

تأثیر اگزوتوکسین A باکتری پسودوموناس آئروژینوزا بر شمارش گلبول‌های سفید در موش و مقایسه آن با بیماران سوختگی

چکیده:

مقدمه و هدف: باکتری پسودوموناس آئروژینوزا باسیل گرم منفی بوده که در طبقه‌بندی عضو خانواده پسودوموناسیه می‌باشد. این باکتری به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد ضد عفونی کننده شیمیایی مقاوم است و شایع‌ترین عامل ایجاد عفونت بیمارستانی در بیمارانی است که مدت ۱۰ روز یا بیشتر در بیمارستان بستری شده‌اند. این باکتری در بیماران سوختگی به صورت حاد سبب عفونت شده و موجب یکی از خطرناکترین و کشنده‌ترین عفونت‌های خونی به وسیله باکتری‌های گرم منفی می‌شود. این باکتری دارای اگزوتوکسین A بوده که با تأثیر بر فاکتور طویل سازی پروتئین II موجب توقف پروتئین سازی شده و باعث مرگ سلول‌ها می‌شود، همچنین با تأثیر روی گلبول‌های سفید و تغییر در عملکرد و تعداد آنها موجب نقص در سیستم ایمنی بیماران به خصوص بیماران سوختگی عفونی شده می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر اگزوتوکسین A باکتری پسودوموناس آئروژینوزا بر شمارش گلبول‌های سفید در موش و مقایسه آن با بیماران سوختگی بود.

مواد و روش‌ها: پژوهش حاضر یک تحقیق تجربی می‌باشد که در سال ۱۳۸۴ در بیماران سوختگی بستری در بیمارستان قطب‌الدین شیراز انجام شد. از بیماران سوختگی عفونی نمونه زخم گرفته شد و مواردی که دارای عفونت با باکتری پسودوموناس آئروژینوزا بودند وارد مطالعه شدند. از بیماران ذکر شده نمونه خون جهت شمارش گلبول‌های سفید و تفکیک آنها گرفته شد. در این مطالعه از ۱۰۰ فرد دارای سوختگی بدون عفونت شامل ۵۰ مرد و ۵۰ زن نیز خون‌گیری و گلبول‌های سفید آنها شمارش شد. باکتری سوش توکسینیک در محیط مایع کشت شده و بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون سانتریفوژ و مایع رویی آن جهت تخلیص اگزوتوکسین A مورد استفاده قرار گرفت، پس از تخلیص میزان پروتئین آن، معادل ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر جهت تزریق به موش تنظیم گردید. به ۵۰ سر موش سوری اگزوتوکسین فوق به روش درون رگی و به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر تزریق و پس از انکوباسیون‌های متفاوت از آنها خون‌گیری و شمارش گلبول‌های سفید انجام گرفت. شمارش گلبول‌های سفید جهت ۱۰ سر موش سوری نرمال به عنوان شاهد نیز انجام گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده به وسیله نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری تی زوجی و تی مستقل تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها: شمارش گلبول‌های سفید در موش چالش شده با اگزوتوکسین A کاهش معنی‌داری نسبت به شمارش در موش‌های نرمال نشان داد ($P < 0.05$). شمارش گلبول‌های سفید در مجموع بیماران عفونی نیز نسبت به شمارش در ۱۰۰ نمونه افراد طبیعی کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.001$). در تفکیک گلبول‌های سفید بیشترین کاهش مربوط به گلبول‌های سفید چند هسته‌ای بود.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه نشان داده شد که عفونت با باکتری پسودوموناس آئروژینوزا مولد اگزوتوکسین A موجب کاهش گلبول‌های سفید بیماران سوختگی و همچنین در موش‌های چالش شده با اگزوتوکسین A می‌شود، که تأثیر کاهنده این سم بر تعداد گلبول‌های سفید در شرایط بدن را نشان می‌دهد، همچنین می‌توان نتیجه گرفت که باکتری عامل عفونت در بیماران مورد تحقیق سوش توکسینیک مولد اگزوتوکسین A می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اگزوتوکسین A، پسودوموناس آئروژینوزا، عفونت در سوختگی

