جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسی اثر استرس های محیطی بر روی ویژگیهای فنوتیپیک و خواص بیوشیمیایی *Pseudomonas aeroginosa* ATCC 27853

آزیتا تیشه یار [۱]، نور امیر مظفری [۲]، محمد فائزی قاسمی [۳]، سروش فلک رو [۴]

۱ و ۳. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده علوم، گروه میکروبیولوژی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶ .

۲. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، گروه میکروب شناسی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۶۱۸۳-۱۴۱۵۵

۴. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، واحد سما، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۹۶-۴۴۱۴۵

faezi_m@yahoo.com

چکیده

در این تحقیق اثر یک سری شرایط استرسی شامل حرارت، غلظت های قند، نمک کلرید سدیم، اتانول و فلزات سنگینی همچنین شرایط اسیدی به میزان های مختلف روی باکتری *Pseudomonas aeroginosa* 27853 ATCC بررسی شد. متعاقب کشت در شرایط استرس به مدت ۲۰ دقیقه، رشد بر روی محیط بِلاد آگار، زنده ماندن یا نماندن باکتری با کشت در محیط های پایه اولیه و محیط های کشت افتراقی انجام و تغییرات آن بررسی گردید. مشاهده میکروسکوپی بعد از رنگ آمیزی گرم، تغییرات مورفولوژیک را مشخص نمود. شرایط استرس اثرات زیادی روی خصوصیات فنوتیپیک و ویژگیهای بیوشیمیایی سودوموناس نشان داد. ماکزیمم درجه حرارتی که این باکتری تحمل می نماید °C ۸۵ است. این باکتری در شرایط اسیدی تا pH=3 و در شرایط قلیایی تا pH= 12 دارای تحمل است .غلظت اتانول تا ۵۵٪ تحمل می کند. مقاومت باکتری در برابر فلزات سنگین بر حسب درصد به ترتیب برای $CoCl_2$ تا ۰/۷٪ و $HgCl_2$ تا ۰/۷٪ است. غلظتهای تا ۳۵٪ قند سوکروز و NaCl قادر به از بین بردن سودوموناس نگردید. مقاومت بالا می تواند دلیل اصلی مشکلات ایجاد شده توسط این باکتری در عفونت های بیمارستانی باشد.

کلمات کلیدی: استرس، *Pseudomonas aeroginosa* ATCC 27853، ویژگیهای فنوتیپیک و بیوشیمیایی.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

همه ارگانیزمها اعم از آرکی باکترها، یوباکترها، مخمرها، گیاهان، مهره داران و بی مهره گان، در سطح سلولی به شرایط نامطلوب و استرس ها پاسخ می دهند، که این پاسخ به صورت بیان تعدادی از ژنهای خاص می باشد (۱ و۲).

در بسیاری از میکروارگانیزمها، قرار گرفتن در معرض یک استرس با دوز کمتر از حد کشندگی، مقاومت به استرس کشنده ای از همان نوع را باعث می شود (پاسخ تطابقی) و یا حتی این مقاومت را در برابر استرس های دیگر ایجاد می کند (پاسخ حفاظتی متقاطع). همچنین مشخص شد که فاکتور به نام سیگما B، مسئول القای ژن کد کننده پروتئینهای استرس می باشد که به دنبال استرسهای حرارتی، اتانولی، نمکی، اسیدی یا فقر غذایی و انرژی سلولی رخ می دهد (۱۱). حدود ۲۵ سال پیش فاکتور سیگما B در باکتریها شناخته شد، محققین در حین مطالعه بر روی باکتری باسیلوس سوبتیلیس متوجه شدند که فاکتور سیگما هیچ دخالتی در اسپور سازی ندارد و به دلیل ایجاد استرس در باکتری تولید می شود، بعدها معلوم شد که فاکتور سیگما B در سایر باکتریها هم وجود دارد و بیش از ۱۵۰ پروتئین از ژن عمومی استرس در ارتباط با رگولون سیگما B شناسایی گردید (۶و ۷). اولین پروتئینهایی که در این رابطه با ایجاد استرس شناسایی شدند پروتئینهای شوک حرارتی بودند (۳).

