در میان تپش های تند زندگی

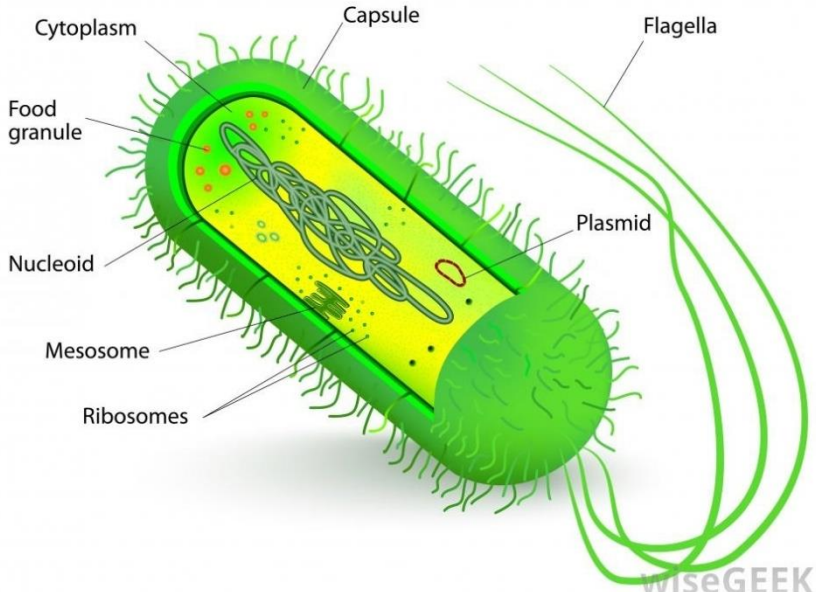
تنها یک نام معجزه میکند،

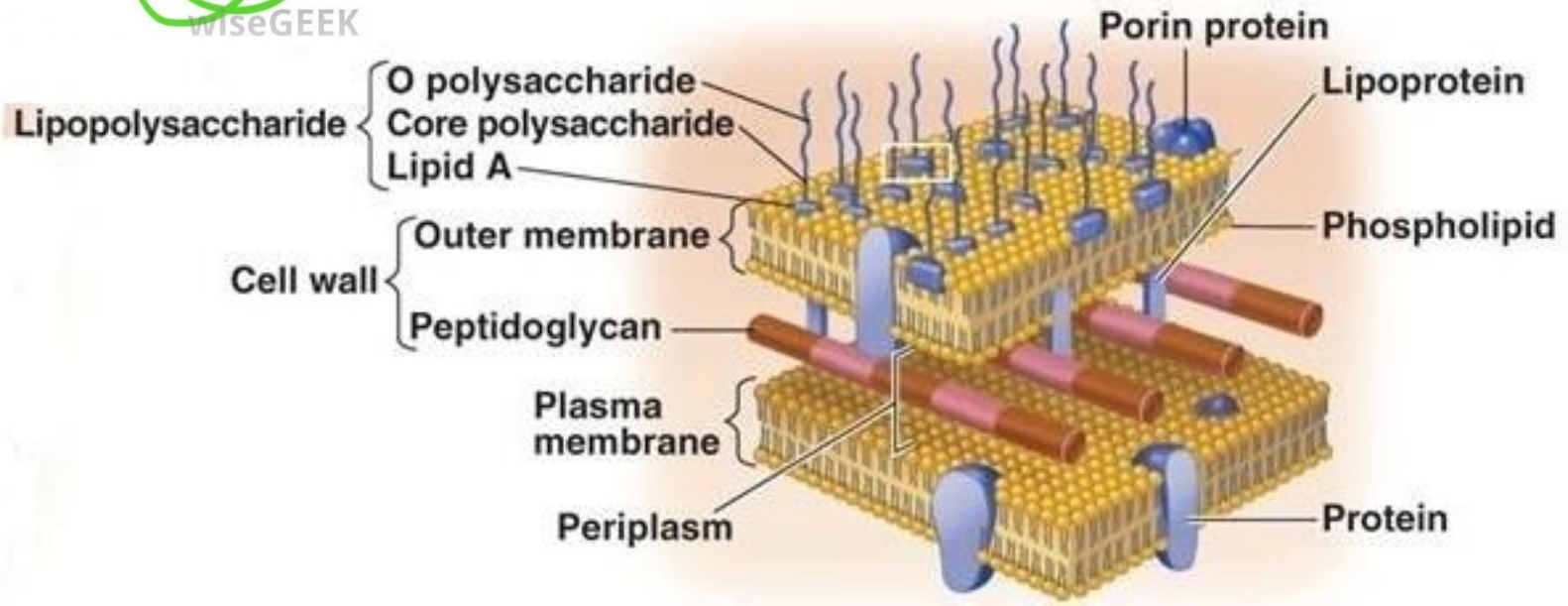
به نام خدا

مهم ترین سودوموناس ها:

- سودوموناس های فلوئورسنت
  - سودوموناس آئروژینوزا
  - سودوموناس پوتیدا
  - سودوموناس فلورسنس
- سودوموناس های غیر فلوئورسنت
  - سودوموناس سپاسیا
  - سودوموناس مالتوفیلیا
  - سودوموناس مالئی

ساختمان سلولی:





ویژگی ها و مشخصات کشت:

- ✓ کلنی تیپ I ⟵ گرد، دارای لبه های نامنظم، 2-3mm قطر با سطح مات، ساختمان داخلی برجسته و قوام کره ای
- ✓ کلنی تیپ II ⟵ کوچکتر، برجسته و شبیه کلنی های کلی فرم ها
- ✓ کلنی تیپ III ⟵ خشن، برجسته و کاملاً چروکیده
- ✓ ایجاد اشکال موکوئید از کلنی های محدب اولیه در طی انکوباسیون طولانی بر روی محیط های غنی از منبع کربن
- ✓ تولید پیگمان سبز-آبی قابل انتشار در محیط کشت
- ✓ بوی مطبوع میوه ای به دلیل تولید ماده O-آمینو استوفنن از تریپتوفان
- ✓ رشد بر روی محیط های معمول بخصوص محیط مک کانکی آگار
- ✓ ایجاد همولیز بر روی آگار خوندار و درنتیجه،قهوه ای شدن محیط کشت

- ✓ ایجاد حلقه سفید رنگی از مواد لزج چسبیده به جدار شیشه و پیگمان سبز رنگ در سطح مایع
- ✓ استفاده از گرانول و استامید به عنوان تنها منبع کربن
- ✓ استفاده از محیط های انتخابی (آگار حاوی استیل تری آمونیوم بروماید یا استریماید، آگار حاوی ۴-تری کلرو-۲-هیدروکسی دی فنل اتر و آگار حاوی کلرو اکسیلنول یا دتول)
- ✓ فراهم آوردن محیط انتخابی مناسب برای کشت باکتری به استثناء برخی ایزوله های جدا شده از بیماران مبتلا به CF، با افزودن عوامل ضد میکروبی (نالیدیکسیک اسید یا نیتروفورانتوئین) به محیط اگار حاوی استریماید و همچنین افزودن عوامل ضد میکروبی (نووبیوسین، پنی سیلین، سیکلو هگزامید یا فوشین بازی، نالیدیکسیک اسید و نیتروفورانتوئین) به محیط آگار معمولی

متابولیسم:

- دارای متابولیسم اکسیداتیو
- استفاده از سیترات و آرژنین (پذیرنده الکترون)
- مسیر متابولیکی ENTNER DOUDOROFF (متابولیسم گلوکز و سایر هگزوزها)
- استفاده از محیط اکسیداسیون – فرمانتاسیون (بررسی تجزیه گلوکز)
- استفاده از محیط حاوی نمک های آمونیوم (بررسی تولید اسید)
- ترکیبات کربن دار (هیدروکربن های آلیفاتیک،اسیدهای کربوکسیلیک،هیدروکسی اسیدها و ترکیبات آروماتیک)
- چرخه تری کربوکسیلیک اسید (اصلی ترین روش تنفسی)
- چرخه Glyoxalate (ایزوسیترات لیاز، مالات سنتتاز)
- آمینواسیدها (منبع C ، N و انرژی) به استثناء متیونین (منبع N)

ویژگی های بیوشیمیایی :

- واکنش TSI
- واکنش SIM
- تولید پیگمان
- رنگ آمیزی گرم
- رشد در محیط مک کانکی آگار
- واکنش کاتالاز
- واکنش اکسیداز

- واکنش سیمون سیترات آگار
- واکنش هیدرولیتیک
- واکنش احیاء نیترات
- واکنش آرژنین دهیدروژناز
- واکنش تجزیه آروماتیک
- واکنش دکربوکسیلاز
- واکنش اکسیداسیون کربوهیرات ها

فاکتور های باکتریایی درگیر در بیماری زایی:

فاکتورهای بیماری زای سطح سلولی	فاکتورهای بیماری زای ترشحی	سیستم ترشحی تیپ III
فلاژل	پیوسیانین	Exo S
پیلی	پیووردین	Exo T
لیپوپلی ساکارید	آلکالین پروتئاز	Exo U
آلژینات	پروتئاز IV	
	الاستاز	
	فسفولیپاز C	
	رامنولیپیدها	
	اگزوتوکسین A	

کروم سنسینگ:

- رفتار گروهی باکتری ها از طریق سیگنال های شیمیایی
- دارای مولکول خود القا کننده (مولکول آسیل هموسرین لاکتون)
- دارای پروتئین فعال کننده رونویسی
- آداپته کردن باکتری با محیط اطراف
- تولید بیوفیلم (آلژینات به عنوان عامل اصلی) ← کمک به مزمن شدن بیماری، سبب عود عفونت، عدم نفوذ دارو به درون ماتریکس سلولی، طول مدت بستری شدن بیماران، هزینه طولانی مدت و شکست درمانی
- متشکل از دو سیستم ژنی las R-las I و rhl R-rhl I

