بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه الزهرا (س)

دانشکده علوم پایه

پایان نامه

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

رشته میکروبیولوژی

عنوان

مطالعه مقاومت آنتی بیوتیکی وابسته به اینتگرون در سویه های بیمارستانی *Pseudomonas aeruginosa*

استادان راهنما

خانم دکتر احیا عبدی عالی

خانم دکتر عزت عسگرانی

دانشجو

سمیه اعظمی

شهریور ۱۳۹۰

کلیه دستاوردهای این تحقیق متعلق به دانشگاه الزهرا (س) است.

قدردانی و تشکر

بر خود واجب می دانم از اساتید ارجمند سرکار خانم دکتر احیا عبدی عالی و سرکارخانم دکتر عزت عسگرانی که با برخورداری از تجربه های گرانقدر و راه گشایی های ارزنده زحمت راهنمایی و هدایت این پایان نامه را تقبل فرمودند و در طول انجام این تحقیق از هیچ حمایتی دریغ نکردند، تشکر نمایم.

چکیده

Pseudomonas aeruginosa یکی از مهم ترین عوامل عفونت های بیمارستانی به ویژه در بخش ICU و سوختگی می باشد. اینتگرون به عنوان یک عنصر ژنتیکی عامل مهم بالقوه در انتشار مقاومت چند دارویی در میان باکتری های گرم منفی خصوصا "*Pseudomonas*" است و به عنوان منبع اولیه ژن های مقاومت شناخته می شود. در سویه های *P. aeruginosa* غالبا" اینتگرون کلاس ۱ حضور دارد. هدف از این مطالعه ارزیابی مقاومت آنتی بیوتیکی وابسته به حضور اینتگرون در سویه های بالینی *P. aeruginosa* بود. جهت تعیین نسبت مقاومت از روش های Kirby-Bauer و Etest استفاده شد. از ۱۳۰ نمونه بررسی شده ۷۰ سویه مقاومت بالایی نسبت به تمامی آنتی بیوتیک های استفاده شده در این مطالعه نشان دادند، به نحوی که حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) برای آنتی بیوتیک های جنتامیسین و سفتازیدیم µg/ml ≥۲۵۶ و برای آنتی بیوتیک های ایمیپنم و سیپروفلوکساسین µg/ml ≥۳۲ بود. این سویه ها الگوی مقاومت چند دارویی را نشان دادند. بررسی تمامی سویه ها براساس روش Multiplex PCR برای تشخیص اینتگرون های کلاس ۱، ۲و ۳ انجام شد. در میان ۱۳۰ سویه، ۷۴ (۵۶/۹٪) نمونه حامل اینتگرون کلاس ۱ بودند. هیچ یک از ژن های اینتگرون کلاس های ۲ یا ۳ شناسایی نشد. با توجه به درصد بالای مقاومت سویه های بررسی شده در این مطالعه به آنتی بیوتیک های سفتازیدیم و ایمیپنم با µg/ml ≥۱۲۸ MIC و µg/ml ≥۳۲ MIC شناسایی آنزیم های متالوبتالاکتاماز نیز مورد بررسی قرار گرفت. این آنزیم ها تعداد زیادی از بتالاکتام های وسیع الطیف را هیدرولیز می کنند. متالوبتالاکتامازهای نوع IMP, VIM , SPM در سویه های بیمارستانی *P. aeruginosa* حضور گسترده ای داشته و با اینتگرون های کلاس ۱ ارتباط دارند که انتقال افقی آنزیم ها را تسهیل می کنند. شناسایی فنوتیپی متالوبتالاکتامازها به روش سینرژی دیسک با استفاده از دیسک های Imipenem -EDTA یا Ceftazidime -EDTA انجام شد. جهت شناسایی ژنوتیپی، پرایمرهای اختصاصی ژن های bla_{IMP-1} و $bla_{VIM-1,2}$ در واکنش PCR برای سویه هایی که تست غربالگری مثبت داشتند، به کار برده شد. حضور ۱۰ سویه مولد متالوبتالاکتاماز VIM-1 شناسایی شده به صورت فنوتیپی، در روش مولکولی نیز تایید شد.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه	۱
مقدمه	۲
شناسایی	۲
بیماریزایی	۴
تنوع ژنتیکی	۵
فاکتورهای ویرولانس	۶
پلی ساکارید سطح سلول	۶
Slime	۶
کپسول	۷
QS	۷
پیلی	۸
تاژک	۸
آنزیم	۹
کسب آهن	۹
پروتئین های غشای خارجی(OMP)	۹
مقاومت آنتی بیوتیکی	۹

