Journal of Gorgan University of Medical Sciences

e-ISSN: 2008-4080 p-ISSN: 1562-4765

2022 / Vol 23 / No 4

OPEN ACCESS

Original Paper

Effect of Morin on Expression of Biofilm Gene of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Burn Wounds

Samin Babazadeh (M.Sc)[1] , Kumarss Amini (Ph.D)*[2] , Mahsa Kavousi (Ph.D)[3]

1 M.Sc in Microbiology, Department of Biology, East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. 2 Associate Professor, Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran. 3 Assistant Professor, Department of Biology, East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: *Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic pathogen that is a major cause of mortality in immunocompromised patients. One of the most important mechanisms of resistance of this bacterium is biofilm formation. The aim of this study was done to determine the Effect of Morin on Expression of Biofilm Gene of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from burn wounds by Real time PCR.

Methods: In this descriptive-analytic study 60 sample were collected from burn wounds of patients admitted to the hospitals in Tehran, Iran. Samples were identified by using biochemical methods. The DNA of the isolates was extracted and then antimicrobial activity of morin analyzed by microbroth dilution assay. The presence of biofilm production genes was investigated by PCR. Finally, the expression of lasI gene in combination with Sub-MIC concentration of morin in biofilm-producing bacteria was evaluated using Real time PCR.

Results: From 60 samples that analyzed by Multiplex-PCR, 12 (20%) *Pseudomonas aeruginosa* strains were isolated in which 12 isolates (100%) were carried lasI and lasR, genes, respectively. 3 isolates (25%) were carried rhlI gene. Sub-MIC concentration of morin in biofilm-producing bacteria reduced lasI gene expression in *Pseudomonas aeruginosa*.

Conclusion: Morin has significant efficacy on *Pseudomonas aeruginosa* and could be a good alternative for treatment of antibiotic resistant isolates.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Biofilms, Morin, Real time PCR, Drug Resistance

***Corresponding Author:** Kumarss Amini (Ph.D), E-mail: dr_kumarss_amini@yahoo.com

Received 28 Apr 2021
Revised 25 Dec 2021
Accepted 5 Jan 2022
Published online 12 Mar 2022

Cite this article as: Babazadeh S, Amini K, Kavousi M. [Effect of Morin on Expression of Biofilm Gene of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Burn Wounds]. J Gorgan Univ Med Sci. 2022; 23(4): 58-63. [Article in Persian]

Article ID: Vol23-55

© The author(s)

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان

زمستان ۱۴۰۰ / دوره ۲۳ / شماره ۴ (پی در پی ۸۰)

دارای رتبه علمی -پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

e-ISSN: ۲۰۰۸-۴۰۸۰ p-ISSN: ۱۵۶۲-۴۷۶۵

با دسترسی آزاد

تحقیقی

اثر مورین بر بیان ژن‌های کوروم سنسینگ در سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از زخم سوختگی

ثمین بابازاده[۱]، دکتر کیومرث امینی*[۲]، دکتر مهسا کاوسی[۳]

[۱] کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. [۲] دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران. [۳] استادیار، گروه زیست شناسی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: *سودوموناس آئروژینوزا پاتوژنی فرصت طلب، عامل عمده مرگ و میر در بیماران با ضعف سیستم ایمنی است. کوروم سنسینگ یکی از عوامل مهم در بیماریزایی و مقاومت به مواد ضدمیکروبی در این باکتری است. این مطالعه به منظور تعیین اثر مورین بر بیان ژن‌های کوروم سنسینگ در سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از زخم سوختگی انجام شد.*

روش بررسی: *این مطالعه توصیفی - تحلیلی روی ۶۰ نمونه زخم سوختگی جمع‌آوری شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های تهران انجام شد. نمونه‌ها با استفاده از روش‌های کشت و بیوشیمیایی تعیین هویت شد. DNA ایزوله‌ها استخراج شد. سپس با استفاده از روش میکروبراث دایلوشن خاصیت ضد میکروبی مورین علیه سودوموناس آئروژینوزا سنجیده شد. همچنین حضور ژن‌های اختصاصی کوروم سنسینگ سودوموناس آئروژینوزا با استفاده از Multiplex-PCR مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت با استفاده Real time PCR و روش سایبرگرین در مجاورت مورین کاهش و یا افزایش بیان ژن lasI در باکتری سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد.*