سودوموناس آئروژینوزا باکتری هوازی، گرم منفی، متعلق به خانواده سودوموناسه ها بوده، در محیط های آزمایشگاهی که تنها دارای منبع کربن و نیتروژن می باشد به راحتی رشد می کند. به عوامل فیزیکی مقاومت دارد از جمله حرارت و غلظتهای زیاد نمک، مواد ضد عفونی کننده، در مورد آن ضعیف عمل کرده، به اکثر آنتی بیوتیکها مقاوم می باشد و آنتی بیوتیکهایی چون فلوروکوئی نولونها، جنتامایسین، ایمی پنم ها تا حدودی بر روی این باکتری موثر هستند (۹ و ۱۵). این باکتری دارای توکسین های لیپوپلیساکاریدی[1] اگزو آنزیم S، اگزو توکسین A می باشد (۱۵).این باکتری بین ۱۰ تا ۲۰ درصد آلودگی های بیمارستانی را سبب شده و یک میکروب بیمارستانی است (۴). از جمله بیماریهایی که سودوموناس ایجاد می کند می توان به اندوکاردیت (آماس غشاء درونی قلب)، آلودگی تنفسی (سینه پهلو)، بیماریهای خونی (سودوموناس تقریباً در ۲۵% از موارد بیماریهای خونی گزارش شده دیده شده است)، آلودگی دستگاه عصبی مرکزی، آلودگی های معدی و روده ای، آلودگیهای بافت نرم شامل پیودرم و التهاب پوست، آلودگی گوش (ورم مخاطی گوش بیرونی)، ورم قرنیه، آلودگیهای استخوانی، آلودگیهای مجاری ادراری (که معمولاً در بیمارستان ها اکتسابی است) اشاره کرد. سودوموناس سومین علت عفونت های ادراری (UTIs) در بیمارستانها می باشد(۱۴ و ۵). سودوموناس در بیماران مبتلا به سرطان، سیستیک فیبروزیس و سوختگی، بستری در بیمارستانها یک مسئله جدی است و شدت کشندگی در این بیماران ۵۰ % است (۴).

در چندین سال گذشته پاسخ به استرس ها در میکروارگانیسم های مانند *Escherichia coli* مطالعه شده است (۲ و۸). از آنجا که اکثر میکروبها دوره زیادی از حیات خود را در مقابل استرس های محیطی می

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

گذرانند، اطلاعات و یافته های بیشتری در مورد استرس و پاسخهای استرس برای دانستن کامل فیزیولوژی میکروبها بیماریها، راهکارهای جدید در کشاورزی، روشهای جدید بهداشت غذایی و همینطور عوامل جدید ضد میکروبی گردد. از اینرو مطالعه پاسخهای استرسی یک بحث از تحقیقات بیولوژیک، پزشکی و کاربردی خواهد بود (۸ و ۲). از آنجاییکه سودوموناس آئروژینوزا جزء باکتریهای بیماریزای مهم بخصوص در بیمارستان ها محسوب می شود و می تواند عفونتهای زیادی را سبب شود و به دلیل فقدان اطلاعات لازم در مورد اثر این پارامترهای استرسی بر روی این باکتری از این رو هدف این تحقیق بررسی عواملی می باشد که بتواند بیماریزایی این باکتری را کاهش دهد. لازم به ذکر است که در رابطه با سودوموناس آئروژینوزا و انواع پارامترهای استرسی که بر روی آن در ایران تحقیقی بدین گونه انجام نشده است.