مبادلات ژنتیکی	۱۰
ترانسپوزیشن	۱۱
کانجوگاسیون	۱۱
ترانسداکشن	۱۱
عناصر متحرک ژنتیکی	۱۲
پلاسمید	۱۲
اینتگرون	۱۳
انواع اینتگرون	۱۶
عناصر الحاقی	۱۶
جزایر مقاومت	۱۸
بتالاکتامازها	۱۹
مقاومت کلاس های مختلف β-لاکتامازی	۱۹
کلاس A بتالاکتاماز	۱۹
کلاس Bبتالاکتاماز	۱۹
کلاس C بتالاکتاماز	۲۰
کلاس D بتالاکتاماز	۲۰
انتقال افقی ژن از طریق اینتگرون	۲۰
ریکامبیناز اینتگرون و انتقال کاست های ژنی	۲۳
مکانیسم نوترکیبی در اینتگرون	۲۴
اینتگرون های مقاومت و انواع آن	۲۵

کلاس ۱	۲۵
ساختار اینتگرون کلاس ۱	۲۵
کلاس ۲	۲۶
ساختار اینتگرون کلاس ۲	۲۶
کلاس ۳	۲۷
کلاس ۴و۵	۲۷
انواع کاست های ژنی در *P. aeruginosa*	۲۸
منشا کاست های ژنی	۳۱
سوپراینتگرون(SI)	۳۱
تکامل اینتگرون	۳۲
سوپراینتگرون در Pseudomonads	۳۴
اهداف پژوهش	۳۷
فصل دوم: مواد و روش ها	**۳۸**
۲-۱. مواد و روش ها	۳۹
۲-۱-۱. تجهیزات	۳۹
۲-۱-۲ وسایل و مواد مورد نیاز	۴۰
۲-۲. روش تهیه محلول ها	۴۳
۲-۲-۱. ۲-۲-۲. تهیه بافر فسفات ۰/۰۱ M (pH= 7)	۴۳

آماده سازی استاندارد ۰/۵ مک فارلند ۴۳

۲-۲-۳. تهیه بافرها و محلول های لازم برای استخراج DNA ۴۳

۲-۲-۳-۱. تهیه بافر TE 10X ۴۳

۲-۲-۳-۲. تهیه بافر Tris-HCl نیم مولار ۴۴

۲-۲-۳-۳. تهیه بافر الکتروفورز ۴۴

۲-۲-۳-۴. تهیه محلول اتیدیوم بروماید (۱۰۰۰X) ۴۴

۲-۲-۳-۵. روش تهیه ژل ۴۴

۲-۳. کشت نمونه ها ۴۵

۲-۳-۱. تعیین هالهٔ بازدارندهٔ رشد به روش انتشار در آگار ۴۶

۲-۳-۲. تعیین حداقل غلظت بازدارندهٔ رشد (MIC) به روش Etest ۴۷

۲-۳-۳. تلقیح باکتری های مورد مطالعه ۴۷

۲-۳-۴. خواندن نتایج MIC در روش Etest ۴۷

۲-۳-۵. بررسی MIC به روش micro broth dilution ۴۸

۲-۳-۶. تهیه محلول های ذخیره آنتی بیوتیکی ۴۹

۲-۳-۷. تهیه رقت های آنتی بیوتیک ۵۰

۲-۳-۸. آماده سازی سوسپانسیون به روش micro broth dilution ۵۱

۲-۳-۹. گرماگذاری و خواندن نتایج ۵۱

۲-۳-۱۰. کنترل کیفی آزمایش ۵۱

۲-۳-۱۱. شناسایی متالوبتالاکتامازها ۵۲

۲-۴. استخراج DNA از باکتری ۵۲

۲-۵. روش تعیین غلظت DNA ۵۳

۲-۶. استفاده از روش Multiplex PCR جهت تعیین حضور کلاس های I-III اینتگرون ۵۳

۲-۷. شناسایی ژنوتیپی آنزیم های متالوبتالاکتاماز ۵۶

۲-۸. الکتروفورز محصولات PCR ۵۹

فصل سوم: نتایج **۶۰**

۳-۱. نتایج تست های حساسیت ۶۱

۳-۱-۱. تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی به روش Kirby- Bauer ۶۱