یافته‌ها: *با استفاده از روش Multiplex-PCR ۱۲ نمونه (۲۰ درصد) باکتری سودوموناس آئروژینوزا جداسازی شدند که ۱۲ ایزوله (۱۰۰درصد) حامل ژن lasI ، ۱۲ ایزوله (۱۰۰درصد) حامل ژن lasR و ۳ ایزوله (۲۵ درصد) حامل ژن rhlI بودند. خاصیت ضدمیکروبی مورین علیه یک ایزوله سودوموناس آئروژینوزا دارای هر سه ژن تولید QS نشان داد که این ماده دارای خاصیت ضدمیکروبی علیه سودوموناس آئروژینوزا بوده و حداقل غلظت مهاری آن ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. غلظت Sub-MIC مورین در باکتری سودوموناس آئروژینوزا سبب کاهش بیان ژن lasI در سودوموناس آئروژینوزا گردید (P<۰/۰۵).*

نتیجه‌گیری: *مورین خاصیت ضدمیکروبی اثربخش و قابل توجهی علیه سودوموناس آئروژینوزا داشت.*

واژه‌های کلیدی: *سودوموناس آئروژینوزا ، بیوفیلم ، مورین ، Real time PCR، مقاومت دارویی*

* نویسنده مسؤول: دکتر کیومرث امینی ، پست الکترونیکی dr_kumarss_amini@yahoo.com

نشانی: ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه - مرکزی، تلفن ۰۸۶۴-۲۴۳۳۳۴۲

وصول ۱۴۰۰/۲/۸ اصلاح نهایی ۱۴۰۰/۱۰/۴ پذیرش ۱۴۰۰/۱۰/۱۵ انتشار ۱۴۰۰/۱۲/۲۱

مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا (*Pseudomonas aeruginosa*) باسیلی گرم منفی ساپروفیت، هوازی اجباری، متحرک و فاقد اسپور است. این ارگانیسم پاتوژنی فرصت طلب است و افراد با نقص سیستم ایمنی مانند سوختگی، استفاده کنندگان از کاتترهای داخل وریدی، بیماران دچار نوتروپنی، مبتلایان به ایدز و سرطان به صورت عامل بیماریزا عمل می‌کند.[۱] بیان اکثر ژن‌های تولید کننده عوامل بیماریزای باکتری سودوموناس آئروژینوزا به وسیله یک سیستم ژنی به نام سیستم Quorum Sensing (QS) کنترل و تنظیم می‌گردند. کوروم سنسینگ سیستم ارتباطی سلول به سلول با استفاده از مولکول‌های کوچک است که از طریق ترشح این مولکول‌ها به داخل محیط و سپس اتصال آنها به پروتئین‌های گیرنده عمل کرده و به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم رونویسی و ترجمه را تحت تاثیر قرار داده و اطلاعات را مبادله می‌کنند. در این باکتری سیستم QS از دو سیستم LasR-LasI و RhlR-RhlI تشکیل شده است. ژن‌های lasI و rhlI بیان کننده دو آنزیم آسیل هموسرین لاکتون سنتتاز هستند. درحالی که ژن‌های lasI و rhlI تولیدکننده پروتئین‌های تنظیم کننده رونویسی هستند که با اتصال به سیگنال اختصاصی خود سبب فعال‌سازی ژن‌های بیماریزا می‌شوند.[۲و۳] ژن‌های زیادی در

