تنوع کلونی سویه های سودوموناس ائروجینوزا جدا شده از عفونتهای زخم و سوختگی با استفاده از ریبوتایپینگ

محمد مهدی اصلانی[1*] ،غلامحسین ابراهیمی پور[2]، فرشته شاهچراغی[3]، زینب شرفی [4] ، وجیهه سادات نیک بین [5]، مرجان هاشمی پور[6]

۱. PhD میکروبیولوژی, دانشیار بخش میکروبیولوژی انستیتو پاستور ایران
۲. PhD میکروبیولوژی, استادیار دانشکده زیست شناسی دانشگاه شهید بهشتی تهران
۳. PhD میکروبیولوژی, استادیار بخش میکروبیولوژی انستیتو پاستور ایران
۴. کارشناس ارشد زیست شناسی-میکروبیولوژی دانشکده زیست شناسی دانشگاه شهید بهشتی تهران
۵. کارشناس ارشدزیست شناسی- میکروبیولوژی بخش میکروبیولوژی انستیتو پاستور ایران
۶. کارشناس ارشد زیست شناسی- میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

* **نشانی برای مکاتبه:** تهران، خیابان ۱۲ فروردین جنوبی، انستیتو پاستور ایران، بخش میکروبیواوژی، mmaslani@yahoo.com
دریافت مقاله: مرداد هشتاد و نه پذیرش برای چاپ: شهریور هشتاد و نه

چکیده

سابقه و هدف: *به دلیل افزایش تعداد و طیف پاتوژن های بیمارستانی، شناسایی ارتباط ایزوله های میکروبی اهمیت ویژه ای پیدا کرده است. این امر برای بررسی اپیدمیولوژی عفونت های بیمارستانی، منشا و شیوهٔ اکتساب پاتوژن و طراحی روش های موثر برای پیشگیری و درمان عفونت ها ضروری است. مطالعه حاضر با هدف تعیین ارتباط بین سویه های سودوموناس ائروجینوزا جداشده از عفونت های زخم و سوختگی بیمارستان های امام خمینی، توحید و مطهری در طی سالهای ۱۳۷۸ تا ۱۳۸۵ با استفاده از ریبوتایپینگ انجام شد.*

روش کار: *مجموعه ای از ۷۴ ایزوله سودوموناس ائروجینوزا (۴۰ ایزوله زخم و ۳۴ ایزوله سوختگی) از بیمارستان های امام خمینی، توحید و مطهری در طی سال های ۱۳۷۸ تا ۱۳۸۵ به دست آمد. این سویه ها با استفاده از تست های تشخیصی بیوشیمیایی به عنوان سودوموناس ائروجینوزا شناسایی شدند. DNA این سویه ها با روش فنل-کلروفرم استخراج و برای ریبوتایپینگ استفاده شد. ریبوتایپینگ توسط آنزیم محدود کننده SmaI صورت گرفت.*

یافته ها: *هشت الگوی ریبوتایپ مختلف (A-H) به دست آمد. چهل وسه سویه (۵۸/۱٪) دارای الگوی ریبوتایپ A، ۲۳ سویه (۳۱٪) دارای الگوی B، ۳ سویه (۴٪) دارای الگوی C و ۵ سویه (۶/۸٪) دیگر هر کدام دارای یکی از الگوهای D-H بودند.*

نتیجه گیری: *ریبوتایپینگ نشان داد که اکثر سویه ها(۸۹٪) از لحاظ کلونالی به هم مرتبطند و در دو الگوی ریبوتایپ عمده قرار می گیرند. پایداری این سویه های کلونال برای سال های زیاد در این بیمارستان ها موٴید نیاز به اقدامات شدیدتر کنترل عفونت در این مراکز است.*

واژگان کلیدی: ***ریبوتایپینگ، سودوموناس ائروجینوزا، عفونت های زخم و سوختگی.***

مقدمه

سودوموناس ائروجینوزا عمده ترین باکتری گرم منفی عامل عفونت های بیمارستانی است (۱). این باکتری مهم ترین عامل ایجاد عفونت در بیماران سوختگی در ایران است (۲). تقریباً ۷۳٪ موارد مرگ در طی ۵ روز اول پس از سوختگی در این بیماران بطور مستقیم یا غیر مستقیماً به دلیل فرایندهای سپتیک ایجاد شده توسط این باکتری است (۲ و ۳). کنترل این عفونت های بیمارستانی مستلزم برنامه‌های مراقبت و نظارت خاصی است که برای شناسایی سویه‌های اپیدمیک طراحی می‌گردند.