محسن نغماچی*

دکتر اصغر شریفی**

جمشید کهن طب***

* کارشناس ارشد میکروپزشناسی، دانشگاه علوم

پزشکی یاسوج، دانشکده پزشکی،

گروه میکروپزشناسی

** دکترای میکروپزشناسی، استادیار دانشگاه علوم

پزشکی یاسوج، دانشکده پزشکی،

گروه میکروپزشناسی

*** کارشناس ارشد میکروپزشناسی، استادیار دانشگاه

علوم پزشکی شیراز، دانشکده پزشکی، گروه

میکروپزشناسی

تاریخ وصول: ۱۳۸۷/۱۰/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۱۲/۱۹

مؤلف مسئول: محسن نغماچی

پست الکترونیک: naghmachi@yahoo.com

مقدمه

دارند و میزان بقاء در افرادی که با سوش‌های توکسیژنیک دچار بیماری می‌شوند و در سرم آنها مقادیر کافی از آنتی‌بادی اختصاصی علیه اگزوتوکسین A وجود دارد بیشتر است (۵ و ۳). یکی از سلول‌های تأثیرپذیر از اگزوتوکسین A به صورت ذکر شده در مطالب فوق گلبول‌های سفید هستند. با توجه به این که اگزوتوکسین A که از این باکتری ترشح می‌شود، می‌تواند بر روی گلبول‌های سفید تأثیر داشته باشد (۷ و ۶)، تغییر در عملکرد و تعداد گلبول‌های سفید موجب نقص در سیستم ایمنی بیماران به خصوص بیماران سوختگی عفونی شده با باکتری پseudomonas آئروژینوزا می‌شود.

بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر اگزوتوکسین A باکتری پseudomonas آئروژینوزا بر شمارش گلبول‌های سفید درموش و مقایسه آن با بیماران سوختگی بود.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر یک تحقیق تجربی می‌باشد که در سال ۱۳۸۴ در بیماران سوختگی بستری در بیمارستان قطب‌الدین شیراز انجام شد. نمونه‌های مورد بررسی شامل ۳۴ نمونه بیمار عفونت یافته با باکتری پseudomonas آئروژینوزا و ۱۰۰ نمونه از بیماران سوختگی فاقد عفونت که درصدهای متفاوتی از سوختگی داشتند بود. نمونه‌گیری هنگام تعویض

پseudomonas آئروژینوزا^(۱) باکتری گرم منفی از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی مقاوم به آنتی‌بیوتیک می‌باشد (۲ و ۱). یکی از خطرناک‌ترین و کشنده‌ترین عفونت‌های خونی در بین باکتری‌های گرم منفی عفونت خونی با باکتری پseudomonas آئروژینوزا می‌باشد (۱). این ارگانیزم قادر به تولید آنزیم‌های خارج سلولی شامل؛ الکالین پروتئاز، الاستاز، فسفولیپاز، سیتوتوکسین‌ها و اگزوتوکسین‌های A و S است که به این اگزوتوکسین‌ها اگزوتوکسین گفته می‌شود و موجب تخریب بافتی در سلول‌های میزبان شده و در نتیجه موجب تکثیر، تهاجم و آسیب به بافت‌های میزبان می‌شود (۴ و ۳). اگزوتوکسین A^(۲) به وسیله اغلب سوش‌های پseudomonas آئروژینوزا که از عفونت‌های بالینی جدا شده‌اند تولید شده که عملکرد آن مشابه با توکسین دیفتیری می‌باشد (۱). اگزوتوکسین A در پستانداران می‌تواند از انتقال ریوآدونوزین دی‌فسفات از نیکوتین آمید دی‌نوکلئوتید به فاکتور طولیل کننده II^(۳) (آنزیم مسئول مرحله طولیل شدن پلی‌پپتید که به وسیله ترکیب اگزوتوکسین غیر فعال می‌شود) جلوگیری کند. این ماده در آزمایشگاه سیتوتوکسیک و در بدن نکرورز دهنده است بنابر این هر دو نوع بیماری موضعی و عمومی را ایجاد می‌کند. اگزوتوکسین A در حیوانات آزمایشگاهی از جمله پریمات‌ها ایجاد شوک کشنده می‌نماید. سوش‌های مولد سم یا توکسیژنیک، بیماری بیشتری نسبت به سوش‌هایی که تولید سم نمی‌کنند