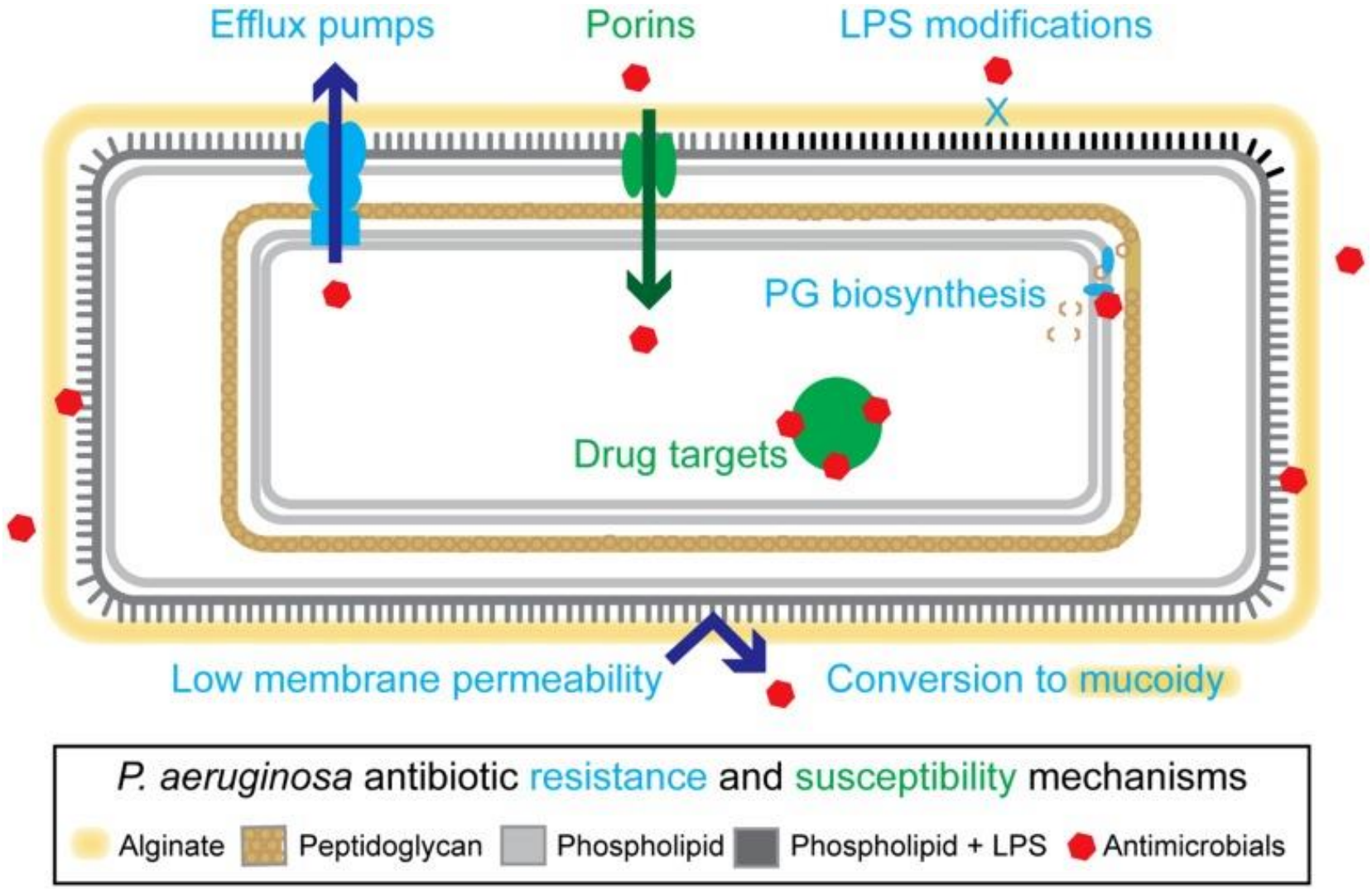
دو ژن las I و rhl I (بیان کننده دو آنزیم آسیل هموسرین لاکتون سنتتاز)

دو ژن las R و rhl R (تولید کننده پروتئین های تنظیم کننده رونویسی) ← سبب فعال سازی ژن های هدف

- کنترل و بیان ژن های دیگر نظیر: las B، apr و rhl AB
- تنظیم تولید بسیاری از عامل حدت مانند: پروتئازها، الاستاز، آلکالین پروتئاز، اگزوتوکسین A ، رامنولیپیدها، لکتین، سوپر اکسید دیسموتاز (توسط ژن های las و rhl)
- تحت تأثیر قرار گرفتن سیستم ایمنی میزبان (توسط ژن های las و rhl) ⟵ جلوگیری از پرولیفراسیون لنفوسیت ها، کاهش تولید TNF-α و IL-12، القای آپوپتوز در ماکروفاژها و نوتروفیل ها

حساسیت نسبت به عوامل فیزیکی و شیمیایی:

- از بین رفتن باکتری در دمای ۵۵ درجه به مدت یک ساعت
- مقاوم به اکثر مواد شیمیایی ⟵ توصیه به استفاده از فنل اتانول + یک محلول ضد عفونی کننده وسیع الطیف (بنزالکونیوم کلراید، کلرو هگزیدین، کلرو کرزول) و ترکیبات موثر(EDTA-بنزالکونیوم و EDTA-کلروکرزول)
- مقاومت نسبی در برابر ترکیبات چهار ظرفیتی آمونیوم(ستریماید، دتول و بنزالکونیوم کلراید)
- استفاده از مواد موجود در محلول های صابون، آنتی سپتیک های ضعیف و سرم فیزیولوژی برای رشد
- سیدکس به شکل محلول قلیایی ۲ درصد گلوتار آلدئید به عنوان ماده موثر علیه این باکتری
- حساس به اسید و نمک های نقره
- حساس به پارا آمینو بنزن سولفونامید و سولفادیازین نقره(در اکثر سویه های این باکتری)


Efflux pumps
Porins
LPS modifications
X
PG biosynthesis
Drug targets
Low membrane permeability
Conversion to mucoidy
P. aeruginosa antibiotic resistance and susceptibility mechanisms
Alginate
Peptidoglycan
Phospholipid
Phospholipid + LPS
Antimicrobials

درمان آنتی بیوتیکی:

- آمینوگلیکوزیدها (جنتامایسین- آمیکاسین- توبرامایسین)
- کینولون ها (سیپروفلوکساسین- لووفلوکساسین- موکسی فلوکساسین)
- سفالوسپورین ها (سفوتاکسیم- سفتازیدیم- سفپیم- سفوپراون- سفتریاکسون- سفوروکسیم)
- پنی سیلین ها (پیپراسیلین- آموکسی سیلین- تیکارسیلین- کربوکسی پنی سیلین)
- کارباپنم ها (ایمی پنم- مروپنم- دوریپنم- ارتاپنم)
- پلی میکسین (پلی میکسین B- کلیستین)
- مونوباکتام (آزترونم)

سال	نام محقق- کشور	موضوع تحقیق	نتیجه
2016	رزاق محمودی و همکاران	بررسی و شناسایی ژن های QSدر سویه های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه های بالینی به روش Multi Plex PCR و تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی	میزان فراوانی ژن ها rhl R 5%، las R 48.3% ،las I 60% بوده، در صورتیکه ژن های las B، apr، rhl AB و rhl I در هیچ یک از نمونه ها شناسایی نگردیدند. در آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی، بیشترین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های آمپکاسین، آموکسی سیلین و سفوتاکسیم و بیشترین میزان حساسیت به آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین و سفتازیدیم گزارش گردیده است.
2014	کیومرث امینی و همکاران	شناسایی مولکولی ژن های QS در سویه های سودوموناس آئروژینوزا و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی	81.6% درصد از نمونه ها حاوی ژن های QS بودند که در این میان ژن های las R، las I، rhl R، rhl I به ترتیب 5٪ ، 78.3٪، 65٪ و 43.3% گزارش شده است.
2003 و 2009 2009 1998 و 2003	لتونی کره اسپانیا	بررسی مقاومت باکتری های سودوموناس آئروژینوزا به آنتی بیوتیک ایمی پنم	در لتونی میزان مقاومت به ایمی پنم را به ترتیب 23.9٪ و 26٪، در کره 20.5٪، در اسپانیا به ترتیب 14٪ و 18% گزارش کرده است.