ریبوتایپینگ مشتقی از ساترن بلاتینگ و RFLP (restriction fragment length polymorphism) است. این روش شامل شناسایی تنوع ژنتیکی در ژن های کد کنندهٔ 23S rRNA، 16S rRNA و درمناطق دنباله ای (flanking region) این ژن ها می شود. حفاظت شدگی تکاملی ژن های کد کنندهٔ rRNA باعث می شود که آنالیز هر ژنوم باکتریایی با پروب یکسان (مثلاً پروب مشتق از اشریشیا کلی) امکان پذیر شود، علاوه بر این هتروژن بودن توالی های دنباله ای اساسی برای تنوع الگوهای ریبوتایپ است. این عوامل باعث می شوند که ریبوتایپینگ برای شناسایی گونه های مختلف باکتریایی و تایپینگ پاتوژن های بیمارستانی بکار رود (۴ و ۵).

خطرات ناشی از عفونتهای سودوموناس ائروجینوزا تحقیقات گسترده‌ای را در رابطه با شناسایی و ردیابی سویه‌های اپیدمیک و چگونگی انتشار آنها در مراکز درمانی را می طلبد. بررسی حاضر با هدف تعیین پلی مورفیسم ژنومی و ارتباط اپیدمیولوژیکی سویه های سودوموناس ائروجینوزا جداشده‌از عفونتهای زخم و سوختگی در طی سال های ۱۳۷۸ تا ۱۳۸۵ از سه بیمارستان در تهران انجام شد.

روش کار

در این مطالعه ۷۴ سویه سودوموناس ائروجینوزا جداشده‌از عفونتهای زخم و سوختگی از سه بیمارستان در تهران مورد بررسی قرار گرفتند که شامل ۲۲ سویه جدا شده از عفونتهای سوختگی از بیمارستان مطهری مربوط به سال ۱۳۸۰، ۱۲ سویه جدا شده از عفونتهای سوختگی از بیمارستان توحید مربوط به سال ۱۳۷۸ و ۴۰ سویه جدا شده از عفونتهای زخم از بیمارستان امام خمینی که مربوط به سالهای ۱۳۸۴- ۱۳۸۵ بودند. DNA سویه ها به روش فنل- کلروفرم استخراج شد. ریبوتایپینگ مطابق استانداردهای لازم انجام شد (۶). همه مواد مورد نیاز از شرکت Roche (Roche Diagnostic GmbH, Mannheim, Germany) تهیه شد. هضم DNAتوسط آنزیم های محدود کننده انجام شد. برای سودوموناس ائروجینوزا از آنزیم *Sma*I و برای *Citrobacter koseri* از آنزیم *Mlu*I استفاده گردید (۷). DNA هضم شده در ژل آگارز LE ۰/۷٪ با ولتاژ ۳۰ V/cm الکتروفورز شد. پس از ۲۰- ۱۸ ساعت، ژل برای رنگ آمیزی داخل اتیدیوم بروماید قرار داده شد. قسمت انتهایی ژل (حدوداً ۱۷ cm پایین تر از چاهک ها) برش داده شد سپس ژل دو بار هر بار به مدت ۱۵ دقیقه در آب مقطر دکانتینه شد تا اتیدیوم بروماید آن شسته شود. ۵۰۰ ml محلول دناتوراسیون (NaCl، NaOH) روی ژل ریخته شد تا DNA دو رشته ای را تک رشته ای کند. پس از ۳۰ دقیقه، ژل در آب مقطر قرار داده شد تا عمل دناتوراسیون متوقف شود. کاغذ نایلون ممبرین به اندازهٔ ۱۷ × ۱۵ برش داده و در محلول SSC 2X (Nacitrate ،NaCl) قرار داده شد. سپس نایلون روی دستگاه وکیوم بلاتینگ قرار داده شد. ژل را روی نایلون ممبرین قرار داده و بافر ترانسفر (NaOH ،NaCl) به تدریج روی آن ریخته شد. در اثر مکش ایجاد شده توسط دستگاه وکیوم بلاتینگ، بافر ترانسفر از داخل ژل عبور کرده و با خود DNA تک رشته ای را به نایلون ممبرین انتقال داد. بعد از اتمام بافر ترانسفر، دوباره نایلون در SSC 2X قرار داده شد و سپس در انکوباتور خشک گردید. نایلون ممبرین همراه ۸۰ ml محلول هیبریداسیون (SSC 20X، Blocking reagent، N-lauryl sarcosyl 20% ،SDS 10%) درون دستگاه فور هیبریداسیون در ۶۸ °C به مدت ۱ ساعت شیکر شد. ۲۰ ml محلول هیبریداسیون و ۱۰ µl پروب (جدول ۱)، همراه با نایلون ممبرین در ۵۵ °C به مدت ۱۸ ساعت داخل فور شیکر شد. نایلون ها از بافر هیبریداسیون خارج شدند و چهار بار هر بار به مدت ۵ دقیقه با ۲۰۰ ml بافر A (SDS 25% ،SSC 20X) در انکوباتور شیکر دار در ۵۰ °C شستشو داده شدند. ۳۰ دقیقه شستشو با محلول I Saturation (Tampone، Blocking reagent) روی شیکر در دمای اتاق انجام شد.