۳-۱-۲. تعیین MIC به روش Etest ۶۲

۳-۱-۳. مقاومت متقاطع نمونه های *P. aeruginosa* به آنتی بیوتیک های استفاده شده ۶۶

۳-۲. تشخیص فنوتیپی تولید متالوبتالاکتاماز ۶۷

۳-۳. بررسی حضور کلاس های مختلف اینتگرون ۶۷

۳-۴. ارتباط حضور اینتگرون و مقاومت آنتی بیوتیکی در نمونه ها ۶۸

۳-۵. تشخیص ژنوتیپی متالوبتالاکتامازها ۷۰

فصل چهارم: بحث و پیشنهادات ۷۱

پیشنهادات ۸۰

فصل پنجم: منابع ۸۱

فصل اول

مقدمه

مقدمه

شناسایی

Pseudomonas aeruginosa باسیل گرم منفی غیر تخمیری هوازی است که با تاژه قطبی تحرک دارد. پاتوژن فرصت طلب انسان، حیوان و گیاهان محسوب می شود و گونه ای از جنس *Pseudomonas* می باشد. Schoroeter نخستین بار در سال ۱۸۷۲ آن را از منابع مختلف محیطی جداسازی کرد و نامگذاری دوتایی باکتری را انجام داد.

این باکتری پیگمان های متنوعی تولید می کند که شامل پیوسیانین (سبز- آبی)، فلورسئین یا پیووردین (زرد- سبز) و پیوروبین (قرمز- قهوه ای) است. *P. aeruginosa* در ابتدا به دلیل تولید تری متیل آمین در محیط کشت و ایجاد کلنی های کدر با بوی انگور شناسایی می گردد. تست های بیوشیمیایی کاتالاز، اکسیداز، نیترات و لیپاز آن مثبت و در محیط TSI به صورت K/K ,g- ,H_2S- است. شناسایی بالینی با توان رشد در دمای ۴۲° C و تولید پیوسیانین و فلورسین صورت می گیرد. در محیط انتخابی ستریماید آگار کلنی ها مسطح، بزرگ و بیضوی با مرکز برآمده و قادر به تولید پیوسیانین می باشند. سویه های محیطی روی blood agar همولیز دارد که به دلیل تولید فسفولیپاز C می باشد. تست های سرولوژی براساس آنتی ژن های O و H انجام می شود. حرکت swarming و twitching در محیط های نیمه جامد گزارش شده است (en.wikipedia.org /wiki/*Pseudomonas_aeruginosa*. (2008)، (Todar's Online Textbook Of Bacteriology, 2009.).

یک خصوصیت مجزاکنندهٔ جنس *Pseudomonas* طیف وسیع ترکیباتی است که توسط بسیاری از سویه ها قابل متابولیزه شدن هستند. به دلیل داشتن مسیرهای متابولیسمی متعدد قابلیت استفاده از ۸۰ ترکیب آلی را به عنوان منبع کربن و انرژی دارد (Rossolini &

(Mantengoli., 2005). باکتری مجهزبه ترانسپورترهای بزرگ، تنظیم کننده های رونویسی و سیستم های تنظیم دوجزئی است که منعکس کننده تنوع متابولیسمی آن برای استفاده از طیف وسیع منابع غذایی است. به دلیل توان رشد در سوخت دیزل و جت عامل خوردگی میکروبی محسوب می گردد.

اگر چه به عنوان میکروارگانیسم هوازی دسته بندی شده است، یک بی هوازی اختیاری نیز می باشد که به شرایط فقدان نسبی یا کامل اکسیژن سازش یافته و از نیترات و آرژینین به عنوان پذیرنده نهایی الکترون استفاده می کند. در غیاب نیترات، توان مصرف آرژینین را با فسفوریلاسیون در سطح سوبسترا دارد. سازش به شرایط بی هوازی یا اکسیژن کم به دلیل نحوهٔ زندگی باکتری ضروری است. مثلاً در عفونت ریه بیماران مبتلا به فیبروز سیستیک، لایه های ضخیم آلژینات در ماتریکس احاطه کننده سلول های باکتریایی، انتشار اکسیژن را محدود می کند (en.wikipedia.org /wiki/*Pseudomonas_aeruginosa*. 2008)،

(Todar's Online Textbook Of Bacteriology, 2009).