1-Pseudomonas Aeruginosa
2-Exotoxin A
3-Elongation Factor II

پانسمان با سواب استریل صورت گرفت و سواب نمونه را در لوله‌های حاوی سرم فیزیولوژی گذاشته و به آزمایشگاه انتقال داده شد تا جهت تشخیص باکتری پseudomonas آئروژینوزا و جداسازی آن مورد تست‌های بیوشیمیایی قرار گیرد.

همچنین از بیماران بستری نمونه خون برای شمارش گلبول‌های سفید و تفکیک آنها از یکدیگر گرفته شد. جهت مقایسه دامنه تغییرات گلبول‌های سفید در افراد عفونت یافته با باکتری پseudomonas آئروژینوزا نسبت به افراد سوختگی بدون عفونت با علم به این که ۴۹ درصد بیماران سوختگی مرد و ۵۱ درصد زن بودند، از ۱۰۰ فرد دچار سوختگی و بدون عفونت شامل ۵۰ مرد و ۵۰ زن نمونه خون گرفته و گلبول‌های سفید شمارش گردید.

۵۰ سر موش سوری ۲۲-۱۸ گرمی در گروه‌های پنج‌تایی انتخاب و به هر کدام ۰/۱ میلی‌لیتر اگزوتوکسین A خالص شده محلول در سرم فیزیولوژی که مقدار پروتئین آن ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود به صورت درون رگی تزریق شد، پس از گذشت زمان به میزان ۲-۱ ساعت هر بار از شبکه رترواریتال موش‌ها با لوله موئینه هپارینه خون گرفته شد و این نمونه‌ها با محلول تورک^(۱) رقیق شده و تعداد گلبول‌های سفید شمارش گردید.

پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام گردید و در کمیته اخلاق دانشگاه به تصویب رسید.

باکتری پseudomonas آئروژینوزا سوش توکسیژنیک PA103 از کشت ذخیره گروه باکتری و ویروس‌شناسی دانشکده پزشکی شیراز تهیه و روی محیط کشت تریپتیک‌سوی‌آگار به روش شیب‌دار کشت داده شد و به مدت زمان ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس محیط مایع تریپتیک‌سوی تهیه و باکتری‌ها در این محیط کشت داده شدند و در درجه حرارت ۳۲ درجه سانتی‌گراد بر روی شیکر به مدت زمان ۴۸ ساعت نگهداری گردید و سپس در دور ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی جدا شد. این مایع در ظرف استریل و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید و رسوب آن بیرون ریخته شد. مایع رویی تغلیظ گردید و از آن به عنوان سم خالص استفاده شد. این سم با آب مقطر رقیق و محلول دی‌اتیل‌آمینواتیل‌سلولز به آن اضافه گردید و سپس محلول کلرید سدیم ۰/۲۵ مولار و سولفات آمونیم اشباع شده ۷۰ درصد به آهستگی و بر روی شیکر مغناطیسی و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به این محلول اضافه شد تا اگزوتوکسین رسوب نماید.