۸۰ ml محلول تامپون I (NaCl 3 M ،Tris HCl 1 M) و ۲۰µl از Anti digoxigenin همراه نایلون ها در فور هیبریداسیون به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۰ °C شیکر شد. نایلون ها درون یک ظرف دردار تاریک، دو بار هر بار ۱۵ دقیقه با تامپون I روی شیکر در دمای اتاق شستشو داده شدند. نایلون ها توسط ۱۰۰ ml محلول تامپون II (Tris HCl 1 M ، NaCl 3 M، $MgCl_2$ 1 M) روی شیکر در دمای اتاق به مدت ۵ دقیقه شستشو داده شدند. در ۳ ظرف در دار تاریک به صورت جداگانه ۱۰۰ ml از تامپون II ریخته، سپس در هر ظرف (nitroblue tetrazolium) NBT µl ۴۵۰ و (5-bromo-4-chloro-3-indolylphosphate) BCIP µl ۳۵۰ اضافه کردیم و در انتها هر کاغذ نایلون ممبرین را در یکی از ظروف، در تاریکی به مدت ۲۰ ساعت قرار داده شد. نایلون ها دو بار با آب دیونیزه شستشو داده و سپس در انکوباتور ۳۷ °C خشک شدند.

جدول ۱. پروبهای مورد استفاده در ریبوتایپینگ (۸).

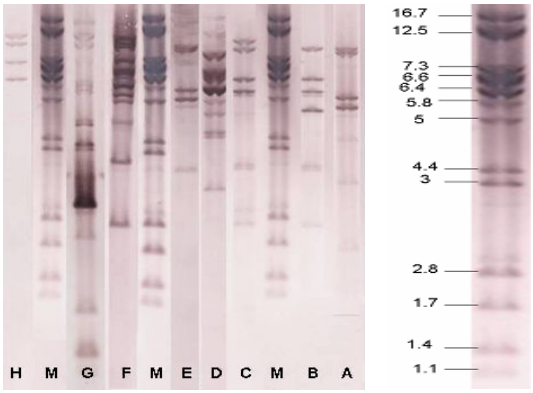
5´DiG-TTT GGC ACC TCG ATG TCG GCT
5´DIG-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG
5´DIG-TGA CGG GCG GTG TGT ACA A
5´DIG-ACC GAT AGI GAA CCA GTA CCG TG
5´DIG-GTA CCI CAA ACC GAC ACA GGT IG

یافته ها

در مجموع ۸ الگوی ریبوتایپ مختلف (A-H) به دست آمد (تصویر ۱). ۴۳ (۵۸/۱٪) سویه دارای الگوی ریبوتایپ A، ۲۳ (۳۱/۰۸٪) سویه دارای الگوی B، ۳ (۴/۰۵٪) سویه دارای الگوی C و ۵ (۶/۷۵٪) سویه دیگر هر کدام دارای یکی از الگوهای D-H بودند (جدول ۲).