سودوموناس آئروژنوزا توسط کوروم سنسینگ کنترل و بیان می‌شوند که حتی در بیماریزایی این باکتری نقش دارند.[۴] این ژن‌ها از عوامل تنظیم بیان و تولید ایجاد کننده بیوفیلم در سودوموناس آئروژینوزا هستند.[۵] بیوفیلم تجمعاتی از باکتری‌ها هستند که در یک سطح اتصال پیدا کرده و رشد می‌کنند. بیوفیلم یکی از مکانیسم‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی سودوموناس آئروژینوزا است. زمانی که این باکتری‌ها بیوفیلم تشکیل می‌دهند؛ یکی از دلایل مقاومت این است که آنتی‌بیوتیک‌ها توانایی نفوذ از لایه‌های بیوفیلم را ندارند و در نتیجه باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌شوند.[۶و۷] با شناسایی سویه‌های به مقاوم به چندین دارو (Multi-drug resistance) به‌صورت گسترده در کشورهای مختلف، انتشار و گسترش ژن‌های مربوط به مقاومت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.[۸و۹] استفاده از روش‌های جدید درمانی به عنوان عوامل ضدمیکروبی جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است.[۱۰و۱۱] مورین (۲، ۳، ۴، ۵، ۷-پنتاهیدروکسی فلاون) عضوی از خانواده فلاونوئیدها است که از رنگدانه‌های مایل به زرد موجود در برخی از گیاهان است. این ماده به عنوان یک عاملی ضدمیکروبی و ضدبیماریزایی در باکتری‌های گرم مثبت و منفی شناخته شده است. آثار آنتی‌اکسیدانی آنها به اثبات رسیده است. به طوری که مصرف سبزیجات و گیاهان حاوی مورین از بروز بسیاری بیماری‌ها جلوگیری می کند. مورین دارای اثراتی از قبیل خواص ضدالتهابی، ضد زخم، سیتوتوکسیک، خواص آنتی‌اکسیدانی، همچنین دارای اثرات مختلفی بر روی آنزیم‌ها هستند و به علت داشتن منشا طبیعی نسبت به داروهای شیمیایی دارای سازگاری بیشتری با ارگانیسم‌های زنده از جمله بدن انسان بوده و عوارض جانبی کمتری ایجاد می‌کنند.[۱۲و۱۳] این مطالعه به منظور تعیین اثر مورین بر بیان ژن‌های کوروم سنسینگ در سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از زخم سوختگی انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی - تحلیلی روی ۶۰ نمونه زخم سوختگی بیماران بستری در بیمارستان‌های تهران طی سال ۱۳۹۸ انجام شد. نمونه‌ها به‌صورت تصادفی از زخم افراد دارای سوختگی جمع‌آوری شدند. مطالعه مورد تایید دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق (شماره ۴۸۶) قرار گرفت. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، تست‌های بیوشیمیایی شامل کشت بر روی محیط ستریماید و نوترینت آگار در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد، تست حرکت، تست سیترات، تست OF، تست اندول، تست MRVP، تست اکسیداز و کاتالاز بر روی آنها انجام شد. ایزوله‌هایی که به عنوان سودوموناس آئروژینوزا تشخیص داده شدند؛ با استفاده از محیط TSB و گلیسرول در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره و نگهداری شدند.

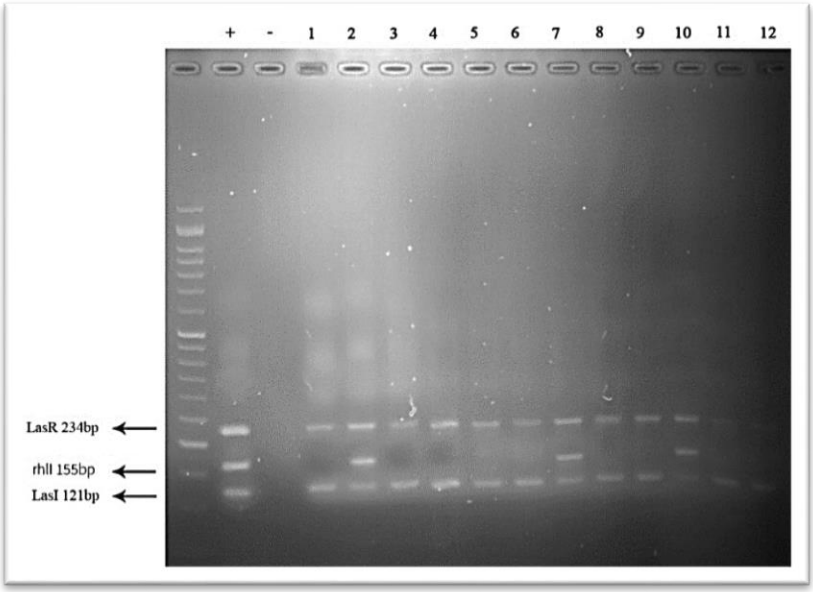
مورین از شرکت تهران دارو فراهم شد. برای بررسی خاصیت ضدمیکروبی و میزان MIC مورین علیه ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا از روش میکروبراث دایلوشن استفاده شد. ابتدا باکتری‌ها بر روی محیط کشت نوترینت آگار به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند. سپس کدورت نیم مک فارلند ایجاد شد. برای تهیه سوسپانسیون نهایی باکتری، استوک اولیه به نسبت ۱:۲۰ رقیق‌سازی شد. از DMSO با غلظت ۴ درصد به عنوان حلال پودر مورین استفاده شد. درون هر چاهک ۱۰۰ لاندا غلظت‌های ۲۰۴۸، ۱۰۲۴ ، ۵۱۲ ، ۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۱۶، ۸، ۴، ۲، ۱ و ۰/۵ میکروگرم بر میکرولیتر از مورین ریخته شد. سپس به تمامی چاهک‌ها ۱۰ لاندا از سوسپانسیون باکتری اضافه گردید و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سویه استاندارد PAO1 سودوموناس آئروژینوزا به عنوان سویه کنترل مثبت در نظر گرفته شد.

