

فصل اول

کلیات

مقدمه

سابقه استفاده از گیاهان جهت درمان بیماری ها به تاریخ تولد بشر باز می گردد. از هزاران سال پیش تمدن های بزرگ جهان هم چون ایران و رم باستان مهد پرورش طبیبان حاذقی بوده اند که با شناسایی و به کار گیری گیاهان مفید دارویی به مداوای بیماران می پرداختند^[۱]. از اوایل قرن بیستم همراه با پیشرفت علم شیمی و کشف سیستم های پیچیده سنتز آلی منجر به توسعه صنعت داروسازی و جایگزینی داروهای صناعی به جای داروهای گیاهی شد. اما همزمان با پیشرفت در تولید داروهای شیمیایی جدید و آنتی بیوتیک های مختلف، به تدریج اثرات مضر این داروها ظاهر شدند و از دهه ۱۹۵۰ باکتری های بیماریزای متعددی به آنتی بیوتیک ها مقاومت نشان دادند که این مقاومت هم چنان در حال گسترش است^[۲]. لذا بهره گیری از داروهای گیاهی به عنوان جایگزین داروهای شیمیایی و آنتی بیوتیک ها مورد بررسی قرار گرفت که از آن جمله می توان به اسانس های گیاهی اشاره کرد. امروزه استفاده از اسانس ها در درمان بیماری ها به عنوان یک علم شناخته شده است. این علم به نام آروماتراپی، رایحه درمانی و یا عطر درمانی معروف می باشد. آروماتراپی از قرن ها پیش برای درمان بیماری ها استفاده شده است به طوری که مصریان باستان در ۴۵۰۰ سال پیش از میلاد مسیح، به طور معمول اسانس های موجود در گیاهان را به دست می آوردند و از آن ها برای درمان بعضی از بیماری ها استفاده می نمودند^[۳].

پسودوموناس آئروجینوزا از مهم ترین عوامل عفونت های بیمارستانی بعد از اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس آئروس می باشد، که اهمیت ویژه آن به علت مقاومت زیاد و روز افزون این باکتری به آنتی بیوتیک ها می باشد.

این باکتری هم چنین یک عامل مهم در مرگ و میر مبتلایان به سیستمیک فیبروزیس، بیماری نئوپلاسمی و سوختگی های شدید می باشد^[۴].

با توجه به اینکه گیاهان آویشن شیرازی، اکالیپتوس، مورد، زیره سبز و نعناع امروزه به صورت ترکیبات مختلف دارویی در بازار ایران عرضه شده است، در نتیجه کاربرد داروهای حاوی اسانس که

با حداقل اثرات جانبی و حداقل قیمت بتوانند در داخل کشور تولید شوند از اهمیت ویژه ای برخوردار است.

با انجام این تحقیق به این سؤال علمی پاسخ داده می شود که آیا اسانس های گیاهان فوق باعث کاهش تولید آلژینات و بیوفیلیم (یکی از مهم ترین فاکتورهای مقاومت و بیماریزای باکتری) در *پسودوموناس آئروجینوزا* می شود؟ در صورت مثبت بودن پاسخ می توان احتمال داد که داروهای حاوی اسانس های فوق در درمان و کاهش مقاومت عفونت های *پسودوموناس آئروجینوزا* نیز می تواند مؤثر باشند.

پسودوموناس

جنس پسودوموناس، کمپلکسی متشکل از بسیاری گونه های باسیل گرم منفی هوازی غیرتخمیری است که در خاک و آب سکونت دارند. در مسکن طبیعی آنها به طور وسیعی توزیع شده اند و نقش مهمی را در تجزیه مواد آلی بر عهده می گیرند. چندین گونه از اعضای این جنس، بیماریزاهای حیوانات و گیاهان هستند. اغلب ارگانسیم های جنس پسودوموناس انسان را آلوده نمی کند اما بعضی از آنها بیماریزاهای فرصت طلب مهم برای میزبان هایی هستند که سیستم دفاعی آنها ضعیف شده باشد. معمولاً عفونت های انسانی شدید بوده و به لحاظ مقاوم بودن در برابر بسیاری از آنتی بیوتیک های معمولی و به علت ضعف در شرایط زمینه ای میزبان، به سختی درمان می شوند. طبقه بندی پسودوموناس ها بر اساس همگونی در rRNA /DNA و به لحاظ خصوصیات مشترک در محیط کشت می باشند.

پسودوموناس آئروچینوزا

پسودوموناس آئروچینوزا شایع ترین بیماریزای انسانی در جنس پسودوموناس است. در تعدادی از بیمارستان ها سومین عامل شایع عفونت های بیمارستانی بعد از استافیلوکوکوس آئروس و اشرشیاکلی می باشد. پسودوموناس آئروچینوزا را بیماریزای بزرگ و یک عامل منتهی به مرگ در مبتلایان به سیستمیک فیبروزیس، بیماری نئوپلاسمی و سوختگی های شدید است.

مرشورژی و چرئیات ساختمانی

پسودوموناس آئروچینوزا یک باسیل گرم منفی با اندازه ای در حدود $(4-3 \times 1-0.5)$ میکرون می باشد. اغلب سلول ها یک فلاژل قطبی دارند اما گاهی ممکن است ۲ یا ۳ فلاژل داشته باشند. اغلب ارگانسیم هایی که از نمونه های بالینی جدا شده اند حاوی پیلی هستند. پیلی ها اتصال ارگانسیم به سلول های میزبان را به پیش می برند. آنها یک لایه لعابی خارج سلولی (مشابه با کپسول) را تولید می کنند. این لایه تحت عنوان ماده گلیکوکالیکس یا ماده موکوئید شناخته می شود که حاوی آلژینات می باشد [۴].