جدول ۲. انواع و تعداد الگوهای ریبوتایپ به دست آمده برای سویه های سودوموناس ائروجینوزا بدست آمده از بیمارستان های مختلف.

بیمارستان	الگوهای ریبوتایپ بدست آمده
امام خمینی (n= ۴۰)	(۱F،۱E، ۱D،۳C،۱۸ B،۱۶A)
مطهری (n= ۲۲)	(۱H،۱G،۵B،۱۵A)
توحید (n= ۱۲)	(۱۲A)
مجموع (n= ۷۴)	(۱D،۱F،۱E،۱H،۱G A ،۲۳ B،۳ C) ۴۳



تصویر ۱. انواع الگوهای ریبوتایپ سویه های سودوموناس ائروجینوزا جدا شده از عفونت های زخم و سوختگی. الگوی ریبوتایپ M مربوط به Citrobacter koseri CIP 105177 (Grimont 32) می باشد که به عنوان مارکر انتخاب شد و الگوهای A-H مربوط به سویه های سودوموناس ائروجینوزا هستند. تصویر سمت راست اندازه های باندهای مارکر را نشان می دهد.

بحث

ایزوله های دارای الگوهای ریبوتایپ بسیار شبیه به هم نشان می دهند که دارای یک کلون مشترک هستند. در این مطالعه۵۸/۱٪ از کل سویه های مورد بررسی با ریبوتایپ، مربوط به کلون A و ۳۱/۰۸٪ از آنها مربوط به کلون B بودند. این دو، کلون های غالب این سه بیمارستان بودند و الگوی ریبوتایپ آنها به هم شبیه بود. در این مطالعه ایزوله های سوختگی بیمارستان توحید مربوط به سال ۱۳۷۸، ایزوله های سوختگی بیمارستان مطهری مربوط به سال ۱۳۸۰ و ایزوله های زخم بیمارستان امام خمینی مربوط به سال های ۱۳۸۵-۱۳۸۴بودند. بنابراین کلون A و B به عنوان کلون های غالب به مدت ۷ سال در حال چرخش در این سه بیمارستان بوده اند. الگوهای ریبوتایپ A و B شبیه به هم بودند، ولی سایر الگوها با یکدیگر و با این دو الگو تفاوت زیاد داشتند. وجود سویه های دارای الگوهای ریبوتایپ منحصر به فرد (الگوهای C تا H) در بیماران نشان می دهد که این سویه ها با احتمال زیاد از بدن خود بیمار یا از محیط هایی غیر از بیمارستان کسب شده و باعث عفونت بیمار شده اند (۸).ظهور کلون های اپیدمیک یک چالش جهانی است. تقریباً تمامی سویه های کلونال سودوموناس ائروجینوزا دارای مقاومت چند دارویی هستند و این مقاومت در اثر فشار استفاده از آنتی بیوتیک ها توسط آنها کسب شده است (۸، ۹ و ۱۰). بررسی انجام شده روی این سویه های مورد مطالعه نیز نشان داد که دارای مقاومت آنتی بیوتیکی چنددارویی بالایی هستند (۱۱).