پس از تایید ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا بر اساس خصوصیات ظاهری کلنی، خصوصیات میکروسکوپی و تست‌های بیوشیمیایی برای شناسایی حضور ژن‌های دخیل در تنظیم کننده عوامل بیماریزا شامل lasR، lasI و rhlR از Multiplex-PCR استفاده شد. به منظور استخراج DNA باکتری از کیت استخراج DNA (کیت ذخایر مرکز ژنتیک ایران) استفاده شد. برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز از کیت Master mix (شرکت آمپیکون دانمارک) استفاده شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده و همچنین اندازه باندهای محصولات بر روی ژل الکتروفورز بر اساس رفرنس در جدول یک آمده است.

جدول ۱ : پرایمرهای مورد استفاده برای انجام PCR وReal time RCR

پرایمر	توالی پرایمر ۳-۵	اندازه	منبع
rhlR-F rhlR-R	GAAATGGTGGTCTGGAGCGA GGAAAGCACGCTGAGCAAAT	132 bp	۱۹
lasI-F lasI-R	TGAAGCCCAGGTTTTCGGTT AACGGCTGAGTTCCCAGATG	131bp	۱۹
lasR-F lasR-R	TCGAACATCCGGTCAGCAAA GTTCACATTGGCTTCCGAGC	128 bp	۱۹

برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر در لوله‌های اپندروف از مخلوط کردن ۱۲/۵میکرولیتر مسترمیکس، ۳ میکرولیتر از DNA باکتری، pmol ۱۰ از پرایمر مورد نظر و حجم مناسبی از آب مقطر استریل استفاده شد. مراحل واکنش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز شامل واسرشت سازی اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، برای ۳۵ سیکل واسرشت سازی ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال ۳۰ ثانیه، بسط ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، بسط نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه به عمل آمد. پس از انجام آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز محصولات را در ژل ۱/۵ درصد در TBE بافر به مدت ۶۰



شکل ۱: نتیجه آزمایش Multiplex-PCR بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا
به ترتیب از چپ به راست: مارکرbp 100 ؛ +: کنترل مثبت ؛ -: کنترل منفی ؛ شماره های ۱تا ۱۲ نشان دهنده ایزوله های سودموناس آئروژینوزا

دقیقه در ولتاژ ۹۰ الکتروفورز کردیم. برای رنگ‌آمیزی ژل آن را به مدت ۱۵ دقیقه در تانک حاوی اتیدیوم بروماید قرار دادیم و سپس نتایج توسط دستگاه Geldocument مشاهده شدند.[۱۴و۱۵]