ساختمان ومحتوای دیواره سلولی *پسودوموناس آئروجینوزا* مشابه با بقیه ارگانسیم های گرم منفی خانواده انتروباکتریاسه می باشد. مشابه به باکتری های روده ای، لیپوپلی ساکارید (LPS) دیواره سلولی *پسودوموناس آئروجینوزا* حاوی پلی ساکاریدهای مرکزی است که در تمامی سوش ها مشترک بوده و حاوی زنجیره های پلی ساکاریدی جانبی است که اختصاصی برای سوش می باشند. در هر دو گروه ارگانسیم ها، قند ۲- کتو ۳ دزاکسی اوکتونیک اسید در هسته مرکزی وجود دارد و هر دو گروه حاوی لیپید A هستند. مولکول های لیپوپلی ساکارید *پسودوموناس آئروجینوزا* حاوی فسفر بیشتری بوده و واحدهایی با اتصال آمیدی ال-آلانین و قندهای آمینی فوکوز آمین، کوئینوز آمین و گاهی د-باسیلوز آمین دارند. بتاهیدروکسی مرسیتیک اسید در *پسودوموناس آئروجینوزا* وجود ندارد اما در باکتری های روده ای یافت می شود^[۴].

کشت

پسودوموناس آئروجینوزا هوازی اجباری بوده که در انواع مختلفی از محیط های کشت به سهولت رشد می کند و بوی انگور دارد. برخی از سویه های آن، خون را همولیزی کنند، این باکتری، کلنی های گرد و صاف با خاصیت فلورسنس سبزرنگی را تولید می کند. این باکتری هم چنین پیگمان مایل به آبی غیر فلورسانس به نام پایوسیانین (Pyocyanin) را تولید می کند که به درون محیط کشت انتشار می یابد.

انواع دیگری از *پسودوموناس*، پایوسیانین ایجاد نمی کنند. نژادهای دیگری از *پسودوموناس آئروجینوزا* پیگمان فلورسنس پایورودین (pyoverdin) را تولید می کنند که رنگ سبزی را در آگار به وجود می آورند. برخی از سویه ها، پیگمان پایوروبین (Pyorubin) به رنگ قرمز تیره یا پیگمان سیاه رنگ پایوملانین (Pyomelanin) را تولید می کنند.

در کشت های *پسودوموناس* گاهی چندین نوع کلنی ظاهر شده و به نظر می آید که کشت، از چندین نوع باکتری تشکیل شده است. کلنی های مختلف *پسودوموناس*، فعالیت های آنزیمی و بیوشیمیایی گوناگونی داشته و در حساسیت به داروهای ضد میکروبی با هم تفاوت دارند. *پسودوموناس آئروجینوزا* که از کشت سیستیک فیبروزیس به دست می آید معمولاً کلنی های خیلی مخاطی دارند^[۵].

نخعی صیانت رشد

پسودوموناس آئروجینوزا در حرارت ۳۷ تا ۴۲ درجه سانتیگراد به خوبی رشد می کند. این باکتری به علت توانایی رشد در حرارت ۴۲ درجه سانتیگراد با انواع دیگر پسودوموناس ها تفاوت دارند. این باسیل اکسیداز مثبت بوده، قندها را تخمیر نمی کند. اما برخی از نژادها گلوکز را اکسید می کنند. شناسایی این باکتری ها براساس شکل کلنی، مثبت بودن اکسیداز، وجود پیگمان و رشد در ۴۲ درجه سانتیگراد انجام می گیرد. پسودوموناس آئروجینوزا را از سایر پسودوموناس ها براساس فعالیت های بیوشیمیایی آنها متمایز می سازند که در این صورت به آزمایش های بیشتری نیاز است [۵].

مقاومت

پسودوموناس آئروجینوزا یکی از قابل تطابق ترین باکتری ها است که تاکنون شناخته شده است. در هنگامی که رطوبت کافی فراهم شود با حداقل مولکول های غذایی به حیات خود ادامه می دهد. در شرایط بیمارستانی از نقاط متفاوتی از قبیل دستگاه تنفس مصنوعی، حمام ها، سطح آب دستگاه های خنک کننده و مرطوب ساز، تخت های بستری و کف زمین قابل جداسازی است. پسودوموناس آئروجینوزا مقاومت زیادی در برابر ضد عفونی کننده های شیمیایی داشته و حتی در بعضی از انواع ترکیبات آمونیوم چهارتایی، صابون های هگزاکلروفن و محلول های یدی رشد می کند. معمولاً فنول ها و بتاگلووتارآلدئید ضد عفونی کننده های مؤثری برای پسودوموناس هستند. آب جوش و خشک شدن محیط موجب مرگ ارگانیزم می شود. اغلب آنتی بیوتیک هایی که به طور رایج مورد مصرف دارند (به ویژه پنی سیلین ها و سفالولسپورین های نسل اول) بر علیه پسودوموناس مؤثر نیستند [۴].

استفاده گسترده از آنتی بیوتیک ها در سال های اخیر موجب شده است که این باکتری نسبت به آنتی بیوتیک های وسیع الطیف از گروه های مختلف آنتی بیوتیکی مقاوم شود. وجود سویه های با مقاومت چندگانه دارویی، مشکل اصلی در درمان این باکتری در بخش های مهم بیمارستانی چون سوختگی و مراقبت های ویژه است. مقاومت دارویی معمولاً با اکتساب پلاسمید یا سایر عناصر متحرک ژنتیکی و یا ایجاد جهش در کروموزوم باکتری است. پلاسمید های R (مقاومت دارویی) یکی از مهمترین عواملی هستند که مقاومت دارویی را در بین سویه های مختلف یک گونه باکتری و نیز بین گونه های نزدیک

پخش می کنند. آنتی بیوتیک های گروه بتالاکتام نظیر پنی سیلین ها، سفالوسپورین ها، کارباپنم ها و منوباکتم ها از داروهای انتخابی برای درمان تک دارویی و یا ترکیبی عفونت های *پسودوموناس آئروجینوزا* هستند. مقاومت نسبت به بتالاکتام ها با راه های مختلفی نظیر تولید آنزیم های بتالاکتاماز، افزایش بیان پمپ های افلوکس برای دفع فعال داروها و کاهش نفوذپذیری غشاء خارجی باکتری صورت می گیرد.

آنزیم های بتالاکتاماز توسط کروموزوم و پلاسمید تولید می گردند ولی تولید پلاسمیدی این آنزیم ها به دلیل انتشار سریع آنها بین باکتری های مختلف از اهمیت بیشتری برخوردار است [6].

