بسم الله الرحمن الرحيم

تأییدیه اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع

بعد از دفاع از حوزه پژوهشی دانشکده دریافت و بعد اسکن نمایید.

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **سبحان فائزی** دانشجوی رشته **باکتری شناسی پزشکی** ورودی سال تحصیلی **۸۷-۸۶** مقطع **کارشناسی ارشد** دانشکده **علوم پزشکی** متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم ».

امضا

تاریخ

آئین‌نامه پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمی پژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱ : در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به‌طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ : در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

" کتاب حاضر، حاصل **پایان‌نامه کارشناسی ارشد** نگارنده در رشته **باکتری شناسی پزشکی** است که در سال تحصیلی **۹۰-۸۹** در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **دکتر مرتضی ستاری** و مشاوره **دکتر مهریار حبیبی رودکنار** از آن دفاع شده است.

ماده ۳ : به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ : در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به‌عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵ : دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت‌های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶ : اینجانب **سبحان فائزی** دانشجوی رشته **باکتری شناسی پزشکی** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی

تاریخ و امضا

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

پایان‌نامه

دوره کارشناسی ارشد در رشته باکتری شناسی

عنوان

بررسی اثرات محافظت کننده فلاژلین نوترکیب سودوموناس آئروژینوزا در مدل موش سوخته

نگارش
سبحان فائزی

استاد راهنما
دکتر مرتضی ستاری

استاد مشاور
دکتر مهریار حبیبی رودکنار

تیرماه ۱۳۸۹

تقدیم به :

تقدیم به پیشگاه حضرت ولی عصر (عج)،

امام شهدا و شهدای جنگ تحمیلی به خصوص

حاج محمد ابراهیم همّت

تقدیم به دو باغبان باغ زندگیم،

آنها که موهای خود را سفید کردند تا من سپیدرو باشم و عزت نفس یابم

تقدیم به دستان پینه بسته پدر و چشمان همیشه در انتظار مادر

تشکر و قدردانی

«الحمد لله الّذی هدانا لهذا و ما کنّا لنهتدی لو لا أن هدانا الله»
حمد و سپاس خدای را که قرآن را هدایتگر راه انسانیت قرار داد و به ما توفیق بودن در خدمت قـرآن را.
بر خود لازم می دانم از تمامی عزیزانی که در به ثمر رسیدن این پایان نامه مرا یاری نمودند، تشـکر و قدردانی نمایم، به ویژه استاد راهنما جناب آقای دکتر مرتضی ستاری کـه در بـه انجـام رسـیدن ایـن تحقیق بسیار تلاش نمودند، و نیز استاد مشاور جناب آقای دکتر مهریار حبیبـی رودکنـار کـه افتخـار شاگردی ایشان را طی دوران تحصیل داشتم صمیمانه تشکر و قدردانی می کنم.

همچنین از خانواده ام که همواره در طول دوران تحصیل مشوق من بوده، و با زحمات خـود زمینـه را برای تحصیل من فراهم کرده اند تشکر می کنم.

از تمامی اساتید دیگری که در این گروه در حضورشان تلّمذ نمودم به خصوص خانم دکتر مبارز، خانم دکتر پیرایه، جناب آقای دکتر بهزادیان نژاد و خانم دکتر بخشی کمال تشکر را دارم.

از تمامی دوستانی که در مدت تحصیل در این دانشگاه از وجود مبارکشان کسب فیض کردم همچون آقایان منتجب نیت، دکتر مهدوی، دکتر حقیقی، دکتر آل بویه، دکتر گودرزی، دکتر دانشمندی، دکتر خرم آبادی، دکتر اسماعیلی، دکتر ضیغمی، دکتر علی صفری، مهدی یحیی زاده و خانم مریم صـفرلو سپاسگزارم و برای آنها از خداوند منّان موفقیّت و طول عمر با عزت آرزومندم.

بر خود وظیفه می دانم از دوستان هم ورودی که یادشان مایه تسلی خاطر و یـادآور روزهـای خـاطره انگیز دوران تحصیل است، سرکار خانم رشیدان و آقایان فرهادیان، وزیری و طالبی نیز تشکر بی شائبه ای داشته باشم و برای آنها از خداوند سبحان توفیق روز افزون و خوشبختی آرزو می کنم.