میزان بیان ژن lasI با روش Real time PCR: برای استخراج RNA از میکروکیت RNeasy (شرکت Qiagen) و کشت در فاز تکثیر باکتری سودوموناس آئروژینوزا استفاده شد. سنتز CDNA با استفاده از آنزیم Reverse AMV با غلظت 25 lμ/unit (شرکت Roche) انجام شد. واکنش Real time PCR در حجم ۲۰ میکرولیتر شامل ۱۰ میکرولیتر از مسترمیکس سایبرگرین (2X)، ۵ میکرولیتر از آب دیونیزه، یک میکرولیتر از پرایمر فوروارد، یک میکرولیتر از پرایمر ریورس، یک میکرولیتر از Rox dye و ۲ میکرولیتر از CDNA استفاده شد. همچنین برنامه دمایی برای تکثیر شامل دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای یک دقیقه، تکثیر شامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه، ۵۹ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۶۰ ثانیه در ۳۵ چرخه انجام شد.[۱۴]

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-22 و آزمون کای اسکوئر و T-test در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

از تعداد ۶۰ نمونه مورد مطالعه، در ۱۲ نمونه (۲۰ درصد) ایزوله سودوموناس آئروژینوزا جداسازی شد. تمامی ایزوله‌ها در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد بر روی محیط ستریماید و نوترینت آگار رشد کرده و پیگمان سبز مایل به آبی تولید شد. تست سیترات مثبت، تست اندول منفی، حرکت مثبت، تست OF غیرتخمیری، تست متیل رد و VP منفی، تست اکسیداز و کاتالاز مثبت گردید.

نتایج واکنش PCR بر روی ۱۲ ایزوله تایید شده سودوموناس آئروژینوزا برای شناسایی ژن‌های کدکننده lasR، lasI و rhlI نشان داد که ۱۲ ایزوله (۱۰۰درصد) حامل ژن lasR ، ۱۲ ایزوله (۱۰۰درصد) حامل ژن lasI و ۳ ایزوله (۲۵ درصد) حامل ژن rhlI بودند و این تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار نشدند. همچنین ۳ ایزوله (۲۵درصد) سودوموناس آئروژینوزا به طور همزمان حامل هر سه ژن دخیل در QS بودند. اندازه باند محصولات PCR و حضور هر یک از ژن‌های دخیل در بیوفیلم در ۱۲ ایزوله سودوموناس آئرژینوزا در شکل یک نشان داده شده است.

خاصیت ضدمیکروبی مورین با استفاده از روش میکروبراث دایلوشن علیه یک ایزوله سودوموناس آئروژینوزا دارای هر سه ژن تولید QS نشان داد که این ماده دارای خاصیت ضدمیکروبی علیه سودوموناس آئروژینوزا است و حداقل غلظت مهاری آن برابر با ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. بیان ژن lasI در سودوموناس آئروژینوزا تحت تاثیر غلظت sub-MIC مورین نشان داد که بیان ژن lasI در گروه تیمار شده نسبت به گروه غیرتیمار شده ۱/۱۳- برابر کاهش یافته است (P<۰/۰۵).

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه، باکتری سودوموناس آئروژینوزا در ۲۰ درصد موارد جداسازی شد. در مطالعه‌ای سودوموناس آئروژینوزا به عنوان شایع‌ترین عامل عفونت زخم از بیماران در بخش سوختگی بیمارستان به میزان ۳۱ درصد تعیین شد.[۱۶] همچنین در مطالعه دیگری سودوموناس آئروژینوزا به میزان ۲۱/۶ درصد به عنوان شایع‌ترین باکتری جداسازی شده از زخم سوختگی گزارش شد.[۱۷]

در مطالعه حاضر همه ۱۲ ایزوله حامل ژن lasI و ژن lasR و ۲۵ درصد ایزوله‌ها حامل ژن rhlI بودند. در مطالعه‌ای هیچکدام از ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا بررسی شده ژن rhlI را حمل نکردند و تنها ۵ ایزوله از ۱۲ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا از نظر وجود ژن rhlI مثبت ارزیابی شدند.[۱۸] در مطالعه‌ای فراوانی ژن rhlI در ۶۷ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا مورد در کنار سایر عوامل ویرولانس بررسی شد و ۳۶ ایزوله (۵۳/۷ درصد) ایزوله‌ها حمل کننده این ژن بودند. در مطالعه‌ای نشان داده شده جهش حذفی در ژن crc از رامنولیپید سودوموناس آئروژینوزا به طور قابل توجهی فراوانی و ثبات پروتئین RhlI را کاهش داده و باعث می‌شود که QS کاهش یابد.[۱۹] این موضوع همانند مطالعه حاضر می‌تواند دلیلی بر فقدان ژن rhlI در ۹ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا باشد.

