Study of frequency of Quorum sensing genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from bovine mastitis

سامان مهدوی

دانشیار گروه میکروبیولوژی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران

آدرس: آذربایجانشرقی، مراغه، بلوار شهید درخشی، دانشگاه آزاد اسلامی

ایمیل نویسنده مسئول: S.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir

تلفن: ۰۹۱٤٤۱٥۰٤٥٤

Saman Mahdavi

Associate Professor, Department of Microbiology, Maraghe Branch, Islamic Azad University, Maraghe, Iran.

Address: East Azarbaijan, Maragheh, Shahid Derakhshi BLVD, Islamic Azad University

Email: S.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir

Tel: 09144150454

UNCORRECTED ROOF

Abstract

Pseudomonas aeruginosa is an important opportunistic pathogen that causes mastitis resistant to treatment in lactating dairy cows. This bacterium is a nosocomial pathogen and can be also transmitted to humans through food. Antibiotic resistance and biofilm production are two important factors in the pathogenesis and long-term persistence of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Pseudomonas aeruginosa* has two complete Quorum sensing systems that cause the activation of pathogenic genes. The aim of this research was to study of frequency of Quorum sensing genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from bovine mastitis in Maragheh city in 2022. In this descriptive cross-sectional study, 200 cows with clinical mastitis were sampled and 60 *Pseudomonas aeruginosa* isolates were identified after biochemical and staining tests. Then the isolated samples were investigated for the presence of *lasI* and *rhlR* genes by PCR method. The frequency of *lasI* and *rhlR* genes was observed in 2 (3.33%) and 8 (13.33%) isolates, respectively. Also, 2 isolates (3.33%) harbored both *lasI* and *rhlR* genes simultaneously. In this research, the frequency of Quorum sensing genes was less than in previous studies on samples isolated from human cases, which geographical differences and ecological origin of bacterial isolates can play a significant role in justifying its cause.

UNCORRECTED ROOF

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Quorum sensing genes, Bovine mastitis

بررسی فراوانی ژن‌های حدنصاب احساس (Quorum Sensing) در باکتری‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از موارد ورم پستان گاو

UNCORRECTED ROOF

خلاصه

باکتری *پسودوموناس آئروژینوزا* از مهمترین پاتوژن‌های فرصت‌طلب بوده که موجب بروز ورم پستان‌های مقاوم به درمان در گاوهای شیری می‌شود. این باکتری یک پاتوژن بیمارستانی بوده و می‌تواند از طریق مواد غذایی نیز به انسان منتقل شود. مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تولید بیوفیلم دو عامل مهم در بیماریزایی و تداوم طولانی مدت عفونت‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد. این باکتری، دو سیستم کامل حد نصاب احساس (Quorum Sensing) دارد که سبب فعال‌سازی ژن‌های بیماریزا می‌شود. هدف از انجام این تحقیق، بررسی فراوانی ژن‌های حدنصاب احساس در باکتری‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از موارد ورم پستان گاوی در شهر مراغه در سال ۱۴۰۲ بود. در این مطالعه مقطعی توصیفی، از ۲۰۰ راس گاو مبتلا به ورم پستان بالینی نمونه‌گیری شد و ۶۰ جدایه *پسودوموناس آئروژینوزا* پس از رنگ‌آمیزی و تستهای بیوشیمیایی، تعیین هویت شدند. سپس نمونه‌های جداسازی شده، جهت حضور ژن‌های *lasI* و *rhlR* به روش PCR بررسی شدند. بر اساس نتایج بدست آمده، ژن *lasI* در دو جدایه (۳/۳۳ درصد) و ژن *rhlR* در هشت جدایه

(۱۳/۳۳ درصد) مشاهده شد. همچنین دو جدایه (۳/۳۳ درصد) هـر دو ژن *lasI* و *rhlR* را بطـور همزمـان داشـتند. در ایـن تحقیـق، فراوانی ژن‌های حدنصاب احساس نسبت به مطالعات قبلی بر روی نمونه‌های جدا شـده از مـوارد انسـانی کمتـر بـود کـه تفـاوت‌هـای جغرافیایی و منشاء اکولوژیکی جدایه‌های باکتریایی می‌توانند در توجیه علت آن نقش بسزایی داشته باشند.