مراحل انجام کار:

1. جمع آوری 130 نمونه مختلف از مراکز درمانی اراک (خون، ادرار، ترشحات تنفسی، خلط و زخم سوختگی) و انتقال نمونه ها به آزمایشگاه میکروب شناسی
2. انجام تست های استاندارد بیوشیمیایی و میکروبی جهت شناسایی ایزوله های سودوموناس آئروژینوزا (رشد در محیط مک کانکی آگار، تست اکسیداز، تست کاتالاز، واکنش در محیط TSI، واکنش در محیط سیمون سیترات آگار، تست SIM، رنگ آمیزی گرم، تولید پیگمان در محیط نوترینت آگار)
3. نگه داری ایزوله ها در محیط Trypticase Soy Broth واجد ۲۰ درصد گلیسرول
4. بررسی الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی با روش دیسک دیفیوژن با استفاده از ۷ دیسک مختلف (سفوتاکسیم، آموکسی سیلین، سیپروفلوکساسین، آمیکاسین، جنتامایسین، ایمی پنم، پیپراسیلین)

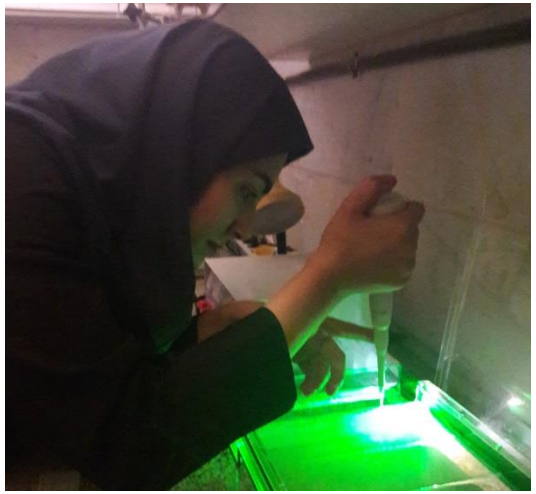
- کنترل کیفی دیسک ها (ATCC 27853)
- تهیه سوسپانسیون باکتریایی معادل غلظت نیم مک فارلند
- انجام کشت چمنی و قرار دادن دیسک های آنتی بیوتیکی بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار
- اندازه گیری قطر هاله ها و تفسیر آن ها با توجه به استاندارد های CLSI و تقسیم بندی آن ها به
- سه گروه مقاوم، نیمه حساس و حساس

5. استخراج مواد ژنومی با استفاده از کیت استخراج DNA مختص باکتری های گرم منفی از شرکت سیناکلون بر اساس پروتکل شرکت
6. تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ
7. انجام گرادیانت جهت یافتن بهترین دمای اتصال پرایمر

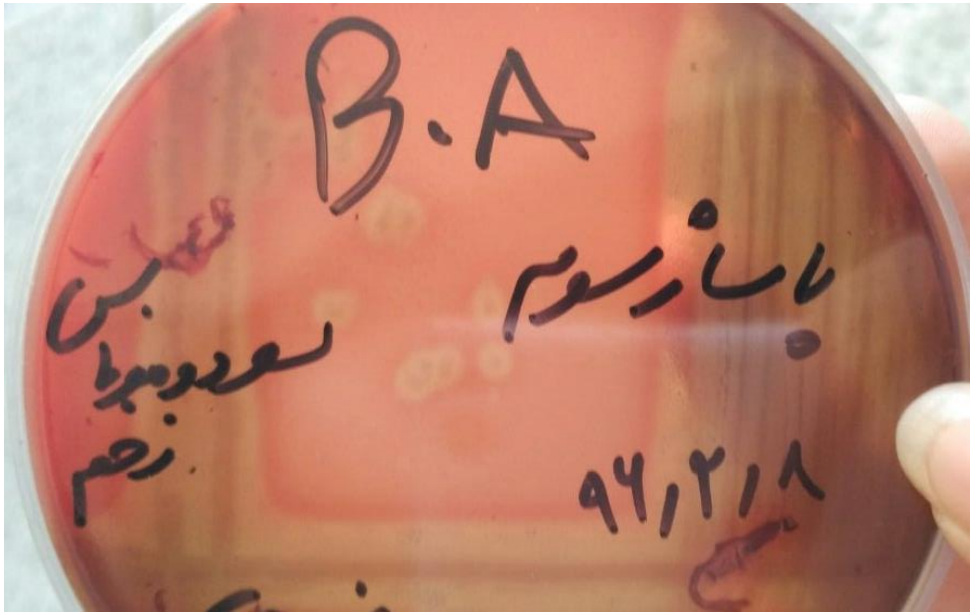
8. واکنش زنجیره پلیمراز

- آماده سازی مخلوط مواد PCR (آب دو بار تقطیر و غیر یونیزه – Master Mix – پرایمرهای Reverse Forward برای دو ژن rhl R و rhl AB – DNA نمونه)
- انجام واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر برای دو ژن rhl R و rhl AB (طبق چرخه های دمایی، دما، زمان و تعداد سیکل تعیین شده برای این دو ژن)

9. الکتروفورز محصولات PCR در ژل آگاروز ۱/۵ درصد و ارزیابی قطعات ژنی با استفاده از 100bp DNA Ladder

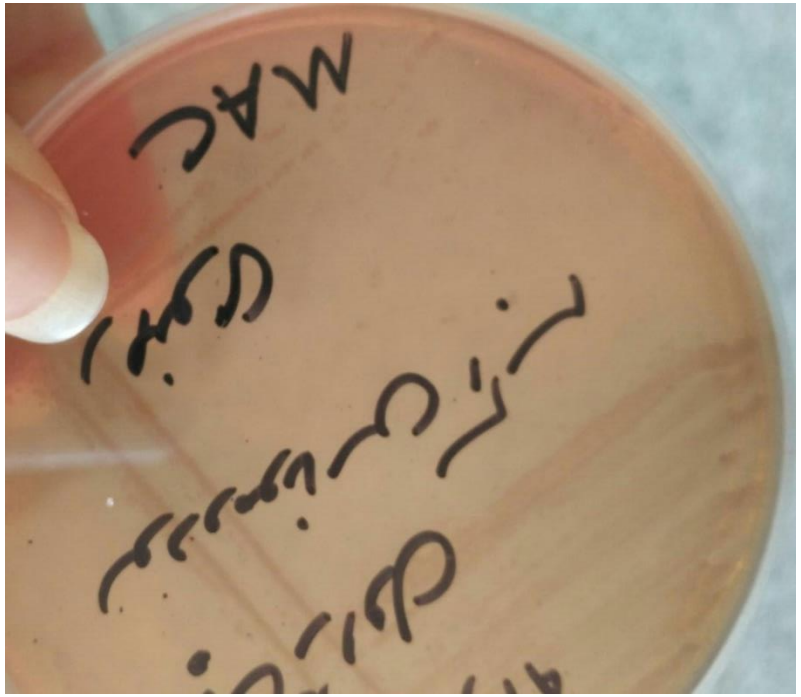


رشد در محیط بلاد آگار



لیز کامل گلبول های قرمز (همولیز بتا)

رشد در محیط مک کانکی آگار

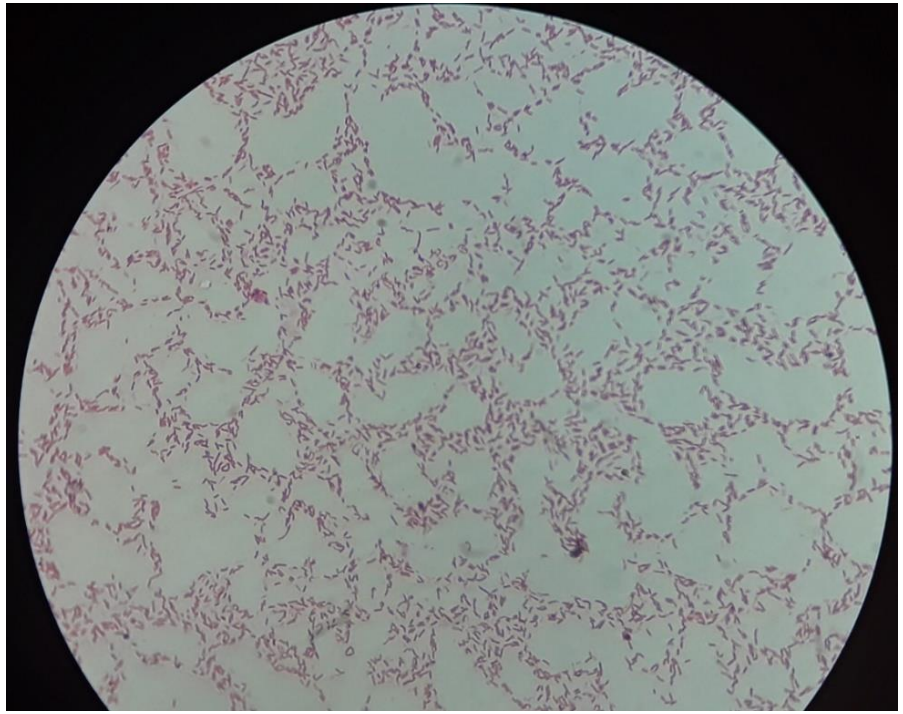


بدون رنگ و کدر
عدم تغییر رنگ ظاهر محیط

تست تولید پیگمان

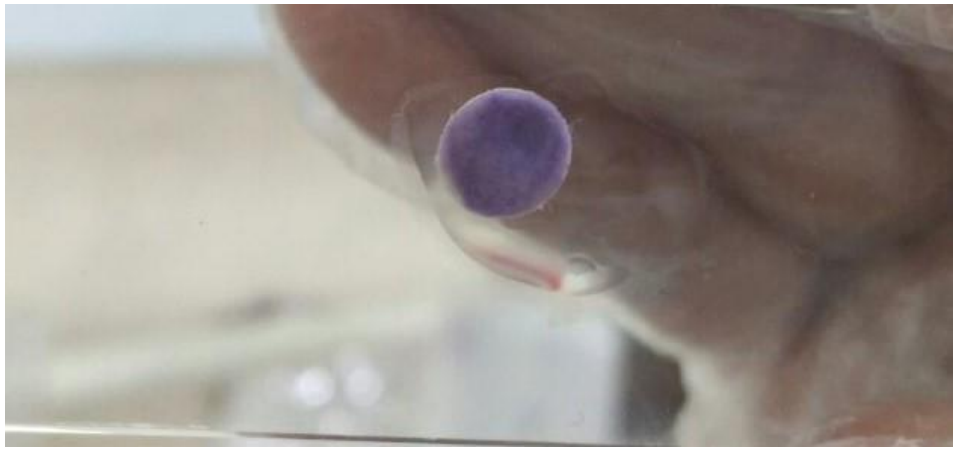
تولید پیگمان سبز رنگ

رنگ آمیزی گرم



باسیلی شکل-صورتی رنگ (گرم منفی)