بررسی خاصیت ضدمیکروبی مورین علیه سودوموناس آئروژینوزا نشان داد که این ماده دارای خاصیت ضدمیکروبی قابل توجهی علیه این باکتری است و غلظت Sub-MIC مورین در باکتری سبب کاهش بیان ژن lasI در سودوموناس آئروژینوزا شد که مشابه یافته مطالعه Woźnicka و همکاران[۲۰] است. Woźnicka و همکاران فعالیت آنتی‌باکتریال کوئرستین و مورین را در مقابل شش سویه باکتری اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی قرار دادند و با استفاده از روش‌های دیسک دیفیوژن و مایکرودایلوشن اعلام نمودند که مورین دارای خاصیت ضدمیکروبی بسیار قوی است و مطابق گزارش آنها بیشترین اثر مهاری در مقابل سویه استافیلوکوکوس اورئوس (MIC=3/9µg/ml) بود.[۲۰] در مطالعه انجام شده دیگری توسط Woźnicka و همکاران خاصیت ضدمیکروبی مورین علیه باکتری‌های گرم منفی و مثبت به روش میکروبراث دایلوشن بررسی شد و نتایج نشان داد مورین علیه باکتری‌های گرم منفی فعال و دارای خاصیت ضدمیکروبی است؛ اما علیه باکتری‌های گرم مثبت فاقد خاصیت ضدمیکروبی بود.[۲۱] در مطالعه Amin و همکاران اثر سینرژیستی روتین، مورین، کوئرستین با آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین در برابر استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین بررسی شد. نتایج نشان داد مورین به تنهایی دارای خاصیت ضدمیکروبی نیست؛ ولی در ترکیب با روتین (یک پیگمان فلاونوئیدی گیاهی) و آنتی‌بیوتیک دارای خاصیت سینرژیستی و ضدمیکروبی است.[۲۲] تفاوت در زمینه خاصیت ضدمیکروبی در آن مطالعه با مطالعه حاضر می‌تواند به این دلیل باشد که مورین بر روی میکروارگانیسم‌های مختلف متفاوت عمل می‌کند.

در مطالعه آقاملایی و همکاران به ارزیابی ژن lasI سیستم کوروم سنسینگ در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا پرداخته شد. نتایج نشان داد ۱۰۰ درصد ایزوله‌ها دارای ژن lasI بودند.[۲۳] مطالعات در زمینه خاصیت ضد QS مورین بسیار محدود گزارش شده است. در مطالعه سیوارانجانی و همکاران که بر روی خاصیت ضدمیکروبی، ضدفاکتورهای ویرولانس و ضد QS مورین انجام شد؛ نتایج نشان داد مورین دارای خاصیت ضدمیکروبی است و به طور قابل توجهی باعث کاهش فاکتورهای ویرولانس می‌شود. از طرفی بررسی‌های آنها مشخص نمود مورین توانایی مهار تولید QS را دارا بوده و این ترکیب را به عنوان یک ترکیب امیدبخش برای کنترل QS معرفی نمودند.[۱۳] در مطالعه Chemmugil و همکاران خاصیت ضدکوروم سنسینگ مورین علیه ایزوله‌های استافیلوکوکوس ائوروس مقاوم به متی‌سیلین و ونکومایسین بررسی شد. نتایج نشان داد مورین دارای خاصیت ضدمیکروبی ضعیفی علیه ایزوله‌های استافیلوکوکوس ائوروس مقاوم به متی‌سیلین و ونکومایسین است؛ اما با مهار کوروم سنسینگ خاصیت قوی ضد QS نشان داد.[۲۴] نتایج بدست آمده از مطالعات فوق در زمینه خاصیت ضدکوروم سنسینگ مورین با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر مطابقت داشت.