آلژینات به عنوان یک سد آنیونیک در مقابل نفوذ آنتی بیوتیک های آمینوگلیکوزیدی عمل می کند. گودان و فایفه مشاهده کردند که اشکال موکوئیدی *پسودوموناس آئروجینوزا* در برابر کربنی سیلین، فلوکساسین و توبراماسین مقاوم تر از ایزوله های غیرموکوئیدی هستند [7]، درحالی که دمکو و توماسن مشاهده کردند که سویه های مولد آلژینات نسبت به توبراماسین، کربنی سیلین و تیکارسیلین بسیار حساس هستند این گروه دریافتند که سویه های موکوئید و غیرموکوئید *پسودوموناس آئروجینوزا*، حتی هنگامی که از یک منبع ایزوله می شوند دارای تنوعی زیادی در حساسیت آنتی بیوتیکی هستند [8]. بنابراین تفاوت های سویه ای و تشکیل بیوفیلم، به شکل مؤثر در حساسیت این باکتری در مقابل آنتی-بیوتیک ها تأثیر دارد [9].

ساختار آنتی ژنی

آنتی ژن های سوماتیک یا آنتی ژن های O برای تعیین گروه سوش های متنوع (در مقاصد اپیدمیولوژیک) کاربرد دارند. تعیین تیپ سرولوژیک آنتی ژن O نسبت به تعیین تیپ پیوسین یا تعیین تیپ فاز به سهولت بیشتری انجام شده و اختلافات کمتری را نشان می دهد اما در هر حال سیستم های تعیین پیوسین و یا تعیین تیپ فاز (در شناسایی کامل سوش هایی که در جریان حملات بیماری جداسازی شده اند) مورد نیاز می باشند [4].

این باکتری دارای پیلی بوده که توسط آن به سلول های پوششی میزبان اتصال می یابد. در کلنی های مخاطی که از نمونه های کشت بیماران مبتلا به سیستمیک فیبروزیس به دست آمده اند کپسول پلی

ساکاریدی وجود دارد. لیپوپلی ساکارید عامل اندوتوکسین این باکتری است. اکثر *پسودوموناس* های به دست آمده از عفونت ها قادرند آنزیم های خارج سلولی که در عمل هضم و تجزیه بافت الاستیک دخالت دارند و هم چنین پروتئیناز و دو نوع همولیزین (یکی فسفولیپاز C حساس به حرارت و دیگری گلیکولیپید مقاوم به حرارت) را تولید کنند.

نژادهای مختلفی از *پسودوموناس آئروجینوزا* قادر به تولید اگزوتوکسین A هستند که موجب نکروز بافت می شوند و چنانچه به طور خالص به حیوانی تزریق گردند موجب مرگ حیوان خواهند شد. توکسین A با مکانیزمی مشابه توکسین دیفتری از سنتز پروتئین جلوگیری می کند اگر چه ساختمان توکسین کاملاً شناخته شده است. آنتی توکسین علیه اگزوتوکسین A در سرم افرادی که از عفونت های شدید *پسودوموناس آئروجینوزا* بهبود یافته اند وجود دارد [۵].

پاتوژنیتز

پسودوموناس آئروجینوزا یک ارگانسیم بسیار پیچیده ای است که حاوی یک سری از فاکتورهای مؤثر در بیماریزایی می باشد. این فاکتورها در بروز و ابتلاء به بیماری انسانی شرکت می کنند. یکسری از خصوصیات آناتومیک وجود دارند که در استقرار و بقا ارگانسیم در انواع سیستم های میزبان و انواعی از محصولات خارج سلولی کمک کرده و تغییرات پاتولوژیک بی شماری را القا می کنند. احتمالاً و البته به جایگاه عفونت و شرایط زمینه ای میزبان، نقش واقعی هر یک از این فاکتورها متفاوت است.

در طبیعت *پسودوموناس آئروجینوزا* در دو شکل متفاوت حضور دارد. یک شکل شناور با تحرک آزاد و یک شکل میکروکلنی که در لابه لای یک گلیکوکالیکس بزرگ جای گرفته است. نظر بر این است که شکل های فوق به ارگانسیم امکان می دهند تا این که توانایی بقا در محیط آبی را کسب کند. علاوه بر این آنها نقش مهمی را در استقرار و انتشار ارگانسیم (در عفونت های انسان) برعهده می گیرند. ارگانسیم های متحرک و غیرمتحرک هر دو توانایی کاملی را برای آلوده کردن و تکثیر در جایگاه های سوختگی دارند اما شیوع باکتری می ثانویه و تهاجم سیستمیک (در مورد شکل های غیرمتحرک) کمتر است. در حیواناتی که توسط شکل های متحرک، آلوده شده اند ایمونیزاسیون غیرفعال با آنتی بادی ضد فلاژل، موجب کاهش تهاجم سیستمیک و سپتی سمی می شود. شکل میکروکلنی راهی

است که به توسط آن ارگانیزم می تواند در ریه مبتلایان به سیستمیک فیبروزیس باقی بماند. در مطالعاتی که بعد از مرگ بر روی مقطع نگاری الکترونی از بافت ریه مبتلایان به سیستمیک فیبروزیس انجام گرفته شواهد مستقیمی در ارتباط با حضور میکروکلنی ها در بافت حاصل شده و ارگانیزم هایی که از این بیماران جداسازی شده اند کلنی های کاملاً موکوئید را تولید کرده اند. دلایل مشابهی وجود دارد که به حضور میکروکلنی ها در مثانه بیمارانی تأکید می کند که بعد از دریافت سوندهای داخل مثانه به عفونت های *پسودوموناس* مبتلا شده اند. گلیکوکالیکس که پیرامون میکروکلنی ها را فرا می گیرد ارگانیزم را در برابر آنتی بادی هایی که بر علیه آنتی ژن O باشند حفاظت نموده و اندازه میکروکلنی از فرایند فاگوسیتوز ممانعت می کند. گلیکوکالیکس ممکن است در اتصال ارگانیزم به موسین هایی که در مبتلایان به سیستمیک فیبروزیس تولید می شوند شرکت داشته باشد و انعطاف پذیری میکروکلنی احتمالاً به آن اجازه می دهد که حتی در جریان سرفه کردن در درون ریه ها باقی بماند و به این ترتیب از جابه جایی و برداشت آن از سطح ریه ها ممانعت شود. علاوه بر گلیکوکالیکس، فاکتورهای دیگری از قبیل پیلی وجود دارند که به ارگانیزم امکان می دهند تا این که به سلول های میزبان متصل شود.