مواد و روش ها

سویه میکروبی و محیط های کشت

سویه سودوموناس آئروژینوزاATCC 27853 از مرکز کلکسیون قارچها و باکتریهای صنعتی عفونی ایران تهیه گردید. سایر محیطهای کشت شامل مک کانکی آگار، MR-VP، تریپتیکاز سوی آگار، تریپتیکاز سوی براث (TSB)، SIM، سیمون سیترات، تریپل شوگر آیرون آگار (TSI)، اوره، نیترات براث، EMB، بلاد آگار همگی از شرکت مرک تهیه شدند.

کشت و بررسی اثرات استرسی بر روی باکتریها

کشت اولیه باکتری لیوفیلیزه روی محیط کشت نوترینت براث انجام پذیرفت. کشت نهایی روی محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار (TSA) و تریپتیکاز سوی براث (TSB) انجام پذیرفت. برای انجام شرایط استرسی ابتدا کشت ۲۴ ساعته از باکتری سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853 در 37° C بدست آمد.

در مرحله بعد ۱ میلی لیتر به لوله های آزمایشی که دارای ۵ میلی لیتر TSB بود اضافه شد و در شرایط استرسی قرار گرفت. در هر مرحله نمونه شاهد در شرایط بدون استرس استفاده گردید. برای استرس اتانول، این ترکیب در غلظت های ۵ تا ۶۰ درصد استفاده گردید. برای قند سوکروز، از غلظت های ۵ تا ۳۵ درصد استفاده شد. جهت بررسی اثر دما از دامنه حرارتی ۴۵ تا ۹۵ درجه سانتی گراد با تناوب ۵ درجه سانتیگراد استفاده شد.

اثر شرایط استرسی اسیدی

برای بررسی شرایط اسیدی ابتدا در یک ارلن مایر حاوی محیط TSB ارزش pH را با اسید کلردریک یک مولار به ۶ رسانده شد.

سپس ۳۰ میلی لیتر از این محیط در ۶ لوله هر کدام دارای ۵ میلی لیتر محیط انتقال داده شد. بطور مجدد به مابقی محیط اسیدکلریدریک یکمولار اضافه و pH به ۵ رسیده شد. این کار ادامه پیدا کرد و به ترتیب در ۲، ۳، ۴ و ۵ لوله محیط کشت با pH های ۲/۵، ۳، ۴ و ۵ تنظیم شد. این ۲۱ لوله اتوکلاو و در ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت. از کشت یک شبانه روزه باکتری رقت مناسب (OD_{600}=1) تهیه و پس از سانتریفیوژ ۱ میلی لیتر از قسمت رسوب به لوله های محیط کشت دارای pH=6 اضافه گردید. پس از گذشت ۱۰ دقیقه لوله ها سانتریفیوژ گردید و رسوب ۵ لوله دارای pH=5 تلقیح و همگن شد. یک رسوب باقیمانده به محیط

کشت TSB دارای pH=7 منتقل شد. این کار تا رسیدن pH به ۱/۵ انجام پذیرفت. پس از آن اثر شرایط استرسی مطالعه گردید.

اثر شرایط استرسی فلزات سنگین

استرس نمک $HgCl_2$

در این آزمایش، ابتدا در یک ارلن مایر که محیطTSB تهیه کرده، سپس رقتهای ۰/۱، ۰/۳، ۰/۷ و ۱ درصد را به ترتیب در ۴، ۳، ۲ و ۱ لوله تهیه کرده، سپس این ۱۰ لوله را اتوکلاو شده و در ۳۷ درجه سلیسیوس قرار داده شدند. از کشت یک شبه باکتریها سوسپانسیونی با رقت مطلوب (همانند آزمایشات قبلی OD600=1) تهیه کرده و پس از سانتریفیوژ آنها به مدت ۲۰ دقیقه در ۲۰۰۰ دور، یک میلی لیتر از قسمت رسوب پایینی لوله را به هر کدام از ۱۳ لوله حاوی محیط با رقت ۰/۱ درصد افزوده و پس از گذشت ۲۰ دقیقه این لوله ها را سانتریفیوژ نموده، رسوب ۱۲ لوله به ۱۲ لوله با رقت ۰/۳ درصد تلقیح شده، همگن و یکنواخت کرده و یک رسوب باقیمانده به یک محیط TSB تلقیح گردید؛ به همین صورت این کار تا رسیدن به یک لوله با ۲/۸ درصد ادامه داده، این محیط را سانتریفیوژ نموده و رسوب آن را به محیط TSB تیمار نشده تلقیح گردید و تمامی محیط های TSB حاصل از این روش در ۳۷ درجه سلیسیوس گرما گذاری شده و برای سایر آزمایشات تکمیلی (همانند آنچه که در آزمایش اول به ان اشاره شد) آماده گردید.