چکیده

سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن باکتریایی است که در همه جا حضور داشته و می تواند به طور مرموزانه در اطراف ما زندگی کند. این باکتری معمول ترین پاتوژن جدا شده از عفونت های زخم سوختگی می باشد. مدتهاست که فلاژل به عنوان یکی از فاکتورهای موثر در ایمنی ناشی از عفونت های سودوموناس آئروژینوزا شناخته شده است. باکتری های بیماری زا فلاژل را با چندین هدف تولید می کنند که شامل افزایش کارایی در جذب مواد غذایی، فرار از مواد سمی، پاسخ ایمنی با واسطه TLR5 و.... فلاژلین زیر واحد اصلی فیلامنت فلاژل می باشد. هدف این مطالعه توسعه یک استراتژی واکسیناسیون بود که پاسخ حفاظتی بر علیه فلاژلین نوترکیب سودوموناس آئروژینوزا را افزایش دهد. فلاژلین نوترکیب در *E.coli* BL-21(DE3) pLysS به شکل انکلوژن بادی بیان گردید. انکلوژن بادی¬ها در گوانیدیوم لیز بافر حل و با استفاده از رزین نیکل تخلیص و فولدینگ مجدد پیدا کردند. برای بررسی اثرات حفاظتی، ۱۰µg فلاژلین نوترکیب در همراهی و یا بدون ادجوانت آلوم در گروه های متفاوت تزریق شد. واکسیناسیون یادآور در دوره های دو هفته ای و خونگیری در هفته پس از هر تزریق انجام شد. آزمون الایزا برای تعیین تیتر های سرم استفاده شد. برای بررسی نوع پاسخ ایمنی القاء شده، آزمون ایزوتایپ آنتی بادی برای سرم ها انجام گرفت و نهایتا برای بررسی فعالیت عملکردی آنتی بادی، آزمون اوپسونوفاگوسیتوز برای سرم ها در رقت های متفاوت انجام شد. فلاژلین نوترکیب در۸۳/۳٪ موارد باعث حفاظت موشها در مدل موش سوخته شد و همچنین پاسخ ایمنی همورال بالایی (سطوح بالای IgG1 سرمی) ایجاد نمود. IgG ضد فلاژلین به طور معنی داری فاگوسیتوز باکتری را افزایش داد و تعداد باکتری های زنده در مقایسه با گروه کنترل بیش از ۵۳/۱٪ کاهش یافت. نتایج این مطالعه نشان داد که ایمنی زایی فعال با فلاژلین نوترکیب، با افزایش فاگوسیتوز باکتری ها، میزان مرگ و میر موش ها را کاهش و موشهای سوخته را در برابر چالش کشنده سودوموناس آئروژینوزا محافظت خواهد نمود.

کلمات کلیدی: سودوموناس آئروژینوزا، فلاژلین نوترکیب، اوپسونوفاگوسیتوز، موش، سوختگی