رسوب حاصله با بافرترینس مخلوط و سپس روی ستون کروماتوگرافی قرار داده شد و قطعه‌های متفاوت در لوله‌های آزمایش جمع‌آوری و تغلیظ گردید، پس از استریل نمودن به وسیله فیلتر میلی‌پور حضور سم با آزمایش ایمونوالکتروفورز اندازه‌گیری

1-Turk Solution

شد و سپس سم تغلیظ شده در بافتریس به مدت ۴۸ ساعت دیالیز شد و پس از عبور از فیلتر در لوله‌های استریل در دمای ۲۰- سانتی‌گراد فریز و نگهداری شد. داده‌های جمع‌آوری شده به وسیله نرم‌افزار SPSS^(۱) و آزمون‌های آماری تی زوجی^(۲) و تی مستقل^(۳) تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها

نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق اگزوتوکسین در موش‌ها بر روی تعداد گلبول‌های سفید تأثیر داشته و تعداد آنها را کم می‌کند (جدول ۱). در این تحقیق شمارش گلبول‌های سفید پس از زمان‌های مختلف و بعد از تزریق اگزوتوکسین A خالص شده که در ۱ و ۲ ساعت پس از تزریق دارای

کاهش معنی‌داری نسبت به میانگین تعداد گلبول‌های سفید نرمال بود ($p < 0.05$). همچنین در شمارش گلبول‌های سفید در بیماران سوختگی عفونت یافته با پسوودوموناس آئروژینوزا این نتیجه حاصل شد که میانگین شمارش گلبول‌های سفید کل بیماران نسبت به میانگین شمارش ۱۰۰ نمونه متشکل از زن و مرد دچار سوختگی بدون عفونت کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.029$) (جدول ۲) در بررسی میانگین با دخالت دادن فاکتور جنس، میانگین شمارش در مردهای بیمار نسبت به مردهای بدون عفونت دارای کاهش معنی‌داری نبود (جدول ۳).

تفکیک گلبول‌های سفید نشان داد که میزان گلبول‌های سفید چند هسته‌ای به نسبت دیگر گلبول‌ها کاهش بیشتری را نشان می‌دهد.

جدول ۱: بررسی میانگین شمارش گلبول‌های سفید قبل و بعد از تزریق اگزوتوکسین A در ساعات‌های متفاوت در موش

میانگین شمارش قبل از تزریق، تعداد در میلی‌لیتر	میانگین شمارش ۱ ساعت پس از تزریق، تعداد در میلی‌لیتر	میانگین شمارش ۲ ساعت پس از تزریق، تعداد در میلی‌لیتر	سطح معنی داری
۱۴۲۰	۶۲۰	۸۲۰	$p < 0.05$

جدول ۲: مقایسه میانگین و انحراف معیار تعداد گلبول‌های سفید در بیماران دچار سوختگی آلوده به باکتری پسوودوموناس آئروژینوزا و بیماران سوختگی غیر آلوده (شاهد)

گروه	تعداد	انحراف معیار \pm میانگین	سطح معنی داری
بیمار	۳۴	6582 ± 20105	0.029
شاهد	۱۰۰	6582 ± 7415	

1-Statistical Package for Social Sciences

2- Paired t-test

3-Independent T-test

جدول ۳: مقایسه شمارش گلبول‌های سفید بیماران و افراد دچار سوختگی فاقد عفونت (شاهد) به تفکیک جنس

جنس	گلبول‌های سفید گروه	تعداد	انحراف معیار ± میانگین	سطح معنی داری
مرد	بیمار	۱۲	۶۸۱۷ ± ۲۱/۹۹	NS*
	شاهد	۵۰	۷۳۷۶ ± ۱۳/۱۴	
زن	بیمار	۲۲	۶۴۵۵ ± ۱۹/۳۳	۰/۰۱۶
	شاهد	۵۰	۷۴۶۴ ± ۱۴/۱۷	