استرس نمک $CoCl_2$

در این آزمایش، ابتدا در یک ارلن مایر که محیط TSB تهیه کرده، سپس رقتهای ۰/۱، ۰/۳، ۰/۷ و درصد را به ترتیب در ۴، ۳، ۲ و ۱ لوله تهیه کرده، سپس این ۱۰ لوله اتوکلاو شده و در ۳۷ درجه سلیسیوس قرار داده شدند. از کشت یک شبه باکتریها سوسپانسیونی با رقت مطلوب (همانند آزمایشات قبلی $OD_{600}=1$) تهیه کرده و پس از سانتریفیوژ آنها به مدت ۲۰ دقیقه در ۲۰۰۰ دور، یک میلی لیتر از قسمت رسوب پایینی لوله را به هر کدام از ۴ لوله حاوی محیط با رقت ۰/۱ درصد افزوده و پس از گذشت ۲۰ دقیقه این لوله ها را سانتریفیوژ نموده، رسوب ۳ لوله به ۳ لوله با رقت ۰/۳ درصد تلقیح شده، همگن و یکنواخت کرده و یک رسوب باقیمانده به یک محیط TSB تلقیح گردید؛ به همین صورت این کار تا رسیدن به یک لوله با ۱ درصد ادامه داده، این محیط را سانتریفیوژ نموده و رسوب آن را به محیط های TSB حاصل از این روش در ۳۷ درجه سلیسیوس گرماگذاری شده و برای سایر آزمایشات تکمیلی (همانند آنچه که در آزمایش اول به آن اشاره شد) آماده گردید.

نتایج

جدول ۲ اثر دماهای مختلف روی خصوصیات بیوشیمیایی باکتری *Pseudomonas aeroginosa* ATCC 27853 را نشان می دهد. نتایج نشان می دهد که این باکتری تا حرارت ^{oC} ۸۵ را تحمل کرده و زنده می ماند و تغییری در خوصیات بیوشیمیایی آن دیده نمی شود.

جدول ۳ اثر pH های اسیدی مختلف روی خصوصیات بیوشیمیایی این باکتری را نشان می دهد. نتایج نشان می دهد که این باکتری تا pH=3 را تحمل کرده و در این شرایط

تولید گاز متوقف می گردد و بقیه خصوصیات بیوشیمیایی حفظ می گردد. جدول ۴ اثر غلظت های مختلف اتانول روی خصوصیات بیوشیمیایی باکتری را نشان می دهد. نتایج نشان می دهد که این باکتری تغییری در خصوصیات بیوشیمیایی آن دیده نمی شود فقط تولید گاز از غلظت بالای ۲۵ درصد در این باکتری متوقف می شود. جدول شماره ۵ اثر غلظت های مختلف قند سوکروز روی *Pseudomonas aeroginosa* ATCC 27853 را نشان باکتری سودوموناس استرس قندی را تا رقت ۳۵٪ که حد اشباع بود تحمل کرده و زنده ماند. نتایج نشان می دهد که این باکتری تغییری در خصوصیات بیوشیمیایی نشان نداده و فقط تولید گاز توسط آن متوقف می گردد. جدول شماره ۶ اثر غلظت های مختلف نمک کلرید کبالت را روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا نشان می دهد. نتایج نشان می دهد که این باکتری تا غلظت ۰/۷ درصد این نمک از خود مقاومت نشان می دهد. جدول شماره ۷ اثر غلظت های مختلف نمک کلرید جیوه را روی اینباکتری نشان می دهد. نتایج نشان می دهد که این باکتری تا غلظت ۰/۷ درصد این نمک نیز از خود مقاومت نشان می دهد و فقط تولید گاز در آن متوقف می گردد. فعالیت آنزیم اوره آز نیز در غلظت ۰/۷ متوقف گردیده است.