مطالعات اخیر نشان می دهند که سویه های کلونال سودوموناس ائروجینوزا علاوه بر مقاومت آنتی بیوتیکی دارای خصوصیاتی هستند که موجب تسهیل گسترش و یا افزایش ویرولانس آنها می شود. برای مثال Hsueh و همکارانش در سال ۱۹۹۸ در طی یک بررسی بر روی یک کلون اپیدمیک شایع در بخش سوختگی یک بیمارستان در تایوان گزارش دادند که سویه های مربوط به این کلون اپیدمیک نسبت به سویه های غیرکلونال، برای مدت زمان طولانی تری در بدن بیماران باقی می ماندند و موجب عفونت های متعددتر و شدیدتری می شدند. شناسایی منبع اولیه سویه های کلونال سودوموناس ائروجینوزا در اکثر موارد امکان پذیر نیست و این امر به این دلیل است که معمولاً این سویه ها زمانی مورد توجه قرار می گیرند که در محیط بیمارستان گسترش پیدا کرده اند. یکی از روش های کنترل شیوع عفونت این است که اگر یک سویه مقاوم به داروی جدید یا دارای تشدید مقاومت به داروهای معمول برای اولین بار از عفونتی که توسط این باکتری ایجاد شده است جدا سازی شد؛ کشت های گسترده از نمونه های همهٔ نقاط بدن همهٔ بیماران بستری شده در همان بخش و بررسی محیطی برای آن سویه به عمل آید. همچنین احتیاط های مربوط به تفکیک بیماران نیز تشدید شود. این اقدامات برای کنترل اولیه (پیش از وقوع شیوع) عفونت حیاتی اند (۹).

مطالعات مختلف نشان می دهند که ارتباط قوی بین کلون های خاصی از سودوموناس ائروجینوزا با بیماری های عفونی خاص وجود ندارد و تقریباً هر کلونی می تواند موجب ایجاد انواع عفونت شود (۱۲، ۱۳، ۱۴ و ۱۵). مطالعه ریبوتایپینگ سویه های سودوموناس ائروجینوزا جدا شده از عفونت های تنفسی بیمارستان های امام خمینی و مرکز طبی کودکان در تهران نشان داد که ۸۵٪ از آنها دارای الگویی مشابه الگوی A و B مشاهده شده در این مطالعه هستند (۱۶). این امر ثابت می کند که این سویه های کلونال گسترش زیادی داشته و عفونت های متعددی را ایجاد کرده اند.

سودوموناس ائروجینوزا در محیط های مختلف بیمارستان از قبیل حیاط، آشپزخانه، سبزیجات خام، تجهیزات بیمارستانی، کف زمین، سینک، صابون، هوا، گرد وغبار و روی دستان پرسنل بیمارستان جداسازی شده است. این باکتری قادر است در تعداد زیادی از گندزداها و آنتی سپتیک هایی که معمولاً دربیمارستان ها استفاده می شوند، زنده بماند و تکثیر پیدا کند. با اینکه سودوموناس ائروجینوزا به صورت وسیع در بیمارستان وجود دارد، ولی مطالعات مختلف نشان می دهند که انتقال آن بیشتر از طریق تماس گسترده بیمار با اشخاص دارای این ارگانیسم است تا اکتساب از طریق یک مخزن محیطی آلوده. این امر به خصوص در مورد بیماران دچار سوختگی بیشتر صادق است (۸ و ۱۷). در بیماران سوختگی از بین رفتن پوست به عنوان مهم ترین سد دفاعی بدن در برابر میکروارگانیسم ها باعث می شود که زخم سوختگی محیط مناسبی برای رشد باکتری ها باشد. علاوه بر این سرکوب سیستم ایمنی بدن در بیماران سوختگی آنها را به عفونت با سودوموناس ائروجینوزا حساس تر می کند. بیماران سوختگی مدت زمان زیادی در بیمارستان بستری هستند و این امر انتقال سویه های باکتری مقاوم را از بیماری به بیمار دیگر یا از پرسنل پزشکی به بیمار افزایش می دهد که منجر به گسترش سویه های کلونال در بیمارستان می شود (۱۸).