نکته جالب در آن است که ارگانیزم ها به منظور اتصال به سلول های تراشه به سلول هایی نیاز دارند که قبلاً آسیب دیده باشد. این سلول های آسیب دیده یا آسیب های سلولی توسط عوامل مکانیکی در هنگام لوله گذاری در دستگاه تنفسی (که به طور معمول در بخش های مراقبت ویژه (ICU) انجام می شود) و در هنگام جراحی و یا عوامل شیمیایی مانند اسید (که در اسپیراسیون محتویات معده در ریه وارد می شود) و در موارد آسیب های ناشی از عفونت های دیگری از قبیل ویروس های آنفولانزا به وجود می آیند. در شرایط طبیعی، فیبرونکتین سلول ها را در برابر اتصال باکتری های محافظت می کند اما در هنگامی که سطح پروتئاز بزاق افزایش می یابد فیبرونکتین از دست می رود^[۴].

لانه گزینی و تکثیر *پسودوموناس آئروجینوزا* (در مبتلایان به سیستمیک فیبروزیس) احتمالاً ناشی از مکانیزم فوق می باشد. این بیماران سطوح بالایی از پروتئازها و سطوح پائینی از فیبرونکتین را

دارند. پیگمان پیوسیائین که ضربات مژک های تنفسی را کاهش می دهد نیز لانه گزینی و تکثیر باکتری ها را در (سیستم تنفسی) تسهیل می کند.

لیپوپلی ساکارید دیواره سلولی یا اندوتوکسین *پسودوموناس آئروجینوزا* ممکن است نقش مهمی را در بیماریزایی عفونت های انسان برعهده داشته باشد. از آن جایی که اندوتوکسین *پسودوموناس* به اندازه اندوتوکسین خانواده انتروباکتریاسه سمیت ندارد لذا بعضی از محققین اعتقاد دارند که خصوصیات سمی اندوتوکسین به اندازه بقیه توکسین های *پسودوموناس* (در جریان عفونت های *سودومونایی*) اهمیت ندارد.

اما در هر حال، احتمالاً لیپوپلی ساکارید اهمیت خود را در عفونت استقرار یافته، نشان می دهد، لذا در حیوانات تجربی، آنتی بادی بر ضد لیپوپلی ساکارید به شدت حفاظت کننده است موتان هایی که پلی ساکاریدهایی با وزن مولکولی بالا را نداشته باشند نسبت به سوش های مادری خود در حدود ۱۰۰۰ برابر قدرت بیماریزایی کمتری دارند [۴].

از هنگامی که *پسودوموناس آئروجینوزا* در میزبان خود استقرار می یابد تعدادی از آنزیم ها و توکسین های خارج سلولی را تولید می کند که احتمالاً در بیماری انسانی اهمیت دارند. یکی از این توکسین ها که نقش عمده ای را در عفونت های *پسودوموناس* برعهده می گیرد اگزوتوکسین A می باشد. این توکسین اثرات کشنده بر روی حیوانات داشته و تعدادی اثرات آسیب بافتی را بر روی مدل های حیوانی موجب می شود.

شواهد غیرمستقیمی وجود دارد که این توکسین در جریان عفونت های انسانی نیز تولید می شود. در جریان عفونت، تیترهای سرمی بالایی از آنتی بادی بر ضد اگزوتوکسین A تولید می گردد. این آنتی بادی در بقاء مبتلایان به عفونت که از نظر سیستم ایمنی ضعیف بوده اند اهمیت دارد. علاوه بر این در باکتری می مبتلایانی که توسط سوش های تولید کننده اگزوتوکسین A آلوده شده اند (نسبت به باکتری می در بیمارانی که توسط سوش های غیر تولیدکننده توکسین آلوده شده اند) مرگ و میر بیشتری وجود داشته است.

چگونگی عملکرد اگزوتوکسین A شبیه به اگزوتوکسین کورینه باکتریوم دیفتریه می باشد. هر دو توکسین، فعالیت آدنوزین دی فسفات - ریبوزیل ترانسفراز دارند که فاکتور طولی کننده (EF-2) را غیرفعال می کنند. آنها این فعالیت خود را از طریق کاتالیز کردن انتقال آدنوزین دی فسفات (ADP) از NAD به یک واحد تغییر یافته هیستیدین در فاکتور طولی کننده ۲ به انجام رسانده و سنتز پروتئین را متوقف می سازند که در نهایت مرگ سلول را به همراه خواهد داشت. هر دو توکسین ها به گیرنده های سطح سلول پیوند شده و به این ترتیب در درون حفرات مفروش شده ای تحت عنوان وزیکول های اندوسیتوزی وارد می شوند. این وزیکول ها به سرعت توسط ترکیبات اسیدی، آغشته شده و واحدهای آب گریز را عرضه می کنند. آنها احتمالاً توکسین ها را برای نفوذ در غشاء همراهی می کنند. از این عمل، توکسین ها در شکل قطعات فعال آنزیمی در سیتوزول وارد شده و فاکتور طولی کننده را غیرفعال می کنند.

اگرچه هر دو توکسین از بسیاری موارد مشابه هستند اما تفاوت هایی وجود دارد، کبد اندام هدف برای اگزوتوکسین A است اما توکسین دیفتری بر روی قلب تأثیر می کند. هر دو توکسین از نظر جایگاه های مولکولی گیرنده خود نیز متفاوت هستند. هر دو توکسین وزن مولکولی مشابهی دارند اما توالی اسید آمینه، فقط در نواحی پیوند به NAD و کاتالیز واکنش های ADP-ریبوزیلاسیون مشابهت دارد. اگزوتوکسین A در شکل یک پیش ساز با ۶۳۸ اسید آمینه و در درون سلول سنتز می شود. در انتهای آمینی مولکول پیش ساز، قطعه ای با ۲۵ اسید آمینه وجود دارد که به نظری رسد مسئول ترشح توکسین از *پسودوموناس آئروجینوزا* باشد. شکل فعال اگزوتوکسین A، یک پلی پپتید تک رشته ای حاوی ۶۱۳ اسید آمینه می باشد که به ۳ دومین عمل کننده تقسیم می شود. در انتهای آمینی، دومینی وجود دارد که مسئول جا به جایی (ترانس لوکاسیون) رشته های پلی پپتیدی است و انتهای کربوسیل حاوی دومینی با فعالیت آنزیمی است. در کنار اگزوتوکسین A، *پسودوموناس آئروجینوزا* بسیاری از عوامل دیگر را تولید می کند که احتمالاً نقشی را در عفونت های انسان بر عهده دارند. یکی از این عوامل، اگزوآنزیم S می باشد که یک آدنوزین دی فسفات-ریبوزیل ترانسفراز بوده و توسط