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده ۱

۱-۱. سودوموناس آئروژینوزا ۲

۱-۱-۱. توصیفات اولیه ۲

۱-۱-۲. ویژگی های کشت ۳

۱-۱-۲-۱. پیگمان ها ۳

۱-۱-۲-۲. اشکال کلونی و بیوشیمی ۳

۱-۱-۲-۳. عفونت تجربی ۴

۱-۱-۳. اپیدمیولوژی ۵

۱-۱-۴. فاکتورهای مرتبط با بیماری زایی ۷

۱-۱-۴-۱. ادهزین ها ۷

۱-۱-۴-۲. لیپوپلی ساکارید ۸

۱-۱-۴-۳. آنزیم ها ۹

۱-۱-۴-۴. توکسین ها ۹

۱-۱-۴-۵. پلی ساکارید خارج سلولی ۹

۱-۱-۴-۶. سیدروفورها ۱۰

۱-۱-۴-۷. پیگمان های فنازینی ۱۰

۱-۱-۴-۸. کوئروم سنسینگ ۱۱

۱-۱-۴-۹. فلاژل ۱۱

۱-۱-۵. دفاع میزبان ۱۱

۱-۱-۶. مروری بر عفونت های ایجاد شده توسط سودوموناس آئروژینوزا ۱۳

۱-۲. فلاژل و فلاژلین ۱۴
۱-۲-۱. ساختمان فلاژل ۱۶
۱-۲-۲. سرهم شدن فلاژل در سودوموناس آئروینوزا ۱۹
۱-۲-۳. تفاو ت های ساختاری آنتی ژن های فلاژلی سودوموناس آئروژینوزا ۱۹
۱-۲-۴. نقش فلاژل در بیماری زایی عفونت های سودوموناس آئروژینوزا ۲۲
۱-۲-۵. فلاژلین و نقش آن در تحریک ایمنی ذاتی ۲۵
۱-۲-۶. فلاژلین و نقش آن در تحریک ایمنی هومورال ۲۷
۱-۲-۷. عملکرد پیش التهابی فلاژلین در in vivo ۲۹
۱-۳. ضرورت و فرضیات این تحقیق ۳۰
۱-۴. مطالعات انجام شده بر روی فلاژل و فلاژلین ۳۲
۱-۵. نتیجه ۳۷

فصل دوم: مواد و روشها ۳۹
۲-۱. بافرها و محلول ها ۴۰
۲-۱-۱. بافر TAE 50X ۴۰
۲-۱-۲. استوک آکریل آمید ۴۰
۲-۱-۳. بافر ژل پائین ۴۰
۲-۱-۴. بافر ژل بالا ۴۰
۲-۱-۵. بافر الکترود ۴۰
۲-۱-۶. بافر نمونه (Loading Buffer) (5X) ۴۱
۲-۱-۷. بافر انتقال (وسترن بلات) ۴۱
۲-۱-۸. بافر PBS -T ۴۱

۲-۱-۹. بافر TBS (10X) ۴۱
۲-۱-۹-۱. بافر TBS-T ۴۱
۲-۱-۱۰. بافر شستشوی IB ۴۲
۲-۱-۱۱. بافر لیز گوانیدیوم ۴۲
۲-۱-۱۲. محلول D.B.B ۴۲
۲-۱-۱۳. محلول D.W.B ۴۲
۲-۱-۱۴. محلول N.W.B ۴۲
۲-۱-۱۵. محلول N.E.B ۴۲
۲-۲. روش ها ۴۳
۲-۲-۱. تهیه و تعیین هویت سویه های سودوموناس آئروژینوزا ۴۳
۲-۲-۲. تولید و تخلیص پروتئین نوترکیب فلاژلین ۴۳
۲-۲-۲-۱. تأیید حضور ژن *fliC* در وکتور pET-28a ۴۳
۲-۲-۲-۲. تکثیر ژن *fliC* با آنزیم Taq DNA polymerase ۴۳
۲-۲-۲-۳. تهیه سلول مستعد از باکتری ´Top10F ۴۴
۲-۲-۲-۴. ترانسفورماسیون به روش شوک حرارتی ۴۵
۲-۲-۲-۵. غربالگری کلون‌های حاوی وکتور نوترکیب (pET-28a/*fliC*) ۴۶
۲-۲-۲-۶. ترانسفورماسیون وکتور نوترکیب در میزبان بیانی ۴۷
۲-۲-۲-۷. القاء بیان ژن *fliC* ۴۷
۲-۲-۲-۸. ارزیابی و تأیید پلازمید نوترکیب به روش SDS-PAGE ۴۷
۲-۲-۲-۹. استخراج انکلوژن بادی‌ها (IB) ۴۸
۲-۲-۲-۱۰. محلول‌سازی و تخلیص پروتئین های نوترکیب ۴۹
۲-۲-۲-۱۱. دیالیز ۵۰

۲-۲-۲-۱۲. پلی اکریل آمید ژل الکتروفورز(SDS-PAGE) ۵۱
۲-۲-۲-۱۳. سنجش پروتئین به روش برادفورد ۵۲
۲-۲-۲-۱۴. تهیه آنتی سرم‌های پلی کلونال علیه فلاژلین نوترکیب ۵۳
۲-۲-۲-۱۵. آزمون ایمونوبلات (وسترن بلات) ۵۳
۲-۲-۳. ایمونیزاسیون فعال ۵۴
۲-۲-۴. مدل موش سوخته ۵۵
۲-۲-۵. چالش حیوانات ایمن ۵۶
۲-۲-۶. تجزیه و تحلیل پاسخ آنتی بادی ۵۶
۲-۲-۶-۱. آزمایش الایزا (IgG توتال) ۵۶
۲-۲-۶-۱-۱. سنجش سطح IgG سرمی ۵۷
۲-۲-۶-۲. آزمایش تعیین ایزوتایپ IgG ۵۸
۲-۲-۷. آزمون اپسونوفاگوسیتوز با ماکروفاژهای موش ۵۸
۲-۲-۸. آنالیز آماری داده ها ۶۰