واژه‌های کلیدی: *پسودوموناس آئروژینوزا*، ژن‌های حدنصاب احساس، ورم پستان گاوی

مقدمه

پسودوموناس آئروژینوزا یک بیماریزای فرصت طلب انسانی و یکی از چهار بیماریزای بیمارستانی است که مسئول بروز ۱۰/۱ درصد از تمام عفونت‌های اکتسابی بیمارستانی می‌باشد (Jaffe و همکاران، ۲۰۰۱). مقاوم‌ترین و شایع‌ترین عامل عفونت‌های بیمارستانی موجود تا به امروز که در غالب عفونت‌های ثانویه از علل مهم مرگ و میر در سراسر دنیا معرفی گردیده، باکتری *پسودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد (Schulert و همکاران، ۲۰۰۳). *پسودوموناس آئروژینوزا* بعنوان یکی از عوامل ایجاد کننده ورم پستان کلینیکی با شیوع ناگهانی در گاوهای شیری مطرح می‌باشد. این باکتری کمتر از یک درصد و یا بیشتر از سه درصد گله را درگیر نموده و موجب ورم پستان مزمن تحت بالینی می‌شود. *پسودوموناس آئروژینوزا* در آمریکا بیش از دو میلیارد دلار، انگلستان ۹۳ میلیون یورو و در استرالیا ۱۰۰ میلیون دلار سالانه ضرر اقتصادی را به دامداران تحمیل می‌کند (Daly و همکاران، ۱۹۹۹). بیماری ورم پستان ناشی از *پسودوموناس آئروژینوزا* در اثر عواملی مانند آب آلوده، ضدعفونی نامناسب کارتیه‌ها و درمان نامناسب در دوران خشکی ایجاد می‌گردد و کارتیه‌های گاو به عنوان مخزن انتقال این باکتری عمل می‌نمایند (Kong و همکاران، ۲۰۰۵). سطح بالای مقاومت *پسودوموناس آئروژینوزا* به آنتی‌بیوتیک‌ها و گریز از سیستم ایمنی باعث انتشار این باکتری می‌گردد. از مکانیسم‌های گریز از سیستم ایمنی میزبان در پسودوموناس می‌توان به آنتی- فاگوسیتیک بودن *پسودوموناس آئروژینوزا* اشاره نمود که به

UNCORRECTED ROOF

دلیل وجود لیپوپلی‌ساکارید، کپسول، لایه چسبنده و تشکیل بیوفیلم می‌باشد. سیگنالینگ حدنصاب احساس در مراحل اولیه گسترش بیوفیلم موثر است، که با تشکیل میکروکلنی‌ها مشخص می‌شود (Chowdhury و Bagchi، ۲۰۱۶؛ Sabharwal و همکاران، ۲۰۱۴). در تنظیم بیان ژن به واسطه حدنصاب احساس (QS)، انتقال پیام و ارتباط سلول به سلول از طریق سیگنال‌هایی که خود باکتری تولید می‌کند صورت می‌گیرد و در نتیجه نسخه‌برداری ژن‌های کنترل کننده QS را القاء می‌کنند (Deep و همکاران، ۲۰۱۱). در این باکتری، دو سیستم کامل QS وجود دارد: las و rhl. سیستم las شامل ژن‌های فعال کننده رونویسی *lasR* و *lasI*و سیستم rhl شامل ژن‌های *rhlI* و *rhlR* می‌باشد. ژن *lasI* تولید الاستاز، اگزوتوکسین A و آلکالین پروتئاز را تنظیم می‌کند. در حالی که ژن *rhlI* مسئول تنظیم تولید رامنولیپید، آلکالن پروتئاز، الاستاز، سیانید و پیوسیانین می‌باشد (Kumar و همکاران، ۲۰۱۱؛ Senturk و همکاران، ۲۰۱۲). ژن‌های *las* و *rhlR* تولیدکننده پروتئین‌های تنظیم کننده رونویسی می‌باشند که با اتصال به سیگنال اختصاصی خود سبب فعال‌سازی ژن‌های بیماریزا می‌شوند (Kumar و همکاران، ۲۰۱۱). سیستمLas ، سبب نسخه‌برداری و بیان سایر ژن‌های بیماری‌زا و رنگدانه پیوسیانین و تولید بیوفیلم که در تهاجم باکتری به میزبان و همچنین مقاومت به سیستم ایمنی میزبان نقش دارند، می‌گردد. بنابراین تعدادی از ژن‌ها و محصولات ژنی را که عامل بیماریزایی *پسودوموناس آئروژینوزا* هستند را تنظیم می‌کند (Chang و همکاران، ۲۰۱۴). ژن‌های QS از ژن‌های مهم بیماریزایی و حدت در این باکتری محسوب می‌شود (Bradbury و همکاران، ۲۰۱۰؛ Rodrigues و همکاران، ۲۰۲۰). هدف از انجام این تحقیق، بررسی فراوانی ژن‌های حدنصاب احساس در باکتری‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از موارد ورم پستان گاوی در شهر مراغه در سال ۱۴۰۲ بود.