تقریباً ۴۰٪ از نمونه های بالینی تولید می شود. فاکتور طویل کننده ۲ هدفی برای اگزوزآنزیم S نیست بلکه یک یا چند پروتئین سلول یوکاریوت، هدف این آنزیم هستند. نقش واقعی اگزوزآنزیم S به درستی مشخص نیست. اما در مطالعه مدل های حیوانی نشان داده شده است که این توکسین، شدت عفونت را افزایش می دهد [۴].

اگزوزآنزیم S (خالص شده) در مدت زمان ۲ ساعت، تغییرات شدیدی را در ریه موش موجب می شود. اگر تک لایه های فیبروبلاستی با اگزوزآنزیم S، مجاورشوند آسیب غشایی و تولید واکوئل های درون سلولی بروز خواهد کرد. این یافته ها نشان می دهند که اگزوزآنزیم S احتمالاً نقشی را در آسیب نکرولی پنومونی *پسودوموناس آئروجینوزا* برعهده دارد. درمدل موش شیرخوار، سوش های تولید کننده اگزوتوکسین S نسبت به سوش هایی که اگزوتوکسین S را تولید نمی کنند تمایل بیشتری برای انتشار در گردش خون دارند.

فسفولیپاز نیز احتمالاً در قدرت تهاجمی ارگانسیم شرکت دارد. فسفولیپاز این عملکرد خود را از طریق تخریب سورفاکتانت ریوی و تهاجم در بافت ریه به انجام می رساند که ما حاصل آن بروز آتلکتازی و نکرولوز خواهد بود.

پروتئازهای متعددی توسط اغلب سوش های *پسودوموناس آئروجینوزا* تولید می شوند. این آنزیم ها ممکن است مسئول ضایعات خونریزی دهنده پوست باشند که در بعضی از بیماران دیده می شود. الاستاز یکی از پروتئازها است که نقش مهمی را در عفونت های قرنیه برعهده داشته و اثرات اگزوتوکسین A در عفونت های ریه افزایش می دهد. این آنزیم، ایمونوگلوبولین ها، کمپلمان، فاکتورهای انعقادی و آلفا پروتئیناز تخریب می کند. این خصوصیات به ارگانسیم امکان می دهد تا این که در جریان خون باقی بماند. علاوه بر این *پسودوموناس آئروجینوزا* یک سیتوتوکسین را تولید می کند. اگرچه این توکسین برای اولین بار تحت عنوان لوکوسیدین توصیف شده اما برای اغلب سلول های یوکاریوت سمی است. در بعضی از بیماران انترتوکسینی مشاهده شده که احتمالاً نقشی را در بروز اسهال برعهده دارد [۴].

آلژینات

اتصال اولیه پَسودوموناس آئروجینوزا به اپی تلیوم تنفسی و سایر سطوح اپی تلیال به واسطه اندامک های باکتریایی به نام پیلی یا فیمبریه صورت می گیرد و توسط آلژینات تسهیل می گردد^[۱۰]. آلژینات یک پلیمرآنیونی از واحدهای مانورونیک اسید و رال گلورونیک اسید با اتصالات بتا ۱ و ۴ می باشد که در آن بعضی از واحدهای مانورونات، مونو-۱- استیله بوده و بقیه دی-۱- استیله می باشند. آلژینات ها از بسیاری منابع بیولوژیک قابل جداسازی هستند. آنها از نظر درصد نسبت واحدهای مانورونات گلورونات و ساختمان سوم پلیمرهای این واحدها، متفاوت می باشند. در ماده آلژینات پَسودوموناس آئروجینوزا، قطعات پلی گلورونات وجود ندارد. لذا ساختمان کلی آلژینات، قابلیت انعطافی بیشتر و شکنندگی کمتری دارد. ارگانسیم هایی که از مبتلایان به بیماری سیستمیک فیبروزیس جدا می شوند مقادیر وافری از گلیکوکالیکس را تولید کرده و از نظر ظاهری به شدت موکوئید هستند^[۴].

فروکتوز ۶ فسفات به عنوان اولین پیش ساز آلژینات برای مسیر بیوسنتزی پَسودوموناس آئروجینوزا است و مشاهده شده از مسیر انترودورف و فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز ایجاد شده باشد. آنزیم های مسیر بیوسنتز آلژینات عبارتند از فسفومانوزایزومراز (PMI)، GDP مانوزپیروفسفوریلاز (GMP)، GDP مانوز دهیدروژناز (GMD) و فسفو مانوز موتاز (PMM). فعالیت این ۴ آنزیم (PMI، GMD، GMP، PMM) در سوش های غیر موکوئیدی یا وجود ندارد یا به مقدار زیادی نسبت به سوش های موکوئیدی پَسودوموناس آئروجینوزا پائین است. مطالعات دیگر نشان داد که فعالیت های آنزیماتیک پائین یک ویژگی کلی آنزیم های بیوسنتزی آلژینات هستند حتی در سوش هایی از پَسودوموناس آئروجینوزا که به مقدار بالایی موکوئیدی هستند. ژن های تولید کننده آنزیم های فوق به ترتیب algA، algC، algA و algD می باشد. مراحل بیوسنتزی آلژینات به ترتیب زیر می باشد:

فروکتوز ۶ فسفات توسط آنزیم PMI به مانوز ۶ فسفات تبدیل می شود. مانوز ۶ فسفات توسط آنزیم PMM به مانوز ۱ فسفات تبدیل می شود. مانوز ۱ فسفات با مصرف GTP و آنزیم GMP به GDP مانوز تبدیل می شود و GDP مانوز با مصرف ۲ NAD و آنزیم GMD به GDP

مانورونیک اسید تبدیل می شود و GDP مانورونیک اسید طی مراحل ناشناخته پلیمریزاسیون، استیلاسیون، خروج و اپی مریزاسیون تبدیل به آلزینات می شود. پلیمریزاسیون آلزینات تصور شده تا مشابه سنتز دیگر پلی ساکارید های باکتریال باشد و با دخالت الکل **G55-polisoprenyl phosphate** و آنزیم های متصل شونده غشایی انجام شود^[۱۰].