فصل سوم: نتایج و یافته ها ۶۱
۳-۱. تعیین هویت سویه مورد آزمایش ۶۲
۳-۲. اثبات حضور ژن *fliC* در وکتور نوترکیب pET-28a/*fliC* ۶۲
۳-۲-۱. تایید به روش PCR ۶۲
۳-۳. فلاژلین ۶۳
۳-۳-۱. بیان و تخلیص فلاژلین نوترکیب در *E.coli* ۶۳
۳-۳-۲. آزمایش وسترن بلات ۶۵
۳-۴. سنجش عیار IgG در سرم موش های ایمن ۶۵

۳-۴-۱. پاسخ آنتی بادی(توتالIgG) علیه فلاژلین ۶۶
۳-۴-۲. تعیین ایزوتایپ آنتی بادی ۶۷
۳-۵. ارزیابی فعالیت اپسونیک سرم های ایمن ۶۹
۳-۶. ایمنی زایی فعال ۷۰

فصل چهارم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادها ۷۲
۴-۱. بیان فلاژلین نوترکیب در *E.coli* ۷۴
۴-۲. تخلیص و فولدینگ مجدد فلاژلین نوترکیب ۷۵
۴-۳. ارزیابی خواص بیولوژیک فلاژلین نوترکیب ۷۷
۴-۴. ارزیابی سطوح سرمی آنتی بادی ضد فلاژلین نوترکیب ۷۸
۴-۵. ارزیابی مرگ اپسونیک درگروه های ایمن ۷۹
۴-۶. حفاظت موش های ایمن در چالشی مرگ آور ۷۹
۴-۷. نتیجه گیری ۸۰
۴-۸. پیشنهادات ۸۱

فهرست منابع ۸۳
چکیده انگلیسی ۹۰

فهرست جداول

جدول ۳-۱. میانگین و انحراف استاندارد جذب نوری (۴۵۰nm) سرم حیوانات ایمن در مرحله واکسیناسیون اولیه و بوستر..... ۶۶

جدول ۳-۲. مقایسه‌ی درصد بقای موش های CF1 در گروه های ایمن و غیر ایمن پس از مواجه با دوز کشنده سودوموناس آئروژینوزا ۷۱

فهرست شکل ها

شکل ۱-۱. ساختار و عملکرد فلاژل..... ۱۶
شکل ۱-۲. ساختار و سازماندهی فلاژل و فلاژلین..... ۱۸
شکل ۱-۳. زیرواحد فلاژلین..... ۲۰
شکل ۱-۴. نقش بیماری زایی فلاژل باکتری در مخاط..... ۲۳
شکل ۱-۵ . اتصال فلاژلین به TLR5 و مسیر های انتقال سیگنال..... ۲۷
شکل ۱-۶. ایجاد ایمنی اکتسابی توسط فلاژلین..... ۲۸
شکل ۳-۱ . کلونی های سودوموناس آئروژینوزا بر روی محیط مک کانکی آگار..... ۶۲
شکل ۳-۲. حضور ژن *fliC* در دو سویه بالینی تهیه شده از بیمارستان سوانح سوختگی و همچنین حضور ژن *fliC* در وکتور نوترکیب pET-28a/*fliC* ۶۳
شکل ۳-۳. ارزیابی بیان فلاژلین نوترکیب در میزبان بیانی *E.coli*, BL-21 بر روی SDS-PAGE ۶۴
شکل ۳-۴. وسترن بلات فلاژلین نوترکیب با آنتی سرم ضد فلاژلین طبیعی..... ۶۵
شکل ۳-۵. مقایسه سطح سرمی IgG توتال ضد فلاژلین نوترکیب در گروه های مختلف..... ۶۷
شکل ۳-۶. آنالیز سطوح سرمی ایزوتیپ IgG در قبل و بعد از چالش موشها..... ۶۸
شکل ۳-۷. فعالیت اوپسونوفاگوسیتوزی رقت های متفاوت IgG ضد فلاژلین نوترکیب..... ۷۰

فصل اول

مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده

۱-۱. سودوموناس آئروژینوزا[1]

۱-۱-۱. توصیفات اولیه

در سال ۱۸۵۰، سدیلوت[2]، جراح ارتش فرانسه، تشکیل یکسری چرک های آبی رنگ را در زخم سربازان آسیب دیده مشاهده کرد. در سال ۱۸۸۲، گسارد[3] ارگانیسم مسئول پیگمانتاسیون را توصیف کرد که آن را باسیلوس پایوسیانوس[4] نامید. در سال ۱۹۹۰، میگولا[5] جنس سودوموناس را انتخاب نمود و آن را گونه سودوموناس پایوسیانا[6] نامید. صفت آئروژینوزا امروزه برای جنس سودوموناس استفاده می شود که در لاتین به معنی "پر از رنگ مسی[7]" می باشد [۱].