جدول ۱-۱. رده بندی باکتری *P. aeruginosa*

Scientific classification	
Kingdom	**Bacteria**
Phylum	**Proteobacteria**
Class	**Gamma Proteobacteria**
Order	**Pseudomonadales**
Family	**Pseudomonadaceae**
Genus	***Pseudomonas***
Species	***aeruginosa***

بیماریزایی

P. aeruginosa یک پاتوژن فرصت طلب برای انسان، حیوان، گیاهان، نماتود و حتی آمیب است. این باکتری عامل پوسیدگی نرم در گیاهان *Arabidopsis thaliana* و *Letuca saliva* و پاتوژن حیوانی در *Drosophila* و *Galleria mellonella* و *Caenorhabditis elegans* است. در وان دستشویی، چوب گردگیری، محلول های ضد عفونی کننده، تجهیزات پزشکی، مخلوط کن غذا و مناطق مرطوب دیگر بیمارستان به عنوان منبع عفونت محسوب می شود. در مناطق مرطوب بدن مانند بخش تناسلی، زیر بغل، مخاط بینی و گلو بیشتر استقرار می یابد. به صورت تک وتصادفی در فلور افراد سالم دیده می شود.

یکی از مهمترین عوامل عفونت های بیمارستانی با درصد مرگ و میر بالاست. در افراد دچار نقص ایمنی معمولا" عامل عفونت های دستگاه تنفسی، ادراری، زخم، سوختگی و حتی خون (باکتریمی و شوک سپتیک با مرگ و میر بالا) است. شایعترین عامل عفونت گوش خارجی و سوختگی و کلونیزه کننده وسایل پزشکی مانند سوند است. عامل رایج عفونت بعد از عمل در جراحی قرنیه با پرتو است. درتعداد زیادی از بیماران با نقص ایمنی که تحت شیمی درمانی قرار گرفته اند، عفونت شدید گوارشی وجود دارد. رایج ترین عوامل عفونت باکتری های گرم منفی می باشند که در بین آن ها بالاترین درصد متعلق به *P. aeruginosa* است.

بر طبق اطلاعات مرکز ملی کنترل عفونت و پیشگیری عفونت های بیمارستانی در آمریکا، *P. aeruginosa* دومین عامل پنومونی با ۶۰-۴۰٪ مرگ و میر، سومین عامل عفونت دستگاه ادراری، و هفتمین عامل باکترمی در بیمارستان است. در اروپا نیز به عنوان سومین عامل عفونت بیمارستانی در ICU و پنجمین عامل عفونت دستگاه ادراری مطرح است

. Rossolini) ،(en.wikipedia.org /wiki/*Pseudomonas_aeruginosa*. 2008)

.(& Mantengoli., 2005

ارگانیسم از طریق اگزوتوکسین A مشابه توکسین دیفتری، منجر به غیر فعال سازی فاکتور۲ طویل سازی یوکاریوتی، مهار سنتز پروتئین و نکروز سلول ها می شود. خروج محتویات داخل سلولی باعث ایجاد پاسخ ایمونولوژیک در افراد با نقص ایمنی می گردد. این توکسین در همهٔ سویه های باکتری وجود دارد. اگزوآنزیم S درون سلولی بوده و در ADP ریبوزیله کردن چند پروتئین متصل شونده به GTP نقش دارد . ژن exoS در ۷۰٪ سویه ها یافت می شود. اگزوتوکسین U بیماریزاترین پروتئین سیستم ترشحی تیپ ۳ است که در ۳۰٪ نمونه های بیمارستانی دیده شده است. تولید این فاکتورهای ویرولانس توسط مکانیسم تنظیمی QS[۱] کنترل می شود تا در زمانی که تراکم سلولی از میزان معینی بیشتر شد، منجر به بیان هماهنگ ژن ها شود. QS احتمال ایمنی علیه محصولاتی را که ممکن است برای باکتری مضر باشد، کاهش می دهد (Veesenmeyer & et al, 2009).