نقش بیولوژیک آلزینات *پسودوموناس آئروجینوزا* هنوز به طور کامل مشخص نیست. به نظرمی رسد که این اگزوپلی ساکارید موکوئیدی، واسطه ای برای اتصال سویه های *پسودوموناس* به اپی تلیوم نای است. در کموتاکسی پلی مورفونوکلئورها با واسطه کمپلمان فعال، تداخل می کند و سبب مقاومت سویه های موکوئیدی در مقابل فاگوستیوز غیر اسپونیک توسط ماکروفاژها می شود و به ارگانسیم در مقاومت نسبت به کشته شدن اکسیداتیو داخل سلولی از طریق سیستم میلوپراکسیداز، با مهار هیپوکلریت کمک می کند. یکی دیگر از اعمال اصلی این پلی ساکارید، تداخل آن با تجمع آنتی بیوتیک ها در درون سلول باکتری است که احتمالاً به شکل یک سد عمل می کند^[۱۱].

آلزینات قادر است اتصال سویه های موکوئیدی را به سلول های اپی تلیال دستگاه تنفسی تقویت کند، بنابراین آزمایش های پاکسازی ریوی ممانعت می کند. آزمایشات *invivo* با استفاده از تلقیح داخل نای در ریه ها نشان داده است که واریانهای موکوئیدی *پسودوموناس آئروجینوزا* با سرعت کمتری نسبت به سویه های ایزوژنیک غیر موکوئیدی از ریه پاک می شوند. اتصال به سلول های اپی تلیال ریه، که تا حدودی وابسته به سویه است. با تشکیل میکروکلنی از ریه های بیماران مبتلا به CF افزایش می یابد.

به نظرمی رسد لایه کپسولی آلزینات سویه های موکوئیدی *پسودوموناس آئروجینوزا* از پوشش دادن آنتی بادی ها ممانعت می کند و بنابراین شاخص های ایمونولوژیک مورد نیاز برای فاگوسیتوز غیر اسپونیک را در شرایط آزمایشگاهی، بلوک می کند.

سویه های موکوئیدی این باکتری نسبت به فاگوستیوز غیر اسپونیک نیز مقاوم تر هستند. تیمار سویه های موکوئیدی با آلزینات لیا، سبب از بین رفتن کپسول آلزینات می شود، فاگوسیتوز را افزایش می

دهد، به علاوه، مشخص شده است که شستشوی سلولی که سبب از بین رفتن لایه آلژینات شده، باعث می شود که کشتن فاگوسیتیک سویه های موکوئید مانند سویه های غیرموکوئید باشد. هم چنین مطالعات نشان داده اند که پلیمر آلژینات به شکل مستقیم، از اتصال ماکروفاژ و فاگوسیتوز ممانعت می کند و هم چنین می تواند در کموتاکسی پلی مورفونوکلئرها اختلال ایجاد کند. تحقیقات نشان داده است که آلژینات، با عدم توانایی در فعال کردن کمپلمان، باکتری های مولد آلژینات را از اپسونیزاسیون کمپلمان و لیز شدن حفاظت می کند و می تواند در پایداری سویه های موکوئیدی نقش داشته باشد. فعال شدن کمپلمان یک مرحله ابتدایی و مهم در واکنش التهابی است. چرا که C5a، سلول های فاگوسیت را به محل عفونت می کشاند. آلژینات یک جاذب شیمیایی (چه به تنهایی و چه از طریق سیستم کمپلمان) و بنابراین قادر نیست پلی مورفونوکلئورها را به محل عفونت جذب کند. بنابراین به علت توانایی آلژینات در جلوگیری از جذب پلی مورفونوکلئورها به محل عفونت و عدم فعال سازی کمپلمان، این عامل ویرولانسی می تواند در پایداری و پاتوژنز عفونت مزمن *پسودوموناس آئروجینوزا* نقش داشته باشد^[۱۰].

نقش های ناشی از *پسودوموناس آئروجینوزا*

۱- عفونت دستگاه تنفسی

پنومونی باکتریایی ناشی از *پسودوموناس آئروجینوزا* به صورت یک عفونت تنفسی آغاز می شود ولی بر خلاف پنومونی اولیه به طور تپیک با نوتروپنی و متعاقب آن تهاجم به جریان خون و انتشار متاستاتیک همراه است. انتشار متاستاتیک باعث ایجاد ضایعات مشخص در ریه و سایر احشاء میشود. خونریزی آلوئولی و نکروز شایع است. نشانه ها و علائم این بیماری برق آسا همانند آنهایی است که درباره پنومونی غیر باکتری میک ناشی از این ارگانیزم توصیف شد.

عفونت دستگاه تنفسی تحتانی ناشی از *پسودوموناس آئروجینوزا* تقریباً منحصرأً توسط سوش های موکوئیدی که آلژینات تولید می کنند ایجاد می شود. چنین عفونتهایی در میان کودکان، بزرگسالان و بالغین جوان مبتلا به سیستمیک فیبروزیس شایع است و هم چنین در برخی بیماران مبتلا به ایدز رخ می دهد.

سوش های موکوئیدی در بیماران مبتلا به سیستمیک فیبروزیس همیشه ایجاد عفونت و کلونیزاسیون می کند و شیوع آن با گذشت زمان افزایش می یابد. این موضوع در پیشرفت مزمن و تشدیدهای حاد بیماری که مشخصه بیماری ریوی این افراد است، دخالت دارد [۱۲].