تست اکسیداز



تغییر رنگ به بنفش

اکسیدار مثبت

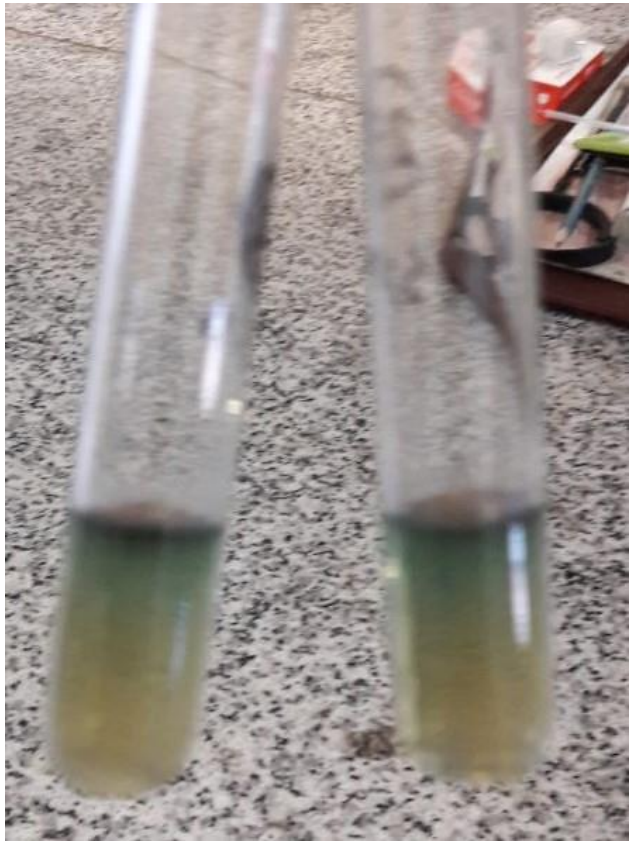
(دارای سیتوکروم به عنوان سازنده آنزیم اکسیداز)

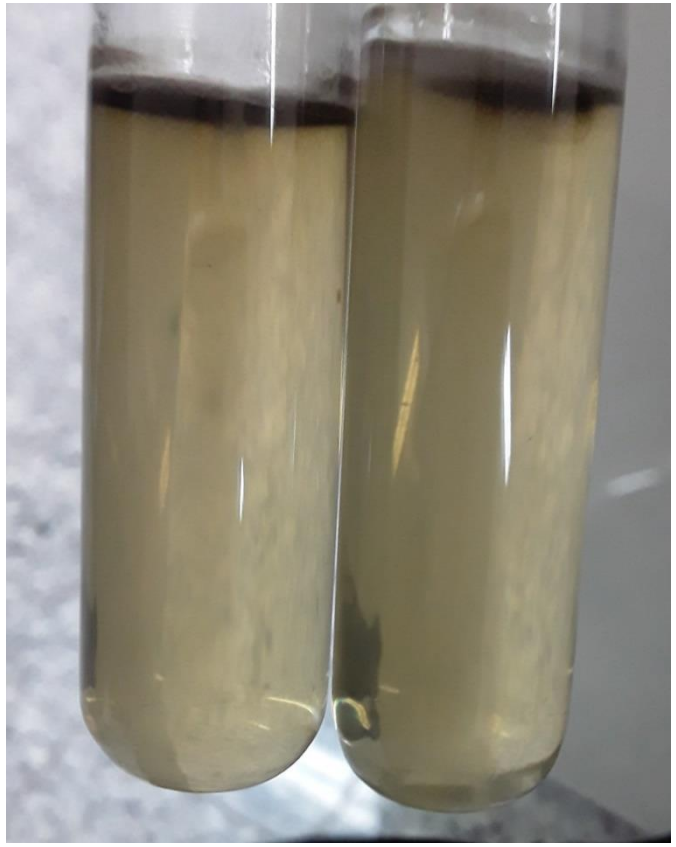
تست کاتالاز

تولید اکسیژن

کاتالاز مثبت

تست SIM





رسوب سیاه رنگ (تولید H_2S)
کدر شدن محیط (باکتری متحرک)

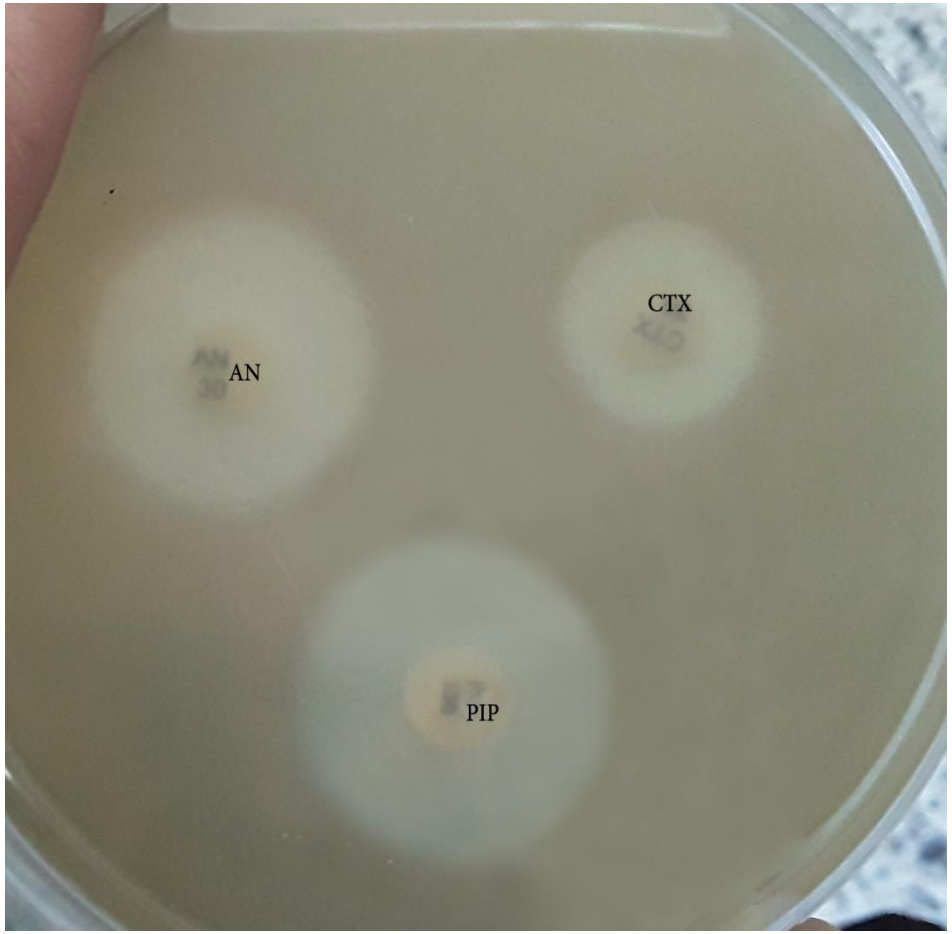
تست سیمون سیترات آگار

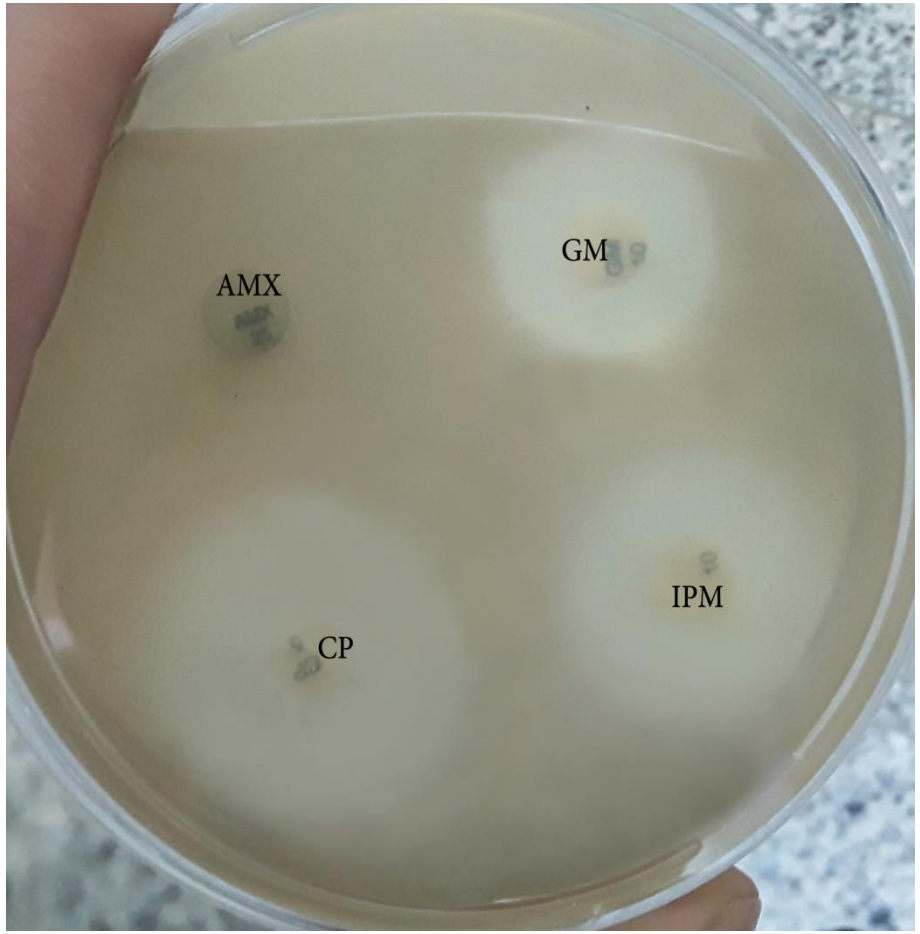
تغییر رنگ به آبی
(قادر به استفاده از سیترات به عنوان
تنها منبع کربن و انرژی و استفاده از
نمک آمونیوم به عنوان تنها منبع ازت)