1

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و جداسازی نمونه‌ها

UNCORRECTED ROOF

در ایـن مطالعـه توصـیفی مقطعـی، ۶۰ جدایـه بـاکتری *پسودوموناس آئروژینوزا* (از ۲۰۰ راس گـاو مـورد آزمـایش در گاوداریهای سنتی) جدا شده از موارد ورم پسـتان بـالینی حـاد گاوها در شهر مراغه (استان آذربایجانشرقی) (از اردیبهشت تـا دی‌ماه سال ۱۴۰۲) مورد بررسی قرار گرفتند. پس از شناسایی کارتیه درگیر (وجود دلمه یا لخته‌های زرد رنگ و یا ترشـحات اگزوداتیو آبکی پایـدار پـس از دوشـش سـوم، وجـود گرمـی، قرمزی و درد در پستان)، برای جلوگیری از عفونت ثانویه، سه دوشش اول کارتیه مورد نظر دور ریختـه و بـا پنبـه الکـل ۷۰ درصد ضدعفونی گردید. سـپس نمونـه‌هـای شـیر در ظـروف استریل ریخته شـده و در کنـار یـخ بلافاصـله بـه آزمایشـگاه منتقل شدند. نمونه‌ها بر روی محـیط کشـت مکـانکی آگـار و ائـوزین متـیلن بلـو آگـار (EMB) (شـرکت Merck، Germany)کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. سپس کلـونی‌هـای ظاهر شده، رنگ‌آمیزی گرم شدند و آزمایشات بیوشیمیایی زیر جهت تشخیص باکتری *پسودوموناس آئروژینـوزا* انجـام شـد: اکسیداز، کاتالاز، تولید اندول و حرکت در محیط SIM، متیل رد (Methyl red)، وژ پروسـکائر (Voges proskauer)، توانایی مصرف قند لاکتوز و تولید گاز Co2 در محـیط کشـت TSI (Triple sugar Iron agar)، مصرف سیترات در محیط کشت سیمون سیترات آگار، آرژنـین دهیـدروژناز، اورنیتـین دکربوکسـیلاز، OF بـا قنـد گلـوگز و توانـایی رشـد در ۴۲ درجـه سلسـیوس (شـرکت Merck، Germany) (Winn و همکاران، ۲۰۰۶).