تنوع ژنتیکی

ژنوم ۶/۳ مگا بازی غنی از G+C (۶۷-۶۵٪) این باکتری از یک کروموزوم حلقوی و تعداد متغیری پلاسمید تشکیل شده است. کروموزوم دارای core حفاظت شده و یک بخش متغیر است که این بخش منجر به تغییر اندازه ژنوم بین ۷-۵/۲ مگا باز می شود. چند لوکوس، تنوع توالی بالایی نشان می دهند که شامل لوکوس رمز کننده سیدروفورپیووردین، تنظیم کننده تاژکی pilA و لوکوس سنتز آنتی ژن O است (en.wikipedia.org /wiki/*Pseudomonas_aeruginosa*. 2008) ، (Clockgether & et al, 2010).

۱. Quorum Sensing

P. aeruginosa قابلیت گسترده ای برای تشکیل کلونی و پایداری در زیستگاه های آبی و خشکی دارد. یک دلیل فراگیر بودن باکتری اندازه بزرگ ژنوم آن می باشد که دارای اطلاعات ژنتیکی فراوانی است و سبب سازش پذیری محیطی آن می شود. این باکتری یکی از بالاترین نسبت های ژن های تنظیمی (۸/۴٪) را در بین باکتری ها به خود اختصاص داده است. دلیل دیگر تعداد زیاد جزایر ژنومی است که در حدود ۹۰٪ ژنوم حفاظت شدهٔ آن وارد شده است.

فاکتورهای ویرولانس

۱. پلی ساکارید های سطح سلولی

پلی ساکارید به عنوان سد محیطی عمل کرده، نقش مهمی در برهمکنش های میزبان- پاتوژن داشته و از ترکیبات ساختار بیوفیلم نیز می باشد. آنتی ژن O در *P. aeruginosa* به دو فرم A- باند (هموپلیمر) و B- باند (هتروپلیمر) وجود دارد. حضور لیپوپلی ساکارید (LPS) مسئول سمیت کشنده در موش وتب بالا در خرگوش است. LPS به همراه پلی ساکارید کپسولی،عامل مقاومت به فاگوسیتوز در مقابل سیستم کمپلمان است. اگزوپلی ساکارید آلژینات به فرم خطی با پیوند β- ۱و۴ دی مانورونیک اسید و دی گلورونیک اسید عامل فنوتیپ موکوئیدی فاز دوم بیماری فیبروزیز سیستیک است. دسته های ژنی *pel* و*psl* رمز کنندهٔ اگزوپلی ساکاریدهای بیوفیلم هستند (en.wikipedia.org/wiki/*Pseudomonas_aeruginosa*. 2008).

Slime .۲

لایه لعابی از پلی ساکارید های باکتری و دارای بار منفی بالاست. دارای پیوندهای β- ۱و۴ D- مانورونیک اسید و مقادیری L- گلورونیک اسید و گروه های O- استیل است که در شرایط نسبت بالای C/N و گلیسرول، نمک و فشار اسمزی بالا تولید می شود. نوع جفت شدهٔ آن با آلبومین سرم گاوی می تواند به عنوان آنتی ژن حفاظتی فعال به کار رود. کارایی slime در

جذب زیستی جیوه به میزان ۱/۵ برابر بیشتر از کپسول پلی ساکاریدی *Klebsiella* گزارش شده است.

۳. کپسول

کپسول پلی ساکاریدی (گلیکوکالیکس) متشکل از قندهای L- رامنوز، D- گلوکز، D- گلوکورونیک اسید و D- مانوز باکتری را در مقابل فاگوسیتوز محافظت می کند. در باکتری های گرم منفی پلی ساکارید کپسول مانع نفوذ اجزای کمپلمان به دیواره سلول باکتری شده و از فعال شدن مسیر آلترناتیو کمپلمان جلوگیری می کند. مطالعات نشان داده اند که سویه های کپسول دار پاتوژنز بالاتری نسبت به انواع غیرکپسول دار دارند. کپسول در اتصال اولیهٔ باکتری به سطح میزبانش نقش دارد. همچنین حضور کپسول به سطح باکتری خاصیت هیدروفیلی می دهد. کپسول، slime و LPS خصوصیت ضد فاگوسیتیک دارند.