تست TSI

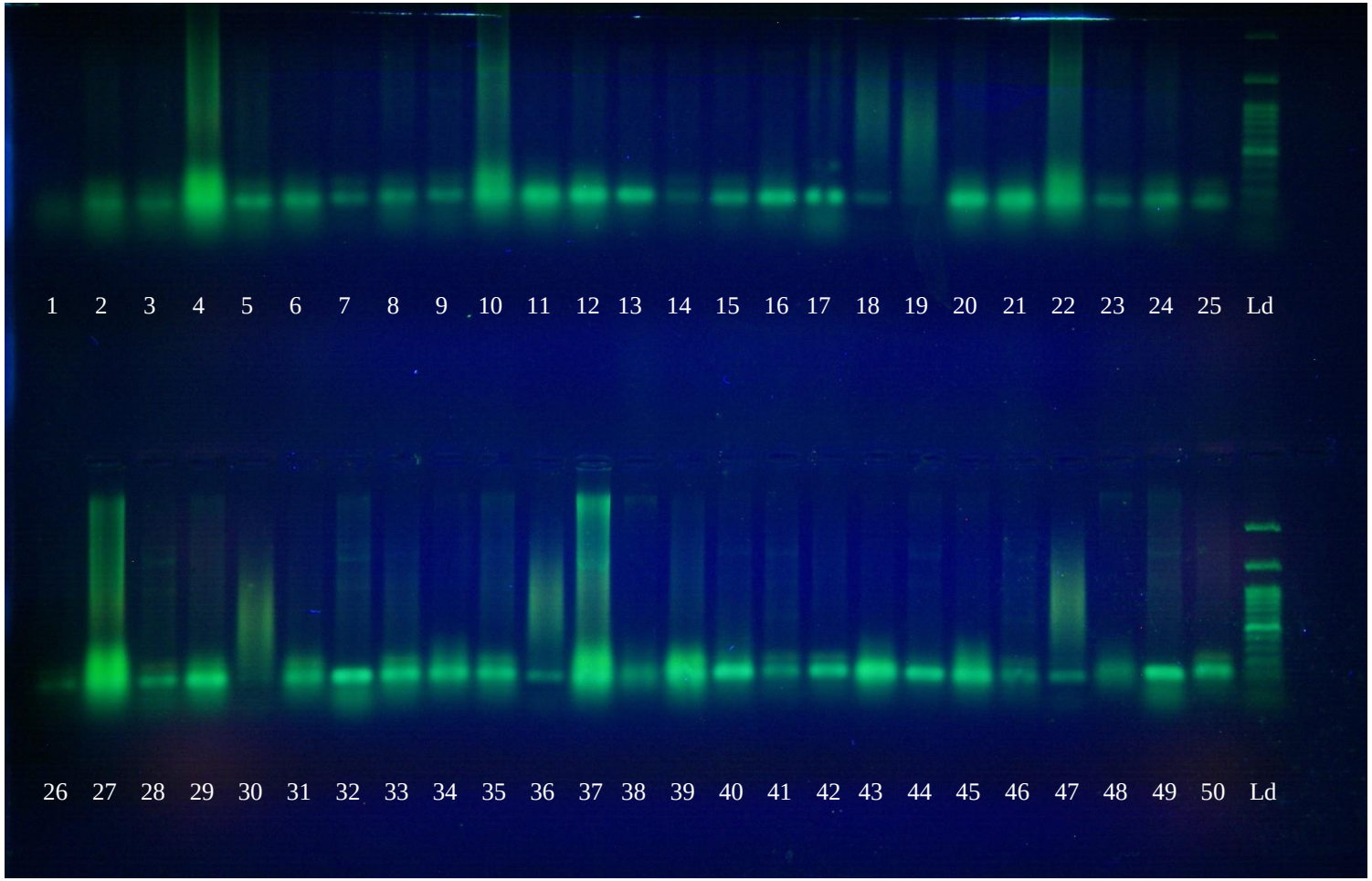
سطح و عمق به رنگ قرمز
گاز منفی، H_2S منفی
عدم توانایی تخمیر دو قند گلوکز و لاکتوز

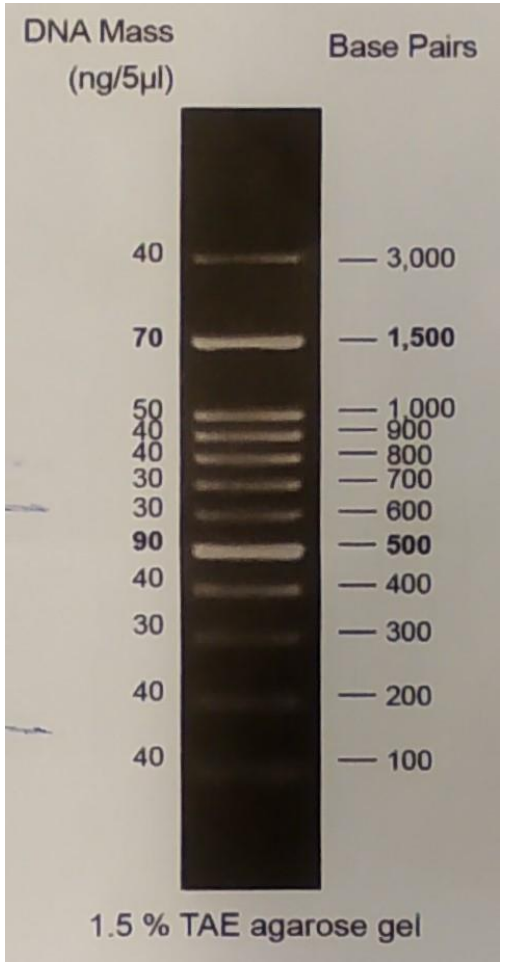
تست آنتی بیوگرام



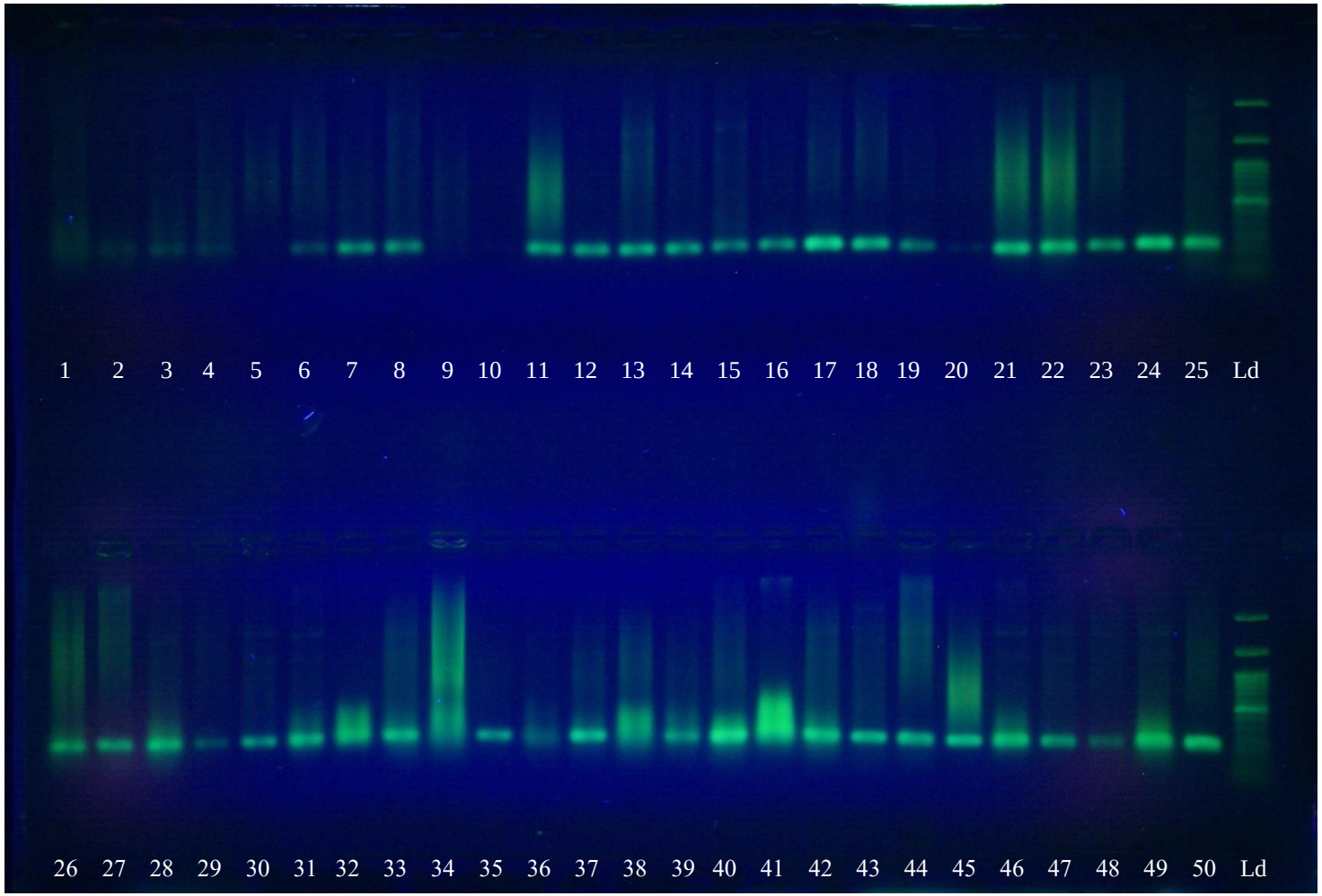


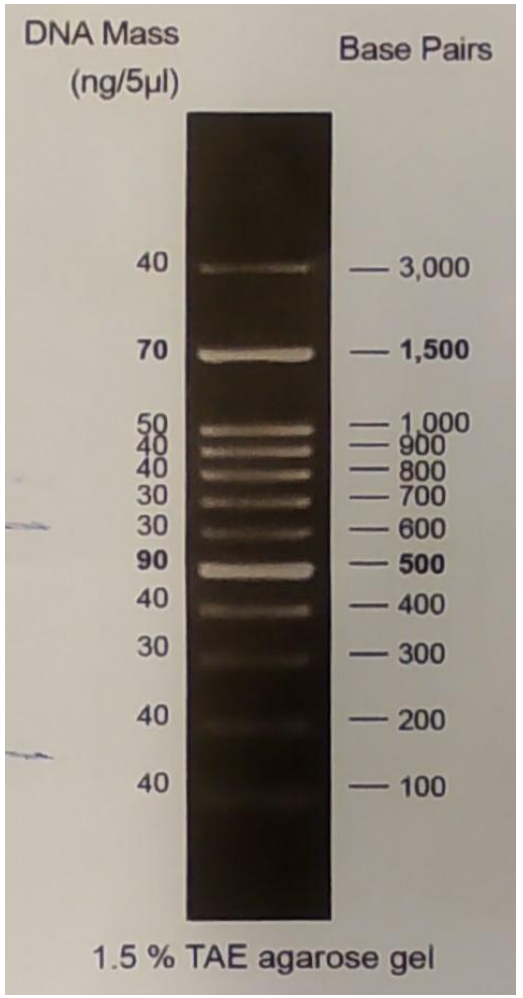
بررسی محصول PCR برای ژن rhl-R سودوموناس آئروژینوزا بر روی آگاروز 1.5% - 150bp