شناسایی مولکولی ژن‌های مورد مطالعه

استخراج DNA از ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* مـورد بررسی با استفاده از روش جوشـاندن انجـام شـد و کیفیـت و کمیت آن به ترتیب با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل آگـارز یک درصد (پایا پژوهش، ایران) و نانودراپ (Eppendorf, Germany) مورد بررسی قرار گرفـت. مشخصـات و تـوالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ نشـان داده شـده اسـت. واکنش زنجیـره‌ای پلیمـراز (PCR) در حجـم ۲۰ میکرولیتـر

UNCORRECTED ROOF

شامل ۱۱/۶ میکرولیتر آب دیونیزه استریل، ۲ میکرولیتر بافر PCR (10X) (سیناژن، ایران)، ۰/۶ میکرولیتر MgCl2، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs، ۰/۵ میکرولیتر پرایمر جلورونده، ۰/۵ میکرولیتر پرایمر عقب‌رونده (سیناژن، ایران)، ۰/۳ میکرولیتر DNA پلیمراز Taq (5U/µl) (سیناژن، ایران) و ۴ میکرولیتر DNA الگو انجام شد. برنامه دمایی و زمانی دستگاه ترمال سایکلر (Biometra, Germany) برای تکثیر ژن‌های *rhlR* و *lasI* در جدول ۲ آورده شده است (لازم به ذکر است که نتایج بلاست سایت NCBI، نشان داده است که پرایمر ژن *rhlR* در دو منطقه ۱۳۳bp و ۷۸۰bp قادر به تشکیل باند است). محصول PCR به مدت ۱ ساعت بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد و سپس با اتیدیوم بروماید (سیناژن، ایران) مشاهده شد.

UNCORRECTED ROOF

جدول ۱- توالی و ویژگی پرایمرهای اختصاصی مورد استفاده جهت شناسایی ژن‌های *rhlR* و *lasI* *پسودوموناس آئروژینوزا*

ژن	توالی (۵′→۳′)	اندازه محصول (bp)	منبع

Sabharwal و همکاران، ۲۰۱۴	۱۳۳	F: TGCATTTTATCGATCAGGGC R: CACTTCCTTTTCCAGGACG	*rhlR*
Aghamollaei و همکاران، ۲۰۱۵	۶۰۰	F: ATGATCGTACAAATTGGTCGG R: GTCATGAAACCGCCAGTC	*lasI*

UNCORRECTED ROOF

جدول ۲– شرایط انجام PCR نمونه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* برای تکثیر ژن‌های مورد آزمایش

مرحله	تعداد چرخه	ژن مورد آزمایش	
		زمان(دقیقه/ ثانیه)	دما(سلسیوس)

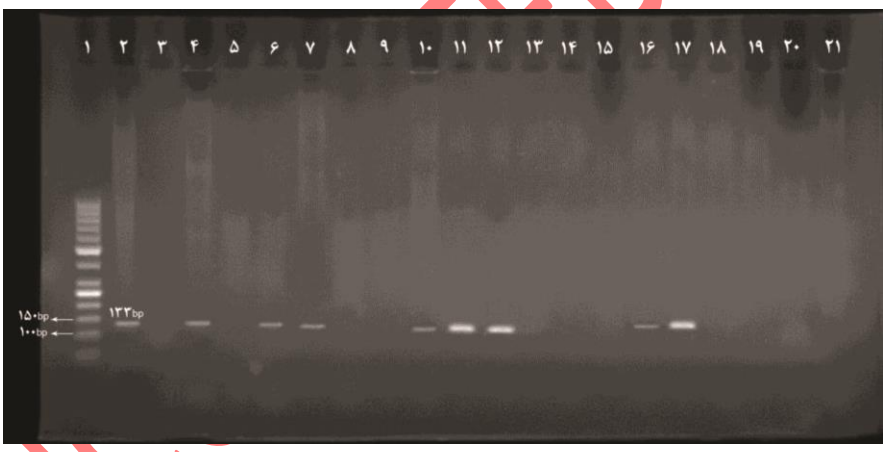
		lasI/rhlR	
واسرشت اولیه	۱	۴′/۴′	۹۴/۹۴
واسرشت شدن	۳۵	۳۰″/۳۰″	۹۴/۹۴
اتصال پرایمرها		۴۵″/۴۵″	۵۹/۵۵
گسترش		۶۰″/۶۰″	۷۲/۷۲
گسترش نهایی	۱	۵′/۵′	۷۲/۷۲