جدول ۱: خصوصیات بیوشیمیایی *Pseudomonas aeroginosa* ATCC 27853

MR	VP	TSI	سیمون سیترات	اوره	اندول	احیاء نیترات	حرکت	تولید گاز	لیزین دکربوکسیلاز
−	−	+	+	+	−	−	+	+	−

جدول ۲: اثرات استرسی دماهای مختلف بر روی *Pseudomonas aeroginosa* ATCC 27853

محیط کشت / دما	۴۵ oC	۵۰ oC	۵۵ oC	۶۰ oC	۶۵ oC	۷۰ oC	۷۵ oC	۸۰ oC	۹۵ oC
سیمون سیترات	+	+	+	+	+	+	+	+	−
لیزین دکربوکسیلاز	−	−	−	−	−	−	−	−	−
اوره	+	+	+	+	+	+	+	+	−
MR	−	−	−	−	−	−	−	−	−
VP	−	−	−	−	−	−	−	−	−
اندول	−	−	−	−	−	−	−	−	−
حرکت	+	+	+	+	+	+	+	+	−
احیاء نیترات	−	−	−	−	−	−	−	−	−
تولید گاز	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ = رشد　　− = عدم رشد

جدول ۳: اثرات استرسی pH های اسیدی مختلف بر روی صفات بیوشیمیایی

***Pseudomonas aeroginosa* ATCC 27853**

pH / محیط کشت	۶	۵	۴	۳	۲/۵
سیمون سیترات	+	+	+	+	−
لیزین دکربوکسیلاز	+	+	+	+	−
اوره	+	+	+	+	−
MR	−	−	−	−	−
VP	−	−	−	−	−
اندول	−	−	−	−	−
حرکت	+	+	+	+	−
احیاء نیترات	−	−	−	−	−
تولید گاز	+	+	+	−	−

جدول ۴: اثرات استرسی درصدهای مختلف اتانل بر روی صفات بیوشیمیایی

***Pseudomonas aeroginosa* ATCC 27853**

غلظت اتانول / محیط کشت	٪۵	٪۱۵	٪۲۵	٪۳۵	٪۴۵	٪۵۰	٪۵۵
سیمون سیترات	+	+	+	+	+	+	−
لیزین دکربوکسیلاز	−	−	−	−	−	−	−
اوره	+	+	+	+	+	+	+
MR	−	−	−	−	−	−	−
VP	−	−	−	−	−	−	−
اندول	−	−	−	−	−	−	−
حرکت	+	+	+	+	+	+	+
احیاء نیترات	−	−	−	−	−	−	−
تولید گاز	+	+	−	−	−	−	−

جدول ۵: اثرات استرسی درصدهای مختلف سوکروز بر روی صفات بیوشیمیایی
***Pseudomonas aeroginosa* ATCC 27853**

غلظتهای سوکروز / محیط کشت	٪۵	٪۱۰	٪۱۷	٪۲۴	٪۳۰	٪۳۲	٪۳۵
سیمون سیترات	+	+	+	+	+	+	+
لیزین دکربوکسیلاز	−	−	−	−	−	−	−
اوره	+	+	+	+	+	+	+
MR	−	−	−	−	−	−	−
VP	−	−	−	−	−	−	−
اندول	−	−	−	−	−	−	−
حرکت	+	+	+	+	+	+	+
احیاء نیترات	−	−	−	−	−	−	−
تولید گاز	−	−	−	−	−	−	−