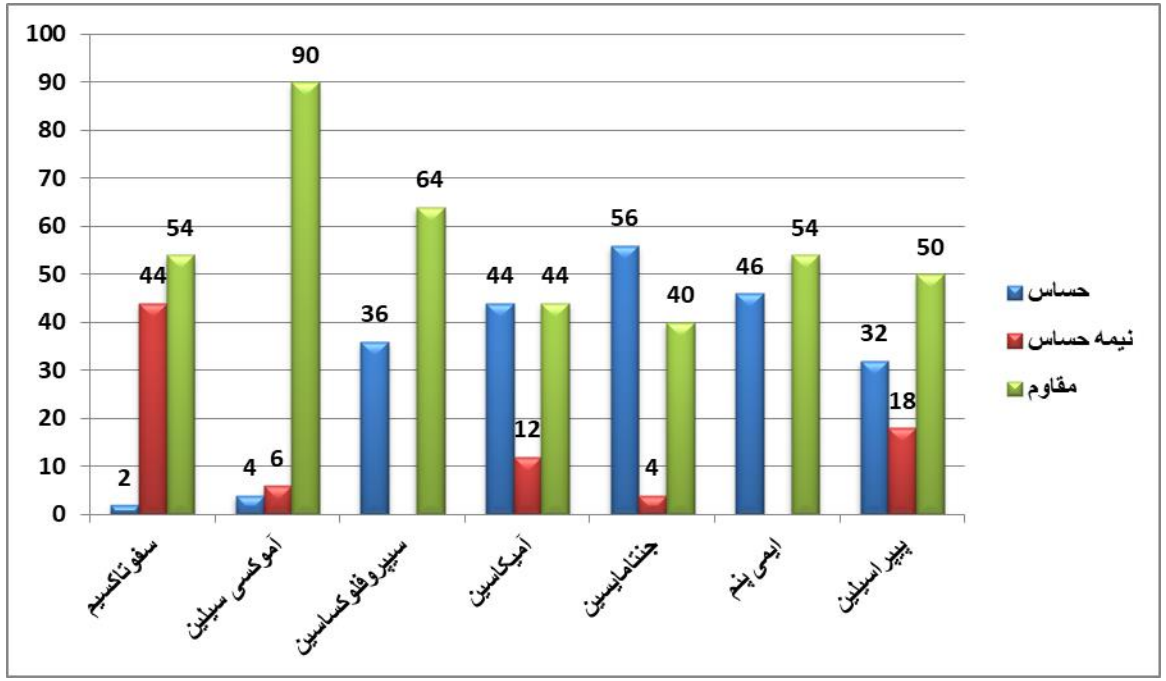


بررسی محصول PCR برای ژن rhl-AB سودوموناس آئروژینوزا بر روی آگاروز 1.5% - 200bp

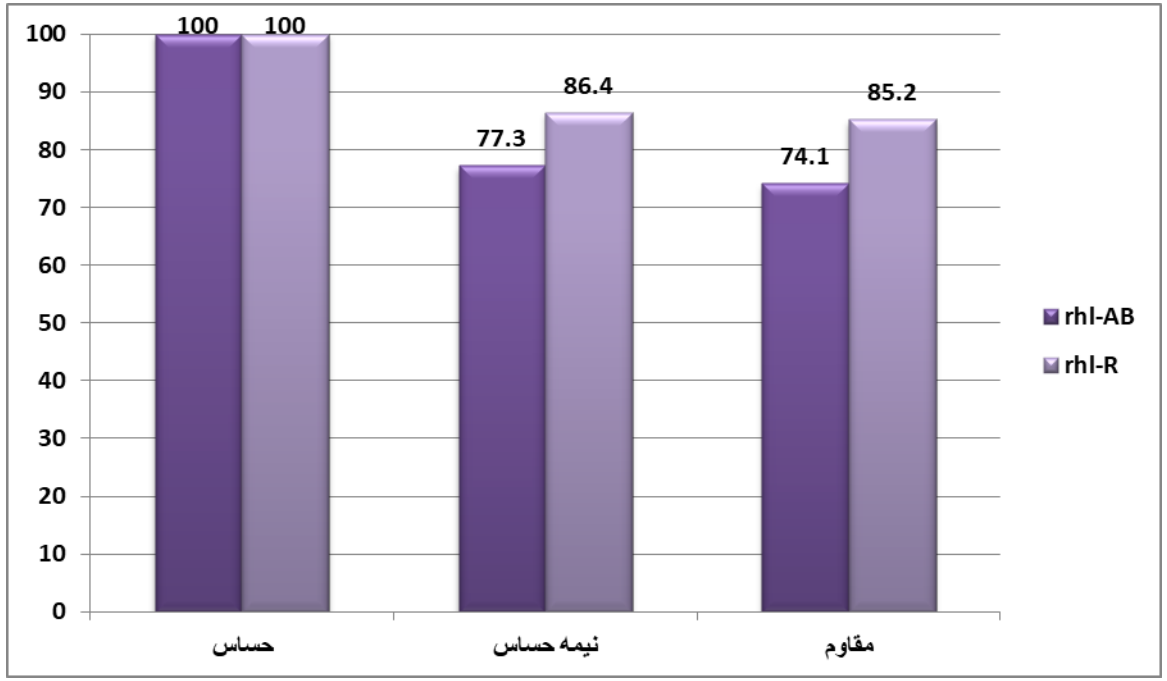




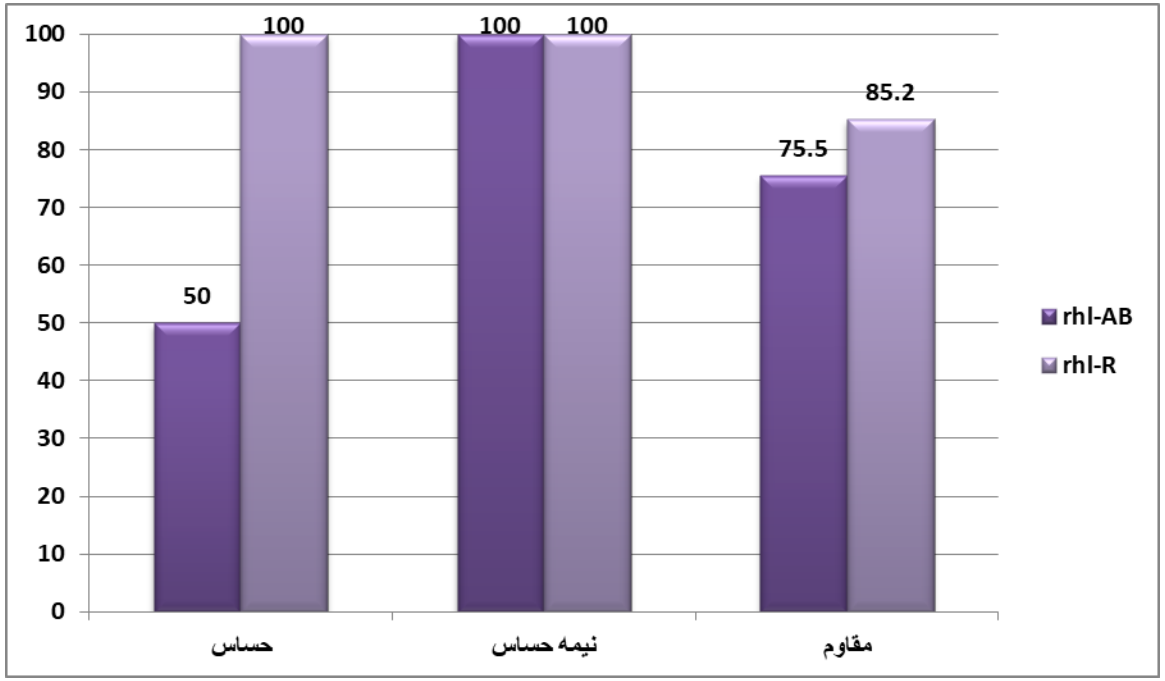
نوع آنتی بیوتیک	غلظت(میلی گرم)	حساس تعداد(درصد)	نیمه حساس تعداد(درصد)	مقاوم تعداد(درصد)
سفوتاکسیم	۳۰	۱(۲)	۲۲(۴۴)	۲۷(۵۴)
آموکسی سیلین	۲۵	۲(۴)	۳(۶)	۴۵(۹۰)
سیپروفلوکساسین	۵	۱۸(۳۶)	-(-)	۳۲(۶۴)
آمیکاسین	۳۰	۲۲(۴۴)	۶(۱۲)	۲۲(۴۴)
جنتامایسین	۱۰	۲۸(۵۶)	۲(۴)	۲۰(۴۰)
ایمی پنم	۱۰	۲۳(۴۶)	-(-)	۲۷(۵۴)
پیپراسیلین	۱۰۰	۱۶(۳۲)	۹(۱۸)	۲۵(۵۰)