UNCORRECTED ROOF

نتایج

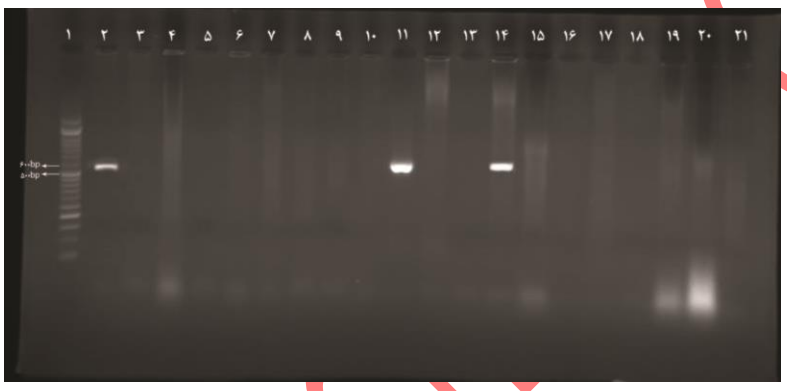
نتایج بدست آمده نشان داد که در میان ۶۰ جدایه *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از موارد ورم پستان گاو، تعداد هشت جدایه (۱۳/۳۳ درصد) دارای ژن *rhlR* می‌باشند (شکل ۱). همچنین از میان ۶۰ جدایه *پسودوموناس آئروژینوزا*، تعداد دو جدایه (۳/۳۳ درصد) دارای ژن *lasI*

بودند (شکل ۲). همچنین دو جدایه (۳/۳۳ درصـد) هـر دو ژن *lasI* و *rhlR* را بطور همزمان داشتند.



شکل ۱- الکتروفورز محصول PCR ژن *rhlR* بر روی آگارز ۱/۵ درصد و لدر 50bp. شماره ۲: کنترل مثبت (*پسودوموناس آئروژینوزا* ATCC 27853)؛ شماره ۳: کنترل منفی (آب دو بار تقطیر)، شماره‌های ۴، ۶، ۷، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۶ و ۱۷: نمونه های مثبت از لحاظ حضور ژن *rhlR*؛ بقیه شماره‌ها: نمونه‌های منفی از لحاظ حضور ژن *rhlR*.

UNCORRECTED ROOF



شکل ۲- الکتروفورز محصول PCR ژن *lasI* بر روی آگارز ۱/۵ درصد و لدر 50bp. شماره ۲: کنترل مثبت (پسودوموناس *آئروژینوزا* ATCC 27853)؛ شماره ۳: کنترل منفی (آب دو بار تقطیر)، شماره‌های ۱۱و ۱۴: نمونه های مثبت از لحاظ حضور ژن *lasI*؛ بقیه شماره‌ها: نمونه‌های منفی از لحاظ حضور ژن *lasI*.

بحث

ورم پستان ناشی از پسودوموناس *آئروژینوزا* با آلودگی ناشی از خاک یا محیط در ارتباط است (Schauer و همکاران، ۲۰۲۱). ورم پستان حاد ناشی از پسودوموناس *آئروژینوزا* معمولاً به عفونت مزمن تبدیل شده و حتی گانگرونوز حاد در ۱۰ درصد موارد ابتلا به ورم پستان گزارش شده است (Carmeli و همکاران، ۱۹۹۹). تحقیقات نشان داده‌اند که تعداد 10^4 باکتری پسودوموناس *آئروژینوزا* در هر میلی‌لیتر باعث ایجاد عفونت‌های چشمی در موش می‌شود. بنابراین تشخیص فوری این باکتری بسیار مهم می‌باشد (Ohman و