با توجه به این که مکانیسم عمل مورین و نیز اثرگذاری بر روی سیستم ایمنی مشخص نیست؛ انجام مطالعات بیشتر بر روی حیوانات آزمایشگاهی پیشنهاد می‌گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که مورین دارای خاصیت ضدمیکروبی و ضد QS قابل توجهی علیه سودوموناس آئروژینوزا است. لذا مورین می‌تواند به عنوان گزینه مناسبی برای درمان زخم‌های عفونی ناشی از سودوموناس آئروژینوزا مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه (شماره ۴۸۶) خانم ثمین بابازاده برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته میکروبیولوژی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق بود. بدین‌وسیله تشکر خود را از دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق به خاطر حمایت‌های تکنیکی اعلام می‌داریم.

References

1. Rasamiravaka T, Labtani Q, Duez P, El Jaziri M. The formation of biofilms by Pseudomonas aeruginosa: a review of the natural and synthetic compounds interfering with control mechanisms. Biomed Res Int. 2015; 2015: 759348. DOI: 10.1155/2015/759348
2. Bodelón G, Montes-García V, López-Puente V, Hill EH, Hamon C, Sanz-Ortiz MN, et al. Detection and imaging of quorum sensing in Pseudomonas aeruginosa biofilm communities by surface-enhanced resonance Raman scattering. Nat Mater. 2016 Nov; 15(11): 1203-11. DOI: 10.1038/nmat4720
3. Rampioni G, Schuster M, Greenberg EP, Zennaro E, Leoni L. Contribution of the RsaL global regulator to Pseudomonas aeruginosa virulence and biofilm formation. FEMS Microbiol Lett. 2009 Dec; 301(2): 210-17. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2009.01817.x
4. Kiaei S, Moradi M, Hosseini Nave H, Hashemizadeh Z, Taati-Moghadam M, Kalantar-Neyestanaki D. Emergence of co-existence of blaNDM with rmtC and qnrB genes in clinical

carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae isolates in burning center from southeast of Iran. Folia Microbiol (Praha). 2019 Jan; 64(1): 55-62. DOI: 10.1007/s12223-018-0630-3

5. De Kievit TR, Gillis R, Marx S, Brown C, Iglewski BH. Quorum-sensing genes in Pseudomonas aeruginosa biofilms: their role and expression patterns. Appl Environ Microbiol. 2001 Apr; 67(4): 1865-73. DOI: 10.1128/AEM.67.4.1865-1873.2001

6. Drenkard E. Antimicrobial resistance of Pseudomonas aeruginosa biofilms. Microbes Infect. 2003 Nov; 5(13): 1213-19. DOI: 10.1016/j.micinf.2003.08.009

7. Chaudhry WN, Concepción-Acevedo J, Park T, Andleeb S, Bull JJ, Levin BR. Synergy and Order Effects of Antibiotics and Phages in Killing Pseudomonas aeruginosa Biofilms. PLoS One. 2017 Jan; 12(1): e0168615. DOI: 10.1371/journal.pone.0168615

8. Mohebi S, Hossieni Nave H, Norouzi A, Kandehkar Gharaman M, Taati Moghadam M. [Detection of Extended Spectrum Beta Lactamases on Class I Integron in Escherichia coli Isolated from Clinical Samples]. J Mazandaran Univ Med Sci. 2016; 26(138): 66-76. [Article in Persian]

9. Ebrahimpour M, Nikokar I, Ghasemi Y, Sedigh Ebrahim-Saraie H, Araghian A, Farahbakhsh M, et al. [Antibiotic resistance and frequency of class 1 integrons among Pseudomonas aeruginosa isolates obtained from wastewaters of a burn center in Northern Iran]. Ann Ig. 2018 Mar-Apr; 30(2): 112-19. DOI: 10.7416/ai.2018.2202

10. Shariati A, Asadian E, Fallah F, Azimi T, Hashemi A, Yasbolaghi Sharahi J, et al. Evaluation of Nano-curcumin effects on expression levels of virulence genes and biofilm production of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from burn wound infection in Tehran, Iran. Infect Drug Resist. 2019 Jul; 12: 2223-35. DOI: 10.2147/IDR.S213200