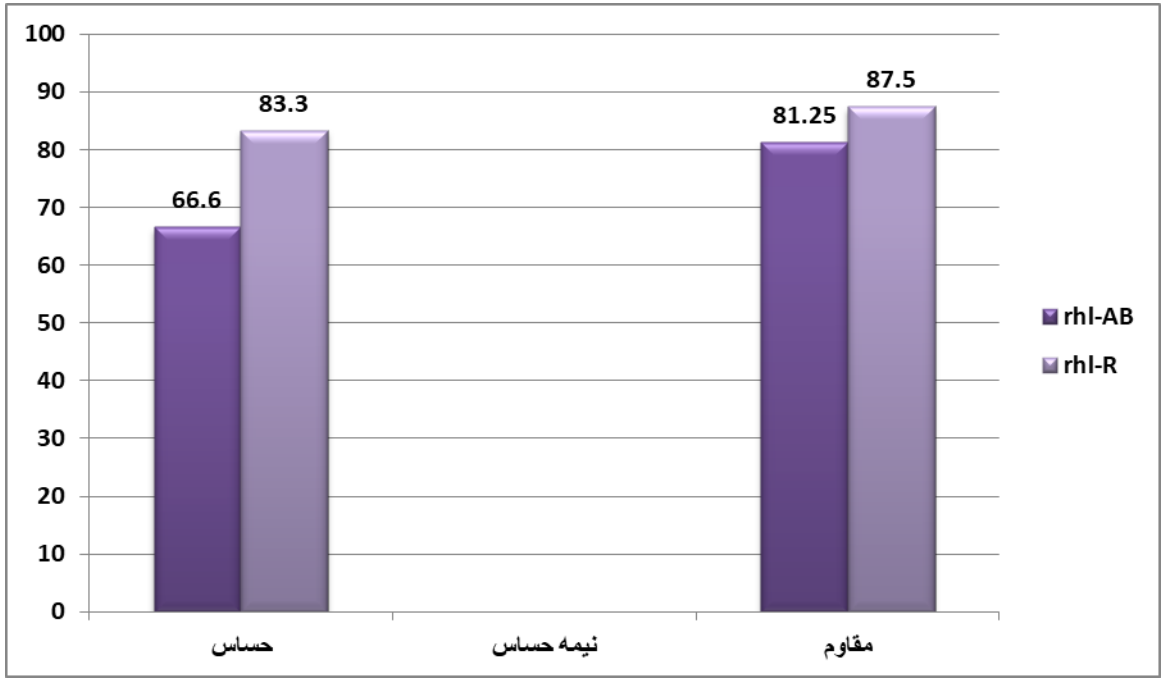
سفوتاکسیم (تعداد)	ژن rhl-AB تعداد(درصد)	ژن rhl-R تعداد(درصد)
حساس (۱)	۱(۱۰۰)	۱(۱۰۰)
نیمه حساس (۲۲)	۱۷(۷۷/۳)	۱۹(۸۶/۴)
مقاوم (۲۷)	۲۰(۷۴/۱)	۲۳(۸۵/۲)



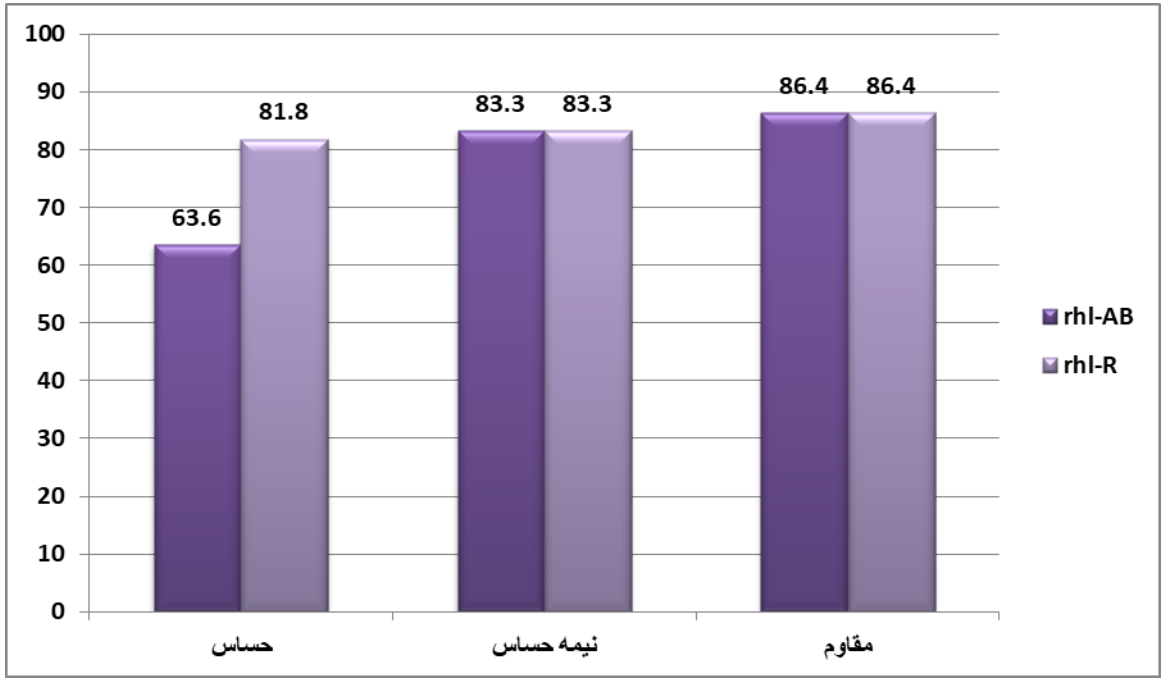
آموکسی سیلین (تعداد)	ژن rhl-AB تعداد(درصد)	ژن rhl-R تعداد(درصد)
حساس (۲)	۱(۵۰)	۲(۱۰۰)
نیمه حساس (۳)	۳(۱۰۰)	۳(۱۰۰)
مقاوم (۴۵)	۳۴(۷۵/۵)	۳۸(۸۴/۴)



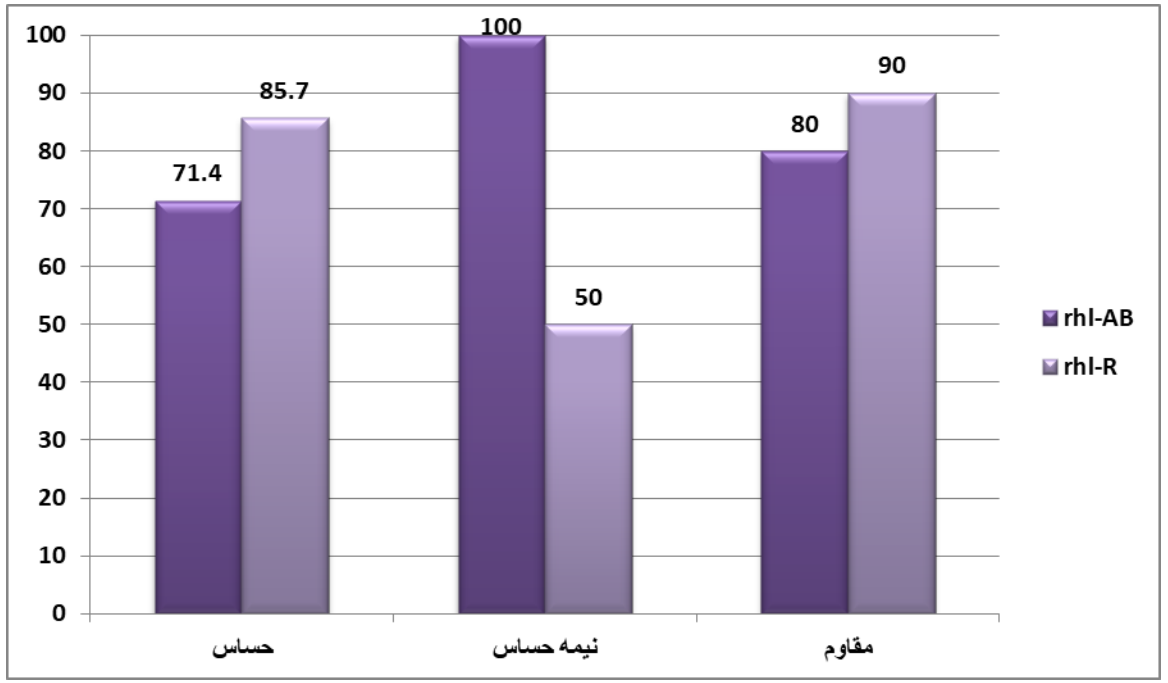
سیپروفلوکساسین (تعداد)	ژن rhl-AB تعداد(درصد)	ژن rhl-R تعداد(درصد)
حساس (۱۸)	۱۲(۶۶/۶)	۱۵(۸۳/۳)
نیمه حساس (–)	–(–)	–(–)
مقاوم (۳۲)	۲۶(۸۱/۲۵)	۲۸(۸۷/۵)