۲- باکتری

پسودوموناس آئروجینوزا هنوز هم یکی از علل مهم عفونت کشنده جریان خون در بیماران مبتلا به ضعف سیستم ایمنی است. باکتری اغلب ایاتروژنیک است و معمولاً در بیماران بستری مبتلا به بیماری همزمان مختلف دیده می شود. عفونت می تواند اولیه (بدون هیچ منبع مشخص) یا ثانویه به یک کانون عفونت مشخص باشد. خصوصیات بالینی باکتری ناشی از پسودوموناس آئروجینوزا مشابه سایر اشکال باکتری است. جایگاه های اولیه شایع عفونت عبارتند از: دستگاه اداری، دستگاه گوارش، ریه، پوست و بافت نرم و کانونهای داخل عروقی از جمله کاتتر دائمی ورید مرکزی، تب، تاکی پنه، تاکی کاردی و ضعف شدید شایع می باشد.

ضایعات پاتوگنومونیک پوستی که اکتیماگانگرونوزوم نامیده می شود، در اقلیت نسبتاً کوچکی از بیماران مبتلا به باکتری پسودوموناس آئروجینوزا رخ می دهد [۱۲].

۳- اندوکاردیت

پسودوموناس آئروجینوزا دریچه های طبیعی قلب در معتادان تزریقی و همچنین دریچه های مصنوعی قلب را عفونی می کند.

مواد خارجی مخلوط با هروئین ممکن است باعث آسیب به لت های دریچه یا آندوکاردیوم دیواره ای شوند. این امر باعث فیبروز می شود و خطر عفونت دریچه ای را افزایش می دهد. دریچه تریکوسپید در معرض تروما و باکتری قرار دارد و واضح است که این موضوع علت شیوع بالای درگیری تریکوسپید در معتادان تزریقی است. دریچه ریوی، میترال، یا آئورتی و آندوکارد دیواره ای هر دو دهلیز ممکن است در اندوکاردیت ناشی از پسودوموناس آئروجینوزا درگیر شوند. اندوکاردیت ناشی از پسودوموناس

آئروجینوزا که معمولاً در طرف راست به صورت تحت حاد ظاهر می شود. در حالی که ظهور بیماری طرف چپ احتمالاً حادثر بوده و حتی برق آسا است [۱۲].

۴- عفونتهای دستگاه عصبی مرکزی

پسودوموناس آئروجینوزا می تواند در دستگاه عصبی مرکزی مننژیت و آبسه مغزی ایجاد نماید. این عفونتها به دنبال گسترش از ساختمان های مجاور اطراف منتشر از قبیل گوش، ماستوئید یا سینوس های بینی، تلقیح مستقیم به فضای زیر عنکبوتیه یا مغز از طریق تروما جراحی یا روشهای تشخیص یا گسترش باکتریمیک از یک مکان دوردست رخ می دهند. عفونت پسودوموناس آئروجینوزا در CNS نیز همانند سایر مکانهای آناتومیک، تقریباً فقط در بیمارانی که دچار ضعف مکانیسمهای دفاعی ایمنی سیستمیک یا موضعی هستند تشخیص داده شده است. نشانه های بالینی مننژیت ناشی از پسودوموناس آئروجینوزا همانند سایر اشکال مننژیت حاد باکتریایی شامل تب، سردرد، سفتی گردن، گیجی و بهت است [۱۲].

۵- عفونتهای گوش

پسودوموناس آئروجینوزا اغلب در کانال گوش خارجی به ویژه در شرایط مرطوب و در حضور التهاب یا رطوبت (مثل گوش شناگران) یافت می شود. به علاوه این ارگانیزم، پاتوژن غالب در التهاب گوش خارجی می باشد. این بیماری معمولاً یک فرآیند التهابی خوش خیم است که مجرای شنوایی خارجی را درگیر می کند. گوش دردناک یا فقط خارش دار است، این ترشح چرکی دارد و با کشیدن لاله گوش درد ایجاد می شود. گاهی اوقات پسودوموناس آئروجینوزا به اپی تلیوم پوشاننده کف مجرای شنوایی خارجی در محل اتصال بین استخوان و غضروف نفوذ می کند و بافت نرم زیر آن را مورد تهاجم قرار میدهد. فرآیند تهاجمی بعدی که بافت نرم، غضروف و استخوان قشری را در بر می گیرد به طور تپیک، آهسته و تخریب کننده است. این حالت که اوتیت خارجی بدخیم نامیده می شود. عمدتاً در بیماران دیابتی مسن اتفاق می افتد ولی گاهی در شیرخواران مبتلا به سایر بیماریهای زمینه ای و به ندرت در بیماران غیردیابتی مسن تر نیز گزارش شده است. در تمام موارد اوتیت

خارجی بدخیم به وسیله *پسودوموناس آئروجینوزا* به وجود می آیند. ترشح و درد شدید گوش علائم شایع و تظاهرات اوتیت خارجی بدخیم هستند. فلج عصب صورتی تمایل دارد در اوایل سیر بیماری ظاهر شود. در صورتی که فلج سایر اعصاب مغزی دیرتر ظاهر می شود، ممکن است کاهش شنوایی وجود داشته باشد^[۱۲].

۶- عفونت چشم

پسودوموناس آئروجینوزا در چشم انسان باعث کاهش کراتیت باکتریایی یا زخم قرنیه و اندوفتالمیت می شود. حتی آسیب های جزئی قرنیه نیز که پیوستگی اپی تلیال سطحی آن را به هم می زنند و راه دستیابی باکتری ها به استرومای زیرین آن را فراهم می آورند، ممکن است موجب کراتیت ناشی از *پسودوموناس آئروجینوزا* شوند.

استفاده از عدسی های تماسی ممکن است با عارضه زخم قرنیه همراه شود. این موضوع ویژه وقتی صادق است که از عدسی های تماسی نرم به مدت طولانی استفاده شود. این ارگانیزم ها از محل آسیب جزئی قرنیه که از عدسی ها ناشی می شود به داخل تلقیح می شوند، بیمارانی که دچار سوختگی های شدید شده اند تحت تراکئوستومی یا تابش اشعه به چشم قرار داشته اند، در معرض محیط ICU بوده اند یا در اغما به سر می برند نیز، مستعد زخمهای قرنیه ای ناشی از *پسودوموناس آئروجینوزا* می باشند.