در مطالعه ای که توسط Romling و همکارانش در سال ۱۹۹۴در آلمان انجام شد، با استفاده از PFGE (pulsed- field gel electrophoresis) نشان دادند که یک کلون مشترک سودوموناس ائروجینوزا در ۱۳ تا از ۴۶ بیمار سیستیک فیبروزیس در یک کلینیک، در ۲ تا از ۲۹ ایزوله محیطی از همان کلینیک، در ۱ ایزوله عفونت گوش در بیمارستانی دیگر و در ۸ تا از ۳۸ ایزولهٔ جدا شده از رودخانه ای که ۳۰۰ کیلومتر از کلینیک فاصله داشت، وجود دارد. این مطالعه نشان می دهد که سویه های کلونال در محیط های مختلف و دور از هم و از نظر زمانی نیز متفاوت از هم قابلیت انتقال و پایداری دارند (۱۴). در این مطالعه سویه های مورد بررسی از دو نمونهٔ کلینیکی مختلف ، از بیماران مختلف، در بیمارستان های متفاوت و در طی سالیان متفاوت جدا شده اند، ولی اکثریت آنها مربوط به کلون های غالب A و B بودند. این امر ثابت می کند که اقدامات کنترل عفونت در این بیمارستان ها به خوبی صورت نگرفته است، در نتیجه انتقال این سویه ها از بیماری به بیمار دیگر و از بیمارستانی به بیمارستان دیگر از طریق بیماران یا کارکنان به راحتی صورت گرفته است. برای جلوگیری از انتشار این سویه ها به بیمارستان های دیگر باید تردد غیرضروری پرسنل بیمارستانی و ملاقات کننده ها پیرامون بیماران به خصوص بیماران سوختگی به حداقل برسد. اتاق بیماران از هم جدا باشد و هوای آنها به هم راه نداشته باشد. سعی شود همهٔ تجهیزات مورد نیاز بیماران از قبیل تهویه و اتاق عمل در همان بخش باشد، یا حداقل بخش عفونی یا سوختگی به گونه ای طراحی شوند که نیاز به انتقال بیماران به خارج از بخش به حداقل کاهش یابد. پرسنل پزشکی قبل از ورود به اتاق بیمار دستکش بپوشند. مواد آنتی میکروبی و درمانی و محلول های مورد استفاده در بیمارستان باید عاری از سودوموناس ائروجینوزا باشند. هنگامی که از کرم ها و داروها برای درمان چندین بیمار به صورت همزمان استفاده می شود باید دقت شود که در طی استفاده از یک بیمار به بیمار دیگر آلوده نشوند. سعی شود دستگاه های چک کننده و تشخیصی در اتاق هر بیمار باشد تا از انتقال آلودگی بین بیماران جلوگیری شود. همهٔ تجهیزات موجود در اتاق هر بیمار به طور مرتب با گند زداهای مناسب پاک شوند. پرستاران و دیگر پرسنل پزشکی به گونه ای توزیع شوند که مسئول مراقبت از گروهی از بیماران باشند و جابجایی پرسنل اختصاص داده شده بین بیماران دیگر به شدت محدود شود. بیماران سوختگی که دورهٔ نقاهت را به سر می برند از آنهایی که دارای سوختگی حاد هستند جدا نگه داشته شوند، زیرا این بیماران طی بستری طولانی در بیمارستان ارگانیسم های بیمارستانی متعدد مقاوم به آنتی بیوتیک را کسب کرده اند. بیماران به طور مداوم برای ارگانیسم های مقاوم به آنتی بیوتیک غربال شوند. بیمارانی که در طول اقامت طولانی مدت در بیمارستان یک ارگانیسم مقاوم به آنتی بیوتیک را کسب کرده اند از دیگر بیماران جدا نگه داشته شوند. انواع دیگر عفونت های بیمارستانی در بیماران سوختگی مانند عفونت های مرتبط با سوند، عفونت های دستگاه ادراری و تنفسی کنترل شوند. استفاده از آنتی بیوتیک ها باید به صورت چرخشی باشد یا بر اساس بررسی روش های مقاومت آنتی بیوتیکی تغییر یابد. اپیدمی های عفونت توسط یک کلون خاص ممکن است در ابتدا در بیماران خاصی در طول ماه ها یا سال ها به صورت عفونت های تک گیر دیده شده باشند به همین دلیل باید همهٔ ایزوله های مرتبط کلینیکی توسط روش های تایپینگ مناسب انگشت نگاری شوند تا سویه های اپیدمیک شناسایی شوند (۱۷ و ۱۸).

