efflux in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Pak J Biol Sci. ۲۰۰۷; ۱۰(۶):۹۲۴-۹۲۷

Using a phenotypic method to confirm the presence of the efflux pump associated with resistance to ciprofloxacin in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from skin samples

Abstract:

Introduction

One of the most important causes of nosocomial infections in patients with skin infections is *Pseudomonas aeruginosa*. The occurrence of antibiotic resistance with various mechanisms is one of the problems in treating these patients. The main role in the development of multiple resistance to antimicrobial drugs is played by the MexAB efflux pumps. The aim of this study was to evaluate the presence of the MexAB efflux pumps in the *Pseudomonas aeruginosa* isolated from skin samples.

Materials and Methods:

In this study ۲۰۰ swab specimens from patients with skin infections were collected in Qom hospitals. *Pseudomonas aeruginosa* specimens were confirmed by biochemical tests. The drug susceptibility pattern was compared to ciprofloxacin by disk diffusion method and the phenotypic study of the effects of efflux pumps was done using cartwheel method .

Results:

In this study, ۸۹ (۴۵٪) samples were infected with *Pseudomonas aeruginosa*, of which ۱۹ cases (۲۱٪) were resistant to ciprofloxacin and more than ۵۴٪ of the presence of the pump in the *Pseudomonas aeruginosa* more than ۵۴٪ of the presence of the pump in the *Pseudomonas aeruginosa*.

Conclusion:

the presence of more than ۵۴٪ of the presence of the pump in the *Pseudomonas aeruginosa*, is important in order to suggest a suitable therapeutic model for the infected

استفاده از روش فنوتیپی جهت تأیید حضور پمت افلاکس مرتبط با مقاومت به سیپروفلاکسازین در سودوموناس

patients.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, skin infections, efflux pump

استفاده از روش فنوتیپی جهت تأیید حضور پمت افلاکس مرتبط با مقاومت به سیپروفلاکسازین در سودوموناس