UNCORRECTED PROOF

همکاران، ۱۹۸۰). روش PCR از نظر حساسیت و ویژگی یکی از بهترین روش‌های تشخیص سریع باکتری‌ها محسوب می‌شود. در این تحقیق، فراوانی ژن‌های *lasI* و *rhlR* در باکتری‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از موارد ورم پستان گاو بترتیب ۳/۳۳ درصد و ۱۳/۳۳ درصد بود. این تحقیق برای اولین بار در ایران بر روی فراوانی ژن‌های حدنصاب احساس (Quorum Sensing) در باکتری *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از موارد ورم پستان گاو انجام شده است. آقامولایی و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که ۱۰۰ درصد نمونه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از موارد بالینی بیمارستانی در شهر تهران دارای ژن *lasI* بودند. سیاسی و قاضی (۲۰۱۷) نشان دادند که ۴۷/۸۲ درصد از نمونه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از عفونت‌های ادراری بیماران در شهر تهران دارای ژن *rhlR* بودند . امینی بزنجانی و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که فراوانی ژن-های *rhlR* و *lasI* در نمونه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از نمونه‌های گوارشی انسانی در شهر تهران بترتیب پنج درصد و ۶۰ درصد بود. دری و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که فراوانی ژن *rhlR* در نمونه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از بیماران بستری شده در جنوب استان فارس ۹۶ درصد بود. افزایش ظهور پسودوموناس‌های چند مقاومتی با عوامل انتقال دهنده ژنی یا پالستیسیته ژنی و توانایی تشکیل بیوفیلم ارتباط مستقیم دارد و ۱۰ درصد ژنوم *پسودوموناس آئروژینوزا* با سیستم QS کنترل می‌شود (Kiran و همکاران، ۲۰۱۱). تحقیقات نشان داده‌اند که سیستم QS با حساسیت ضد میکروبی ارتباط دارد(Kiran و همکاران، ۲۰۱۱). نقص در سیستم QS سبب کاهش مقاومت در برابر عوامل ضد میکروبی می‌شود، که این می‌تواند دلیلی بر تأثیر سیستم QS روی حساسیت ضد میکروبی باشد (Siasi و Ghazi، ۲۰۱۷; Kiran و همکاران، ۲۰۱۱). مطالعات سیستماتیک روی *پسودوموناس آئروژینوزا* نشان داده‌اند که QS یک شبکه تنظیم‌کننده عمومی است که بیان بیش از ۳۰۰ ژن را توسط القاکننده‌های QS کنترل می‌کند (Smith و Iglewski، ۲۰۰۳). در بسیاری از تحقیقات انجام گرفته جهت شناسایی اختصاصی *پسودوموناس آئروژینوزا* به روش PCR ردیابی ژن‌های بیماریزا و ژن‌های

UNCORRECTED ROOF

کد کننده پروتئین‌های سطحی که عامل تهاجم می‌باشند، مورد توجه قرار گرفته است. زیرا ژن‌های اختصاصی بوده و در شروع و ایجاد بیماری به وسیله این باکتری نقش موثری دارند. با توجه به نکات مذکور و فاکتورهای بیماریزای خارج سلولی ترشح شده بوسیله *پسودوموناس آئروژینوزا* ژن‌های سیستم حدنصاب احساس *las* و *rhl* که در بیماریزایی این باکتری نقش کلیدی و کنترل کننده دارند به عنوان یک کاندید دارای حساسیت و اختصاصیت مطرح هستند (Siasi و Ghazi، ۲۰۱۷). در مطالعه اپیدمیک در سال ۲۰۱۱ در هندوستان تحقیقاتی درباره ژن‌های QS و ژن‌های بیماریزای باکتری *پسودوموناس ائروژینوزا* جدا شده از نمونه‌های عفونت مجاری ادراری انجام شد و نتایج حاکی از توزیع متغیر این ژن‌ها بود که برای شناسایی مارکرهای تشخیصی در نمونه-های کلینیکی این ارگانیسم مفید هستند. با توجه به سرعت بالا و مزایای روش‌های مولکولی در تشخیص *پسودوموناس آئروژینوزا*، PCR راهی مناسب در شناسایی آن می‌باشد که می‌تواند مانع از ایجاد عوارض بیشتر عفونت در بیماران شود (Flores-Mireles و همکاران، ۲۰۱۵). فراوانی ژن‌های *rhlR* و *lasI* در نمونه‌های جدا شده از موارد ورم پستان گاو در این مطالعه نسبت به دیگر مطالعات با منشاء انسانی بسیار کمتر است که نشان دهنده اختلاف در پراکندگی ژن‌های حدت مذکور در بین سویه‌های مختلف *پسودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد که این امر احتمالا" از تفاوت‌های جغرافیایی و نیز اختلاف در منشاء اکولوژیکی سویه‌های جدا شده (مواد غذایی، انسان و دام) ناشی می‌شود. علت تفاوت در میزان فراوانی *پسودوموناس آئروژینوزا* در مطالعات مختلف می‌تواند ناشی از منطقه جغرافیایی مورد مطالعه، نوع سیستم پرورش دام، ضعف مدیریت مزارع، وجود آبهای آلوده یا مخازن آلوده به این باکتری، تفاوت روشهای جداسازی و شناسایی باکتری و احتمال بروز خطا در روشهای شناسایی باشد. بارعایت بهداشت پستان گاو و دست کارگران در حین شیردوشی و مداوای به موقع و مناسب ورم پستان بخصوص در گاوداریهای سنتی، میزان آلودگی بالای پستان گاوها با باکتری *پسودوموناس آئروژینوزا* کاهش خواهد یافت.