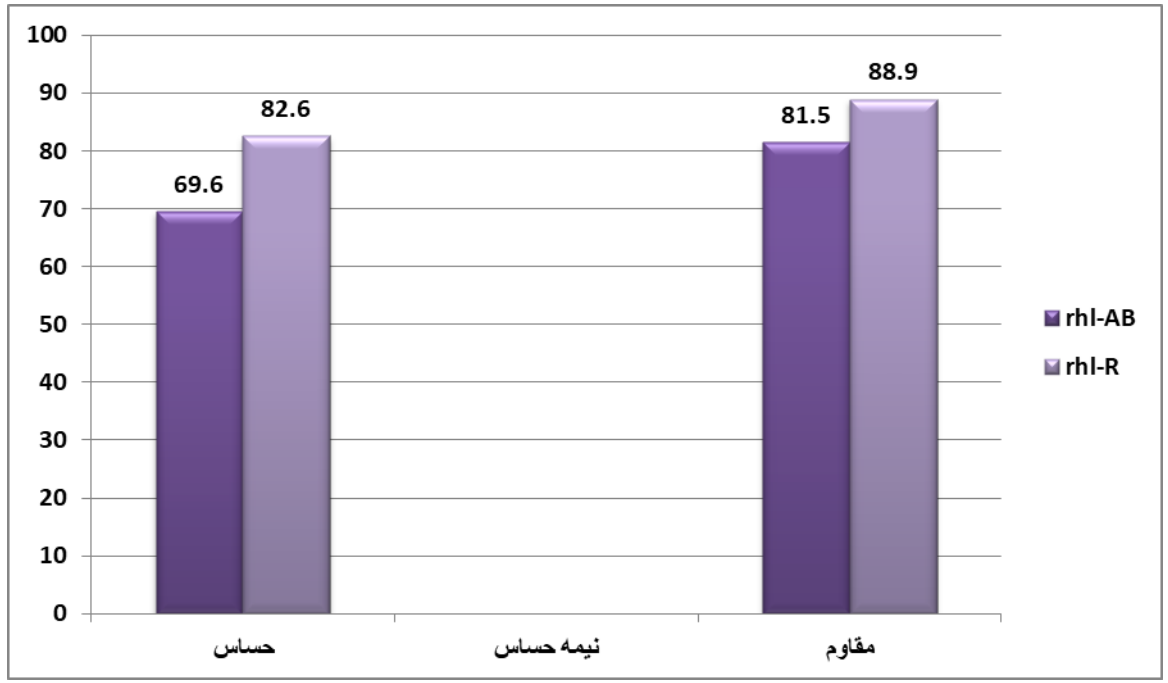
آمیکاسین (تعداد)	ژن rhl-AB تعداد(درصد)	ژن rhl-R تعداد(درصد)
حساس (۲۲)	۱۴(۶۳/۶)	۱۸(۸۱/۸)
نیمه حساس (۶)	۵(۸۳/۳)	۵(۸۳/۳)
مقاوم (۲۲)	۱۹(۸۶/۴)	۱۹(۸۶/۴)



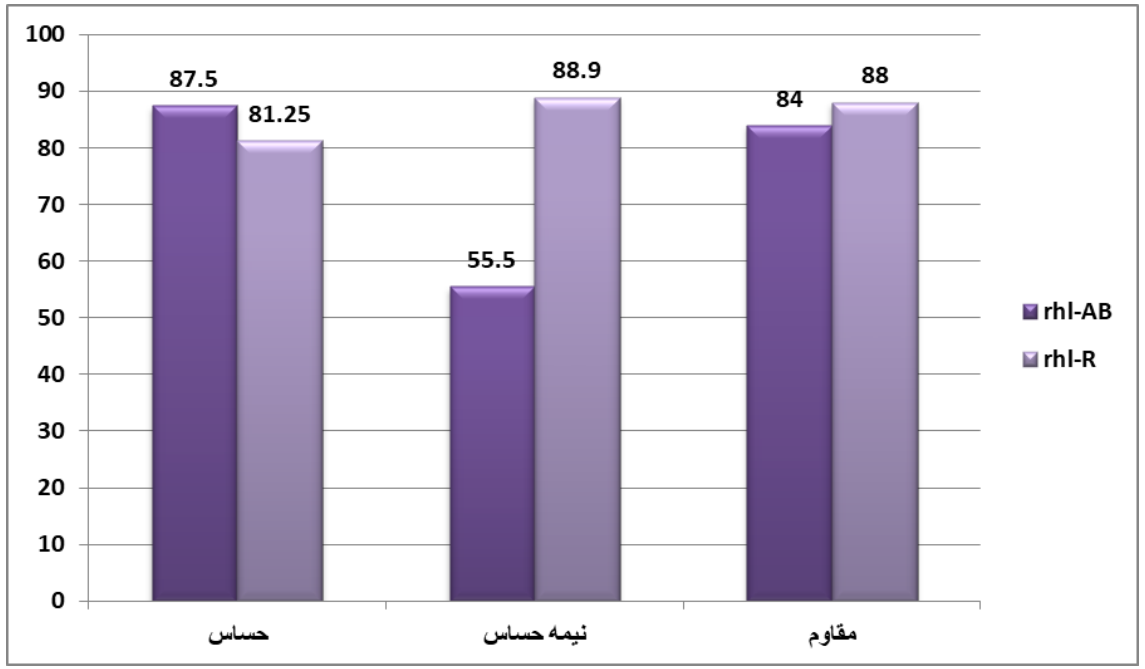
جنتامایسین (تعداد)	ژن rhl-AB تعداد(درصد)	ژن rhl-R تعداد(درصد)
حساس (۲۸)	۲۰(۷۱/۴)	۲۴(۸۵/۷)
نیمه حساس (۲)	۲(۱۰۰)	۱(۵۰)
مقاوم (۲۰)	۱۶(۸۰)	۱۸(۹۰)



ایمی پنم (تعداد)	ژن rhl-AB تعداد(درصد)	ژن rhl-R تعداد(درصد)
حساس (۲۳)	۱۶(۶۹/۶)	۱۹(۸۲/۶)
نیمه حساس (–)	–(–)	–(–)
مقاوم (۲۷)	۲۲(۸۱/۵)	۲۴(۸۸/۹)



پیپراسیلین (تعداد)	ژن rhl-AB تعداد(درصد)	ژن rhl-R تعداد(درصد)
حساس (۱۶)	۱۴(۸۷/۵)	۱۳(۸۱/۲۵)
نیمه حساس (۹)	۵(۵۵/۵)	۸(۸۸/۹)
مقاوم (۲۵)	۲۱(۸۴)	۲۲(۸۸)



مطالعه سایرین	مطالعه حاضر
بزنجانی و همکاران(2016): بیشترین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیکهای آمیکاسین، آموکسی سیلین و سفوتاکسیم به ترتیب 100٪، 100% و 94.6٪ مشاهده شد. کیومرث امینی و همکاران(2017): میزان مقاومت به آمیکاسین، آموکسی سیلین و سفپیم (100%)،تیکارسیلین(90٪)،سفوتاکسیم(88.34٪)، پیپراسیلین (86.66%)، ایمیپنم(71.66٪)،جنتامایسین(48.34٪)، سفتازیدیم(35٪) و سیپروفلوکساسین(13.34٪) مشاهده شد.	میزان مقاومت به سفوتاکسیم و ایمیپنم(54٪)، آموکسی سیلین(90٪)،سیپروفلوکساسین(64٪)،آمیکاسین(44٪)، جنتامایسین(40٪)، پیپراسیلین(50٪) و حساسیت به این آنتی بیوتیک ها نیز بترتیب (2٪)،(46٪)،(4٪)،(36٪)،(44٪) (56%)،(32%) مشاهده شد.
تفاوت در میزان مقاومت و حساسیت به آنتی بیوتیک ها می تواند به دلیل تفاوت در منبع سویه ها و مناطق جغرافیایی باشد.	

مطالعه سایرین	مطالعه حاضر
کیومرث امینی و همکاران (2014): میزان فراوانی دو ژن کروم سنسینگ rhl R .5 درصد و ژن rhl AB در هیچ از سویه ها شناسایی نگردید. در مطالعه ای (2014): ژن های کروم سنسینگ las R، las I، rhl R، rhl I به ترتیب 5٪، 78.3٪، 65٪ و 43.3٪ گزارش شدند. Senturk و همکاران(): 4 ایزوله واجد ژن های las R، las I، rhl R، rhl I بودند و یکی از ایزوله ها فاقد ژن las R و یک ایزوله برای سه ژن las R، las I، rhl R منفی گزارش شد.	میزان فراوانی دو ژن کروم سنسینگ rhl R و rhl AB در میان نمونه های حساس، نیمه حساس و مقاوم به 7 آنتی بیوتیک مختلف به صورت جداگانه بررسی و گزارش گردید. بیشترین میزان ژن rhl-AB در باکتری های نیمه حساس به جنتامایسین و آموکسی سیلین (100 درصد) ، حساس به سفوتاکسیم (100 درصد) و کمترین میزان ژن rhl-AB در باکتری های حساس به آموکسی سیلین (50 درصد) گزارش شد. همچنین بیشترین میزان ژن rhl-R در باکتری های حساس به آموکسی سیلسن و سفوتاکسیم (100 درصد)، باکتری های نیمه حساس به آموکسی سیلین (100 درصد) و کمترین میزان ژن rhl-R در باکتری های نیمه حساس به جنتامایسین (50 درصد) گزارش شد.
به دلیل حضور این ژن های کروم سنسینگ در بیماری های مرتبط با این باکتری و به دلیل نقش اصلی و مهم این ژن ها، فراوانی در بیشتر مطالعات به میزان قابل توجهی بوده به طوریکه اختلاف در میزان شیوع هر یک از این ژن ها بسته به تعداد نمونه ها و یا نوع نمونه ها اختلاف کمی مشاهده میشود و این نوع ژن های حدت دارای فراوانی بالایی می باشد. همچنین، علت عدم شناسایی برخی از ژن ها در مطالعات مختلف میتواند به علت عدم بیان ژن در نمونه ها باشد که در باکتری سودوموناس آئروژینوزا اتفاق می افتد.	

با تشکر
حضورتان را سپاس