تظاهرات بالینی کراتیت ناشی از *پسودوموناس آئروجینوزا* عبارت است از یک ارتشاح استرومایی نکروتیک و سریعاً گسترش یابنده در زمینه یک آسیب اپی تلیال، ادم اپی تلیال اطراف آن یک واکنش در اتاق قدامی و ترشح مولکولی چرکی که به سطح زخم چسبیده است^[۱۲].

۷- عفونت های مفصل و استخوان

استئومیلیت ناشی از *پسودوموناس آئروجینوزا* را با عفونت ادراری عارضه دار، جراحی یا استفاده از ابزار در دستگاه ادراری تناسلی و استفاده تزریقی از داروها همراه است. عفونتهای مهره ای که منشأ دستگاه ادراری دارند، اغلب در کهنسالی ایجاد می شوند و معمولاً ستون فقرات کمری- خاجی را

تحت تاثیر قرار می دهند. عفونتهای ناشی از مصرف مواد تزریقی به صورت تیپیک در بیماران جوانتر اتفاق می افتد و ممکن است ستون مهره ای گردنی یا لومبوساکرال را تحت تاثیر قرار می دهد.

استئومیلیت مهره ای ناشی از *پسودوموناس آئروجینوزا* معمولاً یک بیماری بی سر و صداست. به همین خاطر ممکن است علائم هفته ها و حتی ماه ها قبل از تشخیص وجود داشته باشند. حساسیت موضعی و کاهش محدوده حرکت مهره ها مبتلا به طور مشخص دیده می شود. آرتروز چرکی مفصل استرنوکلاویکولار ناشی از *پسودوموناس آئروجینوزا* عارضه ای دیگر از مصرف داروهای تزریقی است. درگیری مفصل معمولاً به صورت تک مفصلی است و مفصل استرنوکلاویکولار بیش از مفاصل استرنوکوندراال مبتلا می شود. عفونت سمفیزپویس ناشی از *پسودوموناس آئروجینوزا* با جراحی لگن و کاربرد تزریقی دارو ها همراه است.

بیماران مبتلا از دردی در ناحیه کشاله ران، هیپ، ران و یا پایین شکم شکایت میکنند که با راه رفتن بدتر می شود. استئوکندریت عمدتاً در اطفال و به دنبال زخمهای سوراخ کننده پا اتفاق می افتد.

ارگانیسیم مفاصل کوچک و استخوان ها شامل: بندهای پروگزیمال انگشتان، متاتارسها، مفاصل متاتارسوفالانژیال استخوانهای تارس پاشنه را عفونی میسازد^[۱۲].

۸- عفونتهای دستگاه ادراری

پسودوموناس آئروجینوزا یکی از شایع ترین علل عفونتهای عارضه دار و بیمارستانی دستگاه ادراری است. این عفونت ممکن است نتیجه کاتتریزاسیون، به کار بردن ابزار، جراحی، یا انسداد دستگاه ادراری باشد، ممکن است آنها نتیجه تداوم کانون های عفونت مزمن یا عود کننده (مثل پروستات یا سنگ) باشند. عفونتهای مزمن دستگاه ادراری ناشی از *پسودوموناس آئروجینوزا* به طور نسبی در بیماران ذیل شایع است. بیماران دارای سوندفولی، بیماران که آناتومی دستگاه ادراریشان به خاطر روشهای جراحی تغییر دهند سیر ادرار تغییر کرده است و بیماران دچار پاراپلژی. خصوصیات بالینی عفونتهای دستگاه ادراری ناشی از *پسودوموناس آئروجینوزا* معمولاً از سایر عفونتهای باکتریایی غیر قابل تشخیص است^[۱۲].

۹- عفونت های پوست و بافت نرم

باکتری می ناشی از *پسودوموناس آئروجینوزا* ممکن است با ضایعات پوستی منتشر به نام اکتیما گانگرونوزوم همراه باشد. تظاهرات پوستی سپسیس ناشی از این ارگانیزم که شیوع کمتری دارند، عبارتند از ضایعات پوسچولر یا وزیکولی، تاول، ندول های زیر جلدی، آبسه های عمقی سلولیت. پیودرمای اولیه ناشی از *پسودوموناس آئروجینوزا* وقتی به وجود می آید که پوست بر اثر ضربه، آسیب ناشی از سوختگی، درماتیت یا زخم های ناشی از بیماری های عروق محیطی یا زخم های فشاری مجروح می شود. سپسیس زخم ناشی از *پسودوموناس آئروجینوزا* که سوختگی های درجه سه وسیع را با عارضه مواجه می سازد، با میزان مرگ و میر فوق العاده زیادی همراه است. تظاهرات موضعی عبارتند از: تغییر رنگ اسکار سوختگی به سیاه، قهوه ای تیره یا بنفش، استحاله بافت گرانولاسیون زیرین، خونریزی و جدا شدن زودرس اسکار، ادم، خونریزی و نکروز پوست مجاور محل سوختگی و ضایعات ندولار قرمز در پوست نسوخته، تظاهرات سیستمیک شامل تب یا هیپوترمی و سایر نشانه های سپسیس می باشند [۱۲].

۱۰- عفونت های *پسودوموناس آئروجینوزا* در بیماران مبتلا به ایدز

اکثر این عفونت ها در حال حاضر در بیماران مبتلا به ایدز پیشرفته، عفونت های فرصت طلب قلبی و آنهایی که تعداد لنفوسیت های $CD4^+$ آن ها پائین است دیده می شود. اکثر عفونت های *پسودوموناس آئروجینوزا* در این جمعیت از اجتماع حاصل می شود. برعکس، در بیماران مبتلا به ایدز مبتلا نیستند اکثر عفونت های *پسودوموناس آئروجینوزا* از طریق بیمارستان منتقل می گردند. پنومونی، تعداد قابل توجهی از عفونت های *پسودوموناس آئروجینوزا* در بیماران مبتلا به ایدز را تشکیل می دهد. عفونت های منتقله از راه خون نیز شایعند که عبارتند از: عفونت های همراه با کاتترهای طولانی مدت وریدهای مرکزی و عفونت های سینوس های پاراناژال، پوست و بافت نرم و دستگاه ادراری، باکتری می، چه اولیه باشد و چه ثانویه به عفونت در یک مکان دوردست، اغلب عودکننده و