نتیجه‌گیری کلی

UNCORRECTED ROOF

مطالعه حاضر نشان داد که فراوانی ژنهـای *lasI* و *rhlR* در باکتریهای *سودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از موارد ورم پستان گاو در شهر مراغه کمتر از نمونه‌های مطالعه شده در تحقیقات قبلی بود که تفاوتهای جغرافیایی و منشاء اکولوژیکی جدایـه-های باکتریـایی مـی‌تواننـد در تغییـر نتـایج تحقیقـات، نقـش بسزایی داشته باشند. علاوه بر آن، جدایه‌هایی که حضور هیچ یک از ژن‌های مورد نظر را نشان ندادند، نیاز به بررسی بیشتر برای حضور سـایر ژن‌هـای حـدت و نقـش احتمـالی آنهـا در عفونت دارند.

سپاسگزاری

از کلیه کسانی که در انجام این تحقیق، مساعدت نمودند کمال تشکر و قدردانی را دارم. کار پژوهشی صورت گرفته، طرح مستقل با مجوز دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه بوده و کلیه هزینه‌های مربوط به انجام این تحقیق، توسط نویسنده مقاله تامین شده است.

تعارض منافع

نویسنده اعلام می‌نماید که در این پژوهش هیچگونه تعارض منافعی ندارد.

منابع

Aghamollaei, H., Moghaddam, M.M., Kooshki, H., Heiat, M., Mirnejad, R., Barzi, N.S. 2015. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* by a triplex polymerase chain reaction assay based on *lasI/R* and *gyrB* genes. Journal of Infection and Public Health. 8(4), 314-322.

Amini Bezanjanii, F., Mahmoudi, R., Amini, K. 2016. The study and identification of Quorum Sensing (QS) genes of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from human

UNCORRECTED ROOF

clinical samples by Multiplex PCR and antibiotic resistance determination. Yafte. 18(2), 38-44. (In Persian)

Bradbury, R.S., Roddam, L.F., Merritt, A., Reid, D.W., Champion, A.C. 2010. Virulence gene distribution in clinical nosocomial and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Medical Microbiology. 59(Pt8), 881–90.

Carmeli, Y., Troillet, N., Karchmer, A.W., Samore, M.H. 1999. Health and economic outcomes of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Archives of Internal Medicine. 159(10), 1127-32.

Chang, Ch. Krishnan, T., Wang, H., Chen, Y., Yin, W.F., Chong, Y.M., et al. 2014. Non antibiotic quorum sensing inhibitors acting against N-acyl homoserine lactone synthase as druggable target. Scientific Reports. 4(4), 7245.

Chowdhury, N., Bagchi, A. 2016. Molecular insight into the activity of LasR protein from *Pseudomonas aeruginosa* in the regulation of virulence gene expression by this organism. Elsevier. 580(1), 80-7.