جدول۶: اثرات استرسی درصدهای مختلف $CoCl_2$ بر روی صفات بیوشیمیایی
***Pseudomonas aeroginosa* ATCC 27853**

غلظتهای $CoCl_2$ / محیط کشت	٪۰/۱	٪۰/۳	٪۰/۷
سیمون سیترات	+	+	+
لیزین دکربوکسیلاز	−	−	−
اوره	+	+	−
MR	−	−	−
VP	−	−	−
اندول	+	+	+
حرکت	+	+	+
احیاء نیترات	−	−	−
تولید گاز	+	+	+

جدول ۷: اثرات استرسی درصدهای مختلف HgCl2 بر روی صفات بیوشیمیایی
***Pseudomonas aeroginosa* ATCC 27853**

غلظت $HgCl_2$ / محیط کشت	٪۰/۱	٪۰/۳	٪۰/۷
سیمون سیترات	+	+	+
لیزین دکربوکسیلاز	−	−	−
اوره	+	+	−
MR	−	−	−
VP	−	−	−
اندول	+	+	+
حرکت	+	+	+
احیاء نیترات	−	−	−
تولید گاز	−	−	−

بحث

در این تحقیق اثر یک سری شرایط استرسی شاملحرارت، غلظت های قند، نمک کلرید سدیم، اتانول وفلزات سنگینی همچنین شرایط اسیدی و قلیایی به میزان های مختلف روی باکتری *Pseudomonas aeroginosa* ATCC27853 بررسی شد. هر یک از استرس ها اثر متفاوتی در اندازهٔ سلول، شکل کلنی و خواص بیوشیمیایی باکتری داشتند.

در اثر استرس حرارتی باکتری های سودوموناس آئروژینوزای در ۵۵ درجهٔ سلیسیوس دارای اسیدهای چرب غیر اشباع فراوانتری می گردد. طی استرس سنتز اسیدهای چرب غیر اشباع خود را افزایش می دهد تا ٪۵۰ سیالیت غشاء را حفظ نماید و از متلاشی شدن سلول جلوگیری شود همانطور که در جدول ۲ ملاحظه می کنیم تا حدود زیادی به تغییرات ناشی از استرس دمایی مقاومت می کند و خصوصیات خود را حفظ می کند. همانطور که ذکر شد در اثر تغییرات مثلاً قندی (جدول ۵) در رقت ٪۳۰ فرم کوکسی گرفته ولی در حالی که کلنی های ریز می بینیم بعد از ۲۴ ساعت کلنی ها به فرم طبیعی در نمونه کشت داده شده، مشاهده شدند. یکی از جالب ترین تغییرات شکلی باکتری در اثر استرس حرارتی است که در بالا اشاره شد که این حالت سبب اختلاف بین باکتری با نمونه شاهد می شود، هر چند در رنگ آمیزی گرم به خوبی گرم منفی دیده می شوند. اگر چه پاسخ به استرسها برای زنده ماندن اکثر باکتریها در هنگام حضور استرس مهم است ولی برخی باکتریها به استرس هایی مانند pH و یا دمای غیر معمول و شدید به صورت یک انتخاب برای نوع زندگی خود توجه دارند، این باکتریها در شرایطی که سایر باکتریها کشته می شوند به خوبی رشد کرده و زنده می مانند. طی مطالعات جدیدی که روی باکتری گرم منفی *Agrobacterium tumefaciens* که یک پاتوژن گیاهی و ابزار مهمی برای نو ترکیبی ژنتیکی در گیاهان است، صورت گرفته؛ نشان داده شد که استرس گرمایی، اکسیداتیو و اسیدی

ملایم باعث القاء بیان ۹۷ پروتئین می گردد و این نتایج حاکی از آنست که اکثر این پروتئینهای القایی استرس، (۸۰ پروتئین از ۹۷ تا) برای تنها یک استرس، اختصاصی بوده و تنها ۱۰ پروتئین، در رابطه با رگولون عمومی استرس بوده اند (۱۲ و ۱۳).