REFERENCES

1. Deldon, C. V., & Iglewski B. H. Cell-to-cell signaling and Pseudomonas aeruginosa infections. Emerg Infect Dis; 1998; 4:551-560.

2. Ekrami A, Kalantar E. Bacterial infections in burn patients at a butn hospital in Iran. Indian J Med Res; 2007; 126:541-544.

3. Pirnay JP, De Vos D, Duinslaeger L, Reper P, et al. Quantitation of Pseudomonas aeruginosa biopsy samples: from bacterial culture by rapid real- time polymerase chain reaction. Critical Care; 2000; 4: 255-262.

4. Bingen EH, Denamur E, Elison J. Use of ribotyping in epidemiological surveillance of nosocomial outbreaks. Clin Microbiol Rev; 1994; 7:311-327.

5. Singh A, Goering R, Simjee S, Foley SL, Zervos MJ. Application of molecular techniques to the study of hospital infection. Clin Microbiol Rev; 2006; 19:512-530.

6. Regnault B, Grimont F, Grimont PAD. Universal ribotyping method using a chemically Lbelled oligonucleotide probe mixture. Res Microbiol; 1997; 148:649-659.

7. Wiedmann M, Weilmeier D, Dineen SS, Ralyea R, Boor KJ. Molecular and phenotypic characterization of Pseudomonas spp. isolated from milk. Appl Environ Microbiol; 2000; 66: 2085-2095.

8. Pirnay JP, De Vos D, Cochez C, Bilocq F, Pirson J, Struelens M, Duinslaeger L, Cornelis P, Zizi M, Vanderkelen A. Molecular epidemiology of Pseudomonas aeruginosa colonization in a burn unit: persistence of a multidrug-resistant clone and a silver sulfadiazine-resistant clone. J Clin Microbiol; 2003; 41:1192-1202.

9. Hsueh PR, Teng LJ, Yang PC, Chen YC, Ho SW, Luh KT. Persistence of a multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa clone in a intensive care unit. J Clin Microbiol; 1998; 36:1347-1351.

10. Sarwari A, Hasan R, Lim C, NG Y, NG CC, Zaman S. PCR identification and automated ribotyping of Pseudomonas aeruginosa clinical isolates from intensive care patients. Scand J Infect Dis; 2004; 36:342-349.

11. Shahcheraghi F, Nikbin VS, Feizabadi MM. Prevalence of ESBLs genes among multidrug-resistant isolates of Pseudomonas aeruginosa isolated from patients in Tehran. Microb Drug Resist. 2009; 15:37-9.

12. Pirnay JP, De Vos D, Cochez C, Bilocq F, Vanderkelen A, Zizi M, Ghysels B, Cornelis P. Pseudomonas aeruginosa displays and epidemic population structure. Environ Microbiol; 2002; 4:898-911.

13. Rahme LG, Stevens EJ, Wolfort SF, Shao J, Tompkins RG, Ausubel FM. Common virulence factors for bacterial pathogenicity in plants and animals. Science; 1995; 268:1899-1902.

14. Romling U, Wingender J, Muller H, Tummler B. A major Pseudomonas aeruginosa clone common to patients and aquatic habitats. Appl Environ Microbiol; 1994; 60:1734-1738.

15. Ruimy R, Genauzeau E, Barnabe C, Beaulieu A, Tibayrenc M, Andremont A. Genetic diversity of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from ventilated patients with nosocomial pneumonia, cancer patients with bacteremia, and environmental water. Infect Immun; 2001; 69:584-588.

۱۶. هاشمی پور مرجان. تعیین فاکتورهای ویرولانس سودوموناس ائروجینوزا جدا شده از عفونت های تنفسی. پایان نامه کارشناسی ارشد زیست شناسی- میکروبیولوژی. تهران: دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، ۱۳۸۷.

17. Greenwood D, Slack RCB, Peutherer JF. Medical Microbiology. 16 th ed. Churchill Livingstone press. 2003; Part3, pp: 282-285.

18. Church D, Elsayed S, Reid O, Winston B, Lindsay R. Burn wound infections. Clin Microbiol Rev; 2006; 19: 403-434.