Daly, M., Power, E., Bjorkroth, J., Sheehan, P., O' Connell, A., Colgan, M., et al. 1999. Molecular analysis of *Pseudomonas aeruginosa*: epidemiological investigation of mastitis outbreaks in Irish dairy herds. Applied and Environmental Microbiology. 65(6), 2723-2729.

Deep, A., Chaudhary, U., Gupta, V. 2011. Quorum sensing and bacterial pathogenicity: from molecules to disease. Journal of laboratory physicians. 3(1), 4-11.

UNCORRECTED ROOF

Dorri, K., Modaresi, F., Shakibaie, M.R., Moazamian, E. 2022. 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. 20(2), 39-47.

Flores-Mireles, A.L., Walker, J.N., Caparon, M., Hultgren, S. 2015. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. Nature Reviews Microbiology. 13(5), 269–84.

Jaffe, R., Lane, J.D., Bates, C.W. 2001. Real-time identification of *Pseudomonas aeruginosa* direct from clinical samples using a rapid extraction method and polymerase chain reaction (PCR). Journal of Clinical Laboratory Analysis. 15(3), 131-7.

Kiran, S., Sharma, P., Harjai, K., Capalash, N. 2011. Enzymatic quorum quenching increases antibiotic susceptibility of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Iran Journal of Microbiology. 3(1), 1–12.

Kong, K.F., Jayawardena, S.R., Indulkar, S.D., Del Puerto, A. 2005. *Pseudomonas aeruginosa* AmpR is a global transcriptional factor that regulates expression of AmpC and PoxB β-lactamases, proteases, quorum sensing, and other virulence factors. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 49(11), 4567-4575.

Kumar, R., Chhibber, S., Gupta, V., Harjai, K. 2011. Screening & profiling of quorum sensing signal molecules in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from catheterized urinary tract infection patients. Indian Journal of Medical Research. 134(2), 208-13.

UNCORRECTED PROOF

Ohman, D.E., Burns, R.P., Iglewski, B.H. 1980. Corneal infections in mice with toxin A and elastase mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Infectious Diseases. 142(4), 547-55.

Rodrigues, Y.C., Furlaneto, I.P., Maciel, A.H.P., Quaresma, A.J.P.G., de Matos, E.C.O., Conceição, M.L., et al. 2020. High prevalence of atypical virulotype and genetically diverse background among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from a referral hospital in the Brazilian Amazon. PLoS One. 15(9), e0238741.

Sabharwal, N., Dhall, S., Chhibber, S., Harjai, K. 2014. Molecular detection of virulence genes as markers in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from urinary tract infections. International Journal of Molecular Epidemiology and Genetics. 5(3), 125–34.

Schauer, B., Wald, R., Urbantke, V., Loncaric, I., Baumgartner, M. 2021. Tracing mastitis pathogens—epidemiological investigations of a *Pseudomonas aeruginosa* mastitis outbreak in an Austrian dairy herd. Animals. 11(2), 1–11.

Schulert, G.S., Fltman, H., Rabin, S.D., Martin, C.G., Battle, S.E., Rollo, J., et al. 2003. Secretion of the toxin ExoU is a marker for highly virulent *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from patients with hospital acquired pneumonia. Journal of Infectious Diseases. 188(1), 1695-706.

Senturk, S., Ulusoy, S., Bosgelmez-Tinaz, G., Yagci, A. 2012. Quorum sensing and virulence of *Pseudomonas aeruginosa* during urinary tract infections. Journal of Infection in Developing Countries. 6(6), 501-7.

UNCORRECTED ROOF

Siasi, E., Ghazi, S.R. 2017. Frequency of *rhlR*, *rhlI* and *lasR* genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from urinary tract infections. Tehran, 2016. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 22(77), 39-49. (In Persian)

Smith, R.S., Iglewski, B.H. 2003. *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing as a potential antimicrobial target. Journal of Clinical Investigation. 112(10), 1460-5.

Winn, W., Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Schreckenberger, P., et al. 2006. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins. New York. 790-798.

UNCORRECTED ROOF

UNCORRECTED ROOF