به طور کل می توان بیان کرد پارامترهای شدید محیطی اثرات زیادی را روی اعمال فیزیولوژیک و خصوصیات فنوتیپی سودوموناس آئروژینوزا ATCC27853 نشان دادند .اگر این پارامترها بسیار شدید و به یکباره القاء شود باعث مرگ باکتری می شوند ولی اگر به کندی و در محدوده زمانی طولانی تری تاثیر گذار باشد اکثر باکتریها قادر به ترمیم بخشهای آسیب دیده بوده و رشد باکتریها از سر گرفته خواهد شد. با تاثیر استرسهای شدید محیطی بر روی این باکتری بر حسب نوع و شدت استرس وارده سبب شد که بسیاری از خصوصیات شکلی و کشتی و فیزیولوژیکی خود را از دست بدهد و با استفاده از این روشهای استرسی از جمله می توان سنجش ایمنی زایی باکتری بیماریزایی که پس از القای استرس ممکن است بیماریزایی خود را از دست داده باشد یا به حداقل رسیده باشد را بررسی کرد و بدست آورد. در مشاهدات ماکروسکوپی این باکتری دیده شد که در اثر استرس های شدید اتانولی و NaCl (خصوصیات بیوشیمیایی آنها در جدول شماره ۴ و ۶ آمده است) ادغام پوشش سلولی (دیواره و احتمالاً غشاء باکتری) و تشکیل توده های متصل بهم سلولی دیده می شود.

K.Nikaido و Aimes نشان دادند که در اثر تغییر دما یک پروتئین غشایی در *E.coli* ظاهر می شود، پروتئین متصل شونده به گلوتامات که ۲۴۰۰۰ دالتون وزن دارد و جزء جدیدی از یک سیستم انتقال هیستیدین با گرایش بسیار بالا بوده و حاصل ژن his P می باشد. بخشی از پروتئینهای اتصالی پری پلاسمی جزئی از سیستمهای انتقال مقاومت به استرس هستند مانند پروتئین M در *E.coli* ، متصل شونده به آلانین در یک باکتری گرمادوست و دو پروتئین انتقال دهندهٔ سوکسینات در *E.coli* (۱۰). در متجمع شدن باکتری ها با هم دارای نقش باشند.

سپاسگزاری

از آقای دکتر آسمار و دکتر قائمی برای راهنمایی ها و مشاور ه های صمیمانه شان تشکر می نمائیم. همچنین از سرکار خانم کتایون داستان مسئول آزمایشگاه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان سپاسگزاریم که در طول این دوران با شکیبایی بسیار آزمایش ها را دنبال کردند، تا به نتیجه ی مطلوب برسد.

منابع

1. Alberto, J. L. Macario, Marianne Lange, Birgitte, K. Ahring, and Everly Conway De Macario. 1999. Stress Genes and Proteins in the Archaea. Microbiol Mol Biol Rev, 63(4): 923–967.

2. Albert, G. Moat, John W.Foster, Michael P.Spector. 2002. Microbial physiology.
Fourth Edition, Wiley- Liss.pp. 582-567.

3. Borchiellini, C., N. Boury-Esnault, J. Vacelet, and Y. Le Parco. 1998. Phylogenetic analysis of the Hsp70 sequences reveals the monophyly of metazoa and specific pHylogenetic relationships between animals and fungi. Mol. Biol. Evol.pp. 15:647-655.

4. Botzenhart, K., and Ruden, H. 1997. Hospital infections caused by *seudomonas aeruginosa*. IN: Doring, G., et al, eds. Basic Research and Clinical Aspects of *Pseudomonas aeruginosa*. Antibiot. Chemother. pp. 39:1-15. Basel: Karger.

5. Bodey,G.P ., Bolivar, R ., Fainstein, V., Jadeja, L., Infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. J Clin Microbiol. 1996 Apr; pp. 34 (4):886-91 8815102.