سودوموناس آئروژینوزا در همه جا خصوصا در خاک، مواد آلی در حال فساد، گیاهان و آب یافت می شود. متاسفانه این ارگانیسم در محیط بیمارستانی، در مخازن مرطوب همچون غذا، گل‌های چیده شده، ظرفشویی، تجهیزات درمانی سیستم تنفسی و دیالیز و حتی محلول های ضد عفونی وجود دارد. افراد ناقل، ارگانیسم را به عنوان قسمتی از فلور میکروبی طبیعی داشته و این حالت به جز در موارد بیماران بستری در بیمارستان و افراد دارای نقص سیستم ایمنی شایع نمی باشد. این ارگانیسم قادر

[1] *Pseudomonas aeruginosa*
[2] Sedillot
[3] Gessard
[4] *Bacillus pyocyaneus*
[5] Migula
[6] *Pseudomonas pyocyanea*
[7] Full of copper rust

است از بسیاری از مواد آلی به عنوان منابع کربن و نیتروژن استفاده کند و برخی از سویه های آن می توانند با استفاده از مواد مغذی کمیاب حتی در آب مقطر رشد کنند.

۱-۱-۲. ویژگی های کشت

۱-۱-۲-۱. پیگمان ها

سودوموناس آئروژینوزا به خوبی بر روی محیط کشت های باکتریولوژیک رشد می کند. بیشتر سویه ها قادرند پیگمان فنازین آبی پایوسیانین[۱] و فلوئورسئین[۲] (زرد) را تولید کنند که از ادغام آنها یک رنگ سبز-آبی در محیط کشت ایجاد می شود. تولید پایوسیانین با رشد باکتری بر روی محیط کشت King A که حاوی نمکهای پتاسیم و منیزیم جهت مهار تولید فلئورسئین می باشد، ممکن می شود. تولید پیگمان پایووردین[۳] در محیط King B که حاوی مقادیر کمتری از نمکهای فوق است، افزایش می یابد. دو پیگمان غیر معمول این باکتری پایوروبین و پایوملانین می باشد که در بهترین حالت در محیط تیروزین آگار مشخص می شود [۱].

۱-۱-۲-۲. اشکال کلونی و بیوشیمی

بر روی محیط آگار در ۳۷ درجه، بیشتر ایزوله ها ایجاد کلونی های منتشر و مسطح با لبه های نا منظم (تیپ ۱) و برخی هم ایجاد کلونی های کلی فرم (تیپ ۲) می کنند. سایر انواع کلونی نادر می باشند که شامل کلونی های خشک پپر-کورن[۴] (تیپ ۳)، موکوئید (تیپ ۴)، چین دار(تیپ ۵) و کلونی کلونی های کوتوله که مشخصه تیپ ۶ می باشد [۱].

[1] Pyocyanin
[2] Fluorescein
[3] Pyoverdine
[4] Pepper-corn

سودوموناس آئروژینوزا دارای تک فلاژل قطبی می باشد که برای تحرک لازم می باشد در ضمن اکسیژن مولکولی نقش مهمی در تحرک ایفا می کند. تنها در حضور نیترات و آرژینین به عنوان گیرنده نهایی الکترون، باکتری رشد بی هوازی خواهد داشت. این باکتری در طیف وسیع دمایی ۴۴-۱۰ درجه سانتی گراد رشد می کند اما بهترین دمای رشد ۳۵ درجه می باشد. برخلاف سودوموناس پوتیدا[1] و سودوموناس فلئورسنس[2] که در دمای ۴ درجه رشد می کنند، این باکتری قادر به رشد در این دما نیست. سودوموناس آئروژینوزا قادر است گلوکز و سایر قند ها را در مسیر اکسیداتیو متابولیزه کند. تمامی سویه ها تولید سیتوکروم اکسیداز می کنند که با تست اکسیداز با معرف کوواک قابل ردیابی است. احیاء نیترات به گاز نیتروژن و تشکیل آمونیوم از آرژینین از دیگر مشخصات این باکتری می باشد [۱].