۴. Quorum Sensing (QS)

QS در *Pseudomonas* شامل سیستم های تنظیمی *las* و *rhl* است که در آن سیگنال اتواینديوسر پس از خروج از سلول و رسیدن به حد آستانه ، توسط باکتری های مجاور درک شده و تکثیر سلول ها افزایش می یابد. سه مولکول سیگنال دراین باکتری شناسایی شده است. از سوی دیگر بازگشت اتواینديوسر به سلول و اتصال به پروتئین تنظیمی اختصاصی و اتصال به برخی ژن ها باعث بیان تعداد زیادی از فاکتورهای ویرولانس می گردد.

حدود ۳۵۰ ژن (۶٪ ژنوم) توسط این سیستم تنظیم شده و نقش مهمی در تشکیل بیوفیلم و تولید توکسین های متعدد دارد (Veesenmeyer & et al, 2009).

برخی از ارگانیسم ها مولد آنزیم هایی هستند که سیگنال اتواندیوسر باکتری های گونهٔ دیگر را تجزیه می کند. همچنین سلول های پستانداران این توانایی را دارند. پاراکسونازها (PON_S) آنزیم های پستانداران هستند که توان تجزیهٔ اتواندیوسر *Pseudomonas* را دارند. درمان این باکتری با سرم حاوی PON سبب مهار تشکیل بیوفیلم می شود که نیاز به QS عملکردی دارد.

ترکیب ضد میکروبی triclosan یک مهارکنندهٔ دیگر QS با ممانعت از سنتز اتواندیوسر است که در صابون، خمیردندان و دئودورانت به کار می رود (Estin & et al, 2010).

پیلی

در این میکروارگانیسم دو نوع پیلی شناسایی شده است:

۱. پیلی نازک به طول ۳ nm که در اتصال به اپتلیوم و تشکیل بیوفیلم شرکت دارد.

۲. پیلی ضخیم به طول ۵ nm که مسئول حرکت twitching است.

رسپتور پیلی روی سلول های نایی N- استیل نورامینیک اسید (اسید سیالیک) است (Todar's Online Textbook Of Bacteriology, 2009) .

تاژک

تاژک در حرکت swimming ، انتشار بیوفیلم و اتصال به سطح سلول میزبان نقش دارد. جزء فلاژلین تاژک توسط رسپتورToll-like5 شناسایی شده و پاسخ ایمنی با ترشح سایتوکاین هایTNF ، IL-6 و IL-8 آغاز می گردد. الاستاز آزاد شده از نوتروفیل ها، پروتئین قلاب تاژک (FlgE) را تجزیه می کند. *Pseudomonas* برای اجتناب از پاسخ ایمنی میزبان در

طی عفونت مزمن ریه، مقادیر کمی فلاژلین بیان می کند (Veesenmeyer & et al, 2009).

آنزیم ها

آنزیم های فسفولیپاز C، بوتیرات استراز، کاپریلات استراز و لوسین آریلامیناز در باکتری عامل هیدرولیز اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه و تخریب لیپید بافت هستند (en.wikipedia.org /wiki/Pseudomonas_aeruginosa. 2008.).

کسب آهن

این ارگانیسم توانایی تولید سیدروفور (پیووردین) و گیرنده های پروتئینی (الاستاز) را دارد که سبب رقابت با پروتئین ترانسفرین میزبان برای کسب آهن می گردد.

پروتئین های غشای خارجی (OMP)

OMPA در ارتباط با القای سیتوتوکسیته است. Choi و همکاران پیشنهاد کردند این پروتئین پس از اتصال به سلول های یوکاریوتی، وارد هسته شده و سبب مرگ سلولی می شود (Todar's Online Textbook Of Bacteriology, 2009)

مقاومت آنتی بیوتیکی

فشار انتخابی سنگین آنتی بیوتیک ها گسترش مقاومت باکتریایی را تسریع کرده که از نتایج آن بی اثر شدن درمان و تهدید حیات بیمار است. یکی از نگران کننده ترین خصوصیات *P. aeruginosa* حساسیت آنتی بیوتیکی پایین آن محسوب می شود. وجود پمپ های ایفلاکس، کسب ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی، تشکیل بیوفیلم و نفوذپذیری پایین پوشش سلول از طریق لایه آلژینات و لیپوپلی ساکارید از علل این حساسیت کم به شمار می آیند.