11. Sadeghi Dosari A, Norouzi A, Taati Moghadam M, Satarzadeh N. [Antimicrobial Activity Of Ephedra Pachyclada Methanol Extract On Some Enteric Gram Negative Bacteria Which Causes Nosocomial Infections By Agar Dilution Method]. Zahedan J Res Med Sci. 2016 Nov; 18(11): e4015. DOI: 10.17795/zjrms-4015

12. Caselli A, Cirri P, Santi A, Paoli P. Morin: A Promising Natural Drug. Curr Med Chem. 2016; 23(8): 774-91. DOI: 10.2174/0929867323666160106150821

13. Sivaranjani M, Gowrishankar S, Kamaladevi A, Pandian SK, Balamurugan K, Ravi AV. Morin inhibits biofilm production and reduces the virulence of Listeria monocytogenes - An in vitro and in vivo approach. Int J Food Microbiol. 2016 Nov; 237: 73-82. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.021

14. Hadizadeh M, Norouzi A, Taghadosi R, Mohebi S, Mohammadi M, Hasanzadeh A, et al. Prevalence of qnr, intI, and intII genes in extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Escherichia coli isolated from clinical samples in Iran. Trop J Pharm Res 2017; 16(1): 141-47. DOI: 10.4314/tjpr.v16i1.18

15. Moradi M, Norouzi A, Taati moghadam M. [Prevalence of bla-CTX-M, bla-SHV, and bla-TEM Genes and Comparison of Antibiotic Resistance Pattern in Extended-spectrum β-lactamase producing and non-producing groups of Klebsiella pneumoniae Isolated from Clinical Samples in Kerman Hospitals]. J Advanced Biomed Sci. 2016; 6(1): 120-28. [Article in Persian]

16. Hodaei MS, Dakhili M, Khalifeh Gholli M. [Identification and Pattern of Antibiotic Bacterial Sensitivity and Resistance in Patients in the Nekoi Hospital of Gom City in 1395]. Applied Biology. 2020; 9(35): 1-10. [Article in Persian]

17. Nasser S, Mabrouk A, Maher A. Colonization of burn wounds in Ain Shams University Burn Unit. Burns. 2003 May; 29(3): 229-33. DOI: 10.1016/s0305-4179(02)00285-1

18. Sabharwal N, Dhall S, Chhibber S, Harjai K. Molecular detection of virulence genes as markers in Pseudomonas aeruginosa isolated from urinary tract infections. Int J Mol Epidemiol Genet. 2014 Oct; 5(3): 125-34.

19. Yang N, Ding S, Chen F, Zhang X, Xia Y, Di H, et al. The Crc protein participates in down-regulation of the Lon gene to promote rhamnolipid production and rhl quorum sensing in Pseudomonas aeruginosa. Mol Microbiol. 2015 May; 96(3): 526-47. DOI: 10.1111/mmi.12954

20. Woźnicka E, Kuźniar A, Nowak D, Nykiel E, Kopacz M, Gruszecka J, et al. Comparative study on the antibacterial activity of some flavonoids and their sulfonic derivatives. Acta Pol Pharm. 2013 May-Jun; 70(3): 567-71.

21. Woźnicka E, Zapała L, Pieniążek E, Kosińska-Pezda M, Ciszkowicz E, Lecka-Szlachta K, et al. Synthesis, characterization and antibacterial studies of Tm(III), Yb(III) and Lu(III) complexes of morin. Journal of Coordination Chemistry. 2017; 70(8): 1451-63. DOI: 10.1080/00958972.2017.1291935

22. Amin MU, Khurram M, Khattak B, Khan J. Antibiotic additive and synergistic action of rutin, morin and quercetin against methicillin resistant Staphylococcus aureus. BMC Complement Altern Med. 2015 Mar; 15: 59. DOI: 10.1186/s12906-015-0580-0

23. Aghamollaei H, Azizi Barjini K, Moosazadeh Mogaddam M. [Rapid Detection of Pseudomonas Aeruginosa by PCR Method Using Specific Primers of Quorum Sensing LasI gene]. Armaghane-danesh. 2013; 18(9): 722-35. [Article in Persian]

24. Chemmugil P, Lakshmi PTV, Annamalai A. Exploring Morin as an anti-quorum sensing agent (anti-QSA) against resistant strains of Staphylococcus aureus. Microb Pathog. 2019 Feb; 127: 304-15. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.12.007