۱-۱-۲-۳. عفونت تجربی

سودوموناس آئروژینوزا به طور معمول در افراد انسانی، اگر به تعداد نسبتاً زیادی وارد مناطق استریل بدن شود، بیماریزا خواهد بود. مقادیر LD50 آن در موش $۱۰^{۵}$ تا $۱۰^{۸}$ می‌باشد. اکثر سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا در موشهای دچار سوختگی با LD50 معادل CFUs $۱۰^{۳}$ - $۱۰^{۲}$ به روش تزریق زیر جلدی در ناحیه سوختگی، مرگ آور می‌باشند، ولی در صورتیکه محل تزریق از ناحیه سوختگی فاصله داشته باشد، به دوزهای بیشتری نیاز می‌باشد. مدل خوکچه هندی از عفونت ریوی حاد در سال ۱۹۷۹ توسط پنینگتون[3] شرح داده شد. او به کمک عمل جراحی سودوموناس آئروژینوزا را کم کم به داخل تراشه حیوان، در حالت بیهوشی تزریق نمود که به این ترتیب باعث ایجاد پنومونی هموراژیک دو طرفه در حیوان شود. انتقال ذرات جامد آگار حاوی CFUs $۱۰^{۴}$ از باکتری سودوموناس آئروژینوزا به داخل تراشه خرگوش منجر به ایجاد عفونت ریوی مزمن می‌گردد، بطوریکه تعداد باکتری‌های به

[1] *Pseudomonas putida*
[2] *Pseudomonas fluorescens*
[3] Pennington

دست آمده از بافت ریه حیوان تا 10^6 CFUs/g رسیده، که برای چند هفته پایدار باقی می‌ماند. تغییرات هیستولوژیک مشاهده شده در ریه حیوان مشابه تغییرات دیده شده در عفونت‌های انسانی است.

از این مدل حیوانی تا حد زیادی جهت مطالعه میانکنش فاکتورهای ویرولانس باکتری و مکانیسم‌های دفاع میزبانی و همچنین ارزیابی کارایی واکسن بطور تجربی استفاده شده است. به نظر می‌رسد موشهای نوزاد مدل مشابهی جهت مطالعه پاسخهای میزبانی و اکتسابی نسبت به سودوموناس آئروژینوزا باشند. بروز چندین فاکتور ویرولانس جهت ایجاد پنومونی در موشهای نوزاد ضروری می‌باشد. نوتروپنی به شدت باعث افزایش حساسیت حیوانات آزمایشگاهی نسبت به سودوموناس آئروژینوزا می‌گردد. از مدل‌های حیوانی دیگری، جهت مطالعه عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا در مناطق مختلف بدن استفاده شده است[۲].

۱-۱-۱.اپیدمیولوژی

سودوموناس آئروژینوزا در محیط های طبیعی به طور شایع یافته می شود. این باکتری توانایی سازگاری با اکثر زیستگاهها را، از آبهای سطحی تا مواد ضد عفونی کننده دارا می‌باشد. سودوموناس آئروژینوزا می‌تواند در آب مقطر تکثیر پیدا کند اما به ندرت از آب دریا جدا می‌شود و ارتباطی با بیماریهای آبزیان ندارد. گونه‌هایی از آن در خاک در ریزوسفر وجود دارند و در نتیجه ممکن است به طور مکرر از سبزیجات و گیاهان جدا شوند. در محیط بیمارستانی، سودوموناس آئروژینوزا در سینک‌های ظرفشویی و شیر آب کلونیزه می‌شوند.

ناقلین انسانی کم می‌باشد به طوریکه میزان ناقلین مدفوعی بین ٪۲ و ٪۱۰ می‌باشد (احتمالا" در افرادی که در رژیم غذایی خود از سبزیجات استفاده می‌کنند بالاتر است). کلونیزاسیون مدفوعی به نظر می‌رسد که در افرادسالم ناپایدار باشد و جابه جایی انواع سویه‌ها وجود دارد. سودوموناس آئروژینوزا به سرعت روی پوست خشک از بین می‌رود، اما در شرایطی که رطوبت پوست افزایش پیدا