6. Hecker M., Volker U., 2001. Generalstress response of *Bacillus subtilis* and
other bacteria. Mol. Microbiol 2001;pp. 44:35-91.

7. Hendrick, J. P., and F. U. Hartl. 1993. Molecular chaperone functions of heatshock
proteins. Annu. Rev. Biochem.pp. 62**:**349-384.

8. Juan L. Ramos, Maria- Trinidad Gallegos, Silvia Marques, Maria- Isabel Ramos-Gonzalez, Manuel Espinosa- Urgel and Ana Segura, Responses of Gram- negative bacteria to certain environmental stresors., doi: 1001016/s1369-5724 (00)00183-1, 23 March 2001 Elsevier Science Ltd.

9. Klibanov OM, Raasch RH, Rublein JC: Single versus combined antibiotic therapy for gram-negative infections. Ann Pharmacother 2004 Feb;pp. 38(2): 332-7

10. Lee, I. S., J. Lin, H. K. Hall, B. Bearson, and J. W. Foster. 1995, The stationaryphase
sigma factor s (RpoS) is required for a sustained acid tolerance response in virulent *Salmonella typhimurium*. Mol. Microbiol. pp. 17:155-167.

11. Morris JG. 1993 Mar. Bacterial shock responses. Endeavour. 17(1):2-6.

12. Price, C. W., P. Fawcett, H. Ceremonie, N. Su, C. K. MurpHy, and P. Youngman.
2001, Genome-wide analysis of the general stress response in *Bacillus subtilis*. Mol. Microbiol. pp. 41:757-774.

13. Ran Rosen, Knut Büttner, Roland Schmid, Michael Hecker and Eliora Z. Ron. 2001,
Stress-induced proteins of *Agrobacterium tumefaciens*. FEMS Microbiology Ecology, Pages 277-285.

14. Speert, D.P., 1999 *Pseudomonas aeruginosa* - phagocytic cell interactions. IN: Campa, M., et al, eds. *Pseudomonas aeruginosa* as an Opportunistic Pathogen. New York: Plenum Press, pp.163-181.

15. Todar's Online Textbook of Bacteriology, 2004, Pseudomonas aeruginosa, Kenneth
Todar University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology.pp.22-32.

Survey of a variety of environmental stress conditions on phenotypic and biochemical characteristics of *Pseudomonas aeroginosa* ATCC 27853

Tishehyar A.[*1] , Amirmozafari N.[2] , Faezi G.M. [3],Falakrou S.[4]

1,3- Islamic Azad University- Lahijan Branch, Faculty Of Science, Department of Microbiology, Lahijan, Iran, P.O. Box: 1616

2-Iran University of Medical Sciences, Department of Microbiology, Tehran, Iran, P.O. Box: 14155-6183

4- Islamic Azad University of Lahidjan- Sama Branch, Lahidjan, Iran, P.O. Box: 44145- 1696

Faezi_m@yahoo.com

Abstract

In this study a variety of environmental stresses such as temperature, different concentrations of sugars, sodium chloride, ethanol and heavy metals were studied on *Pseudomonas aeroginosa* ATCC 27853. Following exposure to different stress conditions for 20 minutes, growth patterns were studied on Blood Agar Medium. Also, viability of the bacterium on basal and differential media were studied. Microscopical studies showed significant changes on morphological and biochemical patterns. *P. aeruginosa* ATCC 27853 survived at temperature of 85°C. Maximum tolerance in acidic and basic pH were in value 3 and 12, respectively. This bacterium was resistant to ethanol concentration up to 55%. Maximum tolerance for selected heavy metals were 0.7% $CoCl_2$, 0.7% $HgCl_2$. It was able to survive at sucrose concentration up to 35%. The increasingly high level of resistance of the *Pseudomonas aeroginosa* to stressful conditions is the main reason for the high prevalence of this bacterium in hospital settings and it is contribution to nosocomial infections.

Key words: Stress, *Pseudomonas aeroginosa* ATCC 27853, Phenotypic and biochemical properties.