*NS: Not Significant

بحث و نتیجه‌گیری

باکتری پسودوموناس آئروژینوزا یکی از عوامل ایجاد عفونت‌های بیمارستانی به خصوص در بیماران سوختگی می‌باشد، با توجه به این که اگزوتوکسین A که از این باکتری ترشح می‌شود می‌تواند بر روی گلبول‌های سفید تأثیر داشته باشد (۷ و ۶)، تغییر در عملکرد و تعداد گلبول‌های سفید موجب نقص در سیستم ایمنی بیماران به خصوص بیماران سوختگی عفونی شده با باکتری پسودوموناس آئروژینوزا می‌شود، بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر اگزوتوکسین A باکتری پسودوموناس آئروژینوزا بر شمارش گلبول‌های سفید در موش و مقایسه آن با بیماران سوختگی بود. الگوی نتایج در این تحقیق نشان داد که تزریق اگزوتوکسین A در موش‌ها بر روی تعداد گلبول‌های سفید تأثیر داشته و تعداد آنها را کم می‌کند. بررسی‌های هیراکاتا و همکاران^(۱) (۱۹۹۳) و میازاکی و همکاران^(۲) (۱۹۹۵) نشان می‌دهد که اگزوتوکسین A اثر کاهشی بر تعداد گلبول‌های سفید چند هسته‌ای دارد، بدین گونه که تعداد گلبول‌های

سفید چند هسته‌ای موش را در شرایط بدن کاهش می‌دهد (۷ و ۶).

همچنین مشخص شده که این اگزوتوکسین دارای اثرکشدگی بر روی گلبول‌های سفید چند هسته‌ای موش و انسان در شرایط آزمایشگاه می‌باشد و نیز اگزوتوکسین A از کشته شدن سلول‌های پسودوموناس آئروژینوزا به وسیله گلبول‌های سفید چند هسته‌ای در شرایط آزمایشگاه جلوگیری می‌کند (۷).

مشخص شده است که به کارگیری آنتی‌بادی مونوکلونال 3C7 ضد اگزوتوکسین A از کاهش گلبول‌های سفید چند هسته‌ای به وسیله اگزوتوکسین A در شرایط بدن و مرگ موش‌ها جلوگیری می‌کند (۷).

در تحقیقاتی که کوزوکی و همکاران^(۳) (۱۹۹۳) بر روی تأثیرات محافظتی آنتی‌بادی مونوکلونال ضد اگزوتوکسین A در موش‌های عفونت یافته به وسیله پسودوموناس آئروژینوزا تولید کننده اگزوتوکسین A

1-Hirakata et al
2-Miyazaki et al
3-Kohzuki et al

داشتند مشخص نمودند که تزریق آنتی‌بادی مونوکلونال 3C7، ۲ ساعت پس از عفونت، از مرگ موش‌ها در مقابل باکتری می‌به وسیله سوش توکسیژنیک اگزوتوکسین A محافظت نمی‌کند (۸)، اما در بررسی‌های انجام شده میازاکی و همکاران (۱۹۹۵) مشخص شد که تزریق آنتی‌بادی مونوکلونال باید ۲ ساعت قبل از عفونت انجام پذیرد تا دارای تأثیر مثبت خود یعنی محافظت از گلبول‌های سفید چند هسته‌ای و خنثی‌سازی اگزوتوکسین A و جلوگیری از مرگ موش‌ها در مقابل عفونت باکتری ایجاد شده با سوش توکسیژنیک باکتری پسودوموناس آئروژینوزا باشد (۷). در مطالعات اوشر و همکاران^(۱) (۲۰۰۲) مشخص شد که هرگاه سرم تازه انسانی حاوی گلبول‌های سفید چند هسته‌ای طبیعی با باکتری پسودوموناس آئروژینوزا سوش توکسیژنیک PA103 با دانسیته مشخص را به مدت ۲ ساعت انکوبه نماییم، علاوه بر کاهش دانسیته باکتری‌ها شاهد کاهش میزان گلبول‌های سفید چند هسته‌ای نیز می‌باشیم. در صورت افزودن اگزوتوکسین A به سرم کاهش دانسیته باکتریایی متوقف و میزان گلبول‌های سفید چند هسته‌ای کاهش می‌یابد، اما اگر در محیط آنتی‌بادی مونوکلونال 3C7 موجود باشد از بین رفتن گلبول‌های سفید چند هسته‌ای کاهش یافته و افزایش در مرگ باکتری‌ها مشاهده می‌شود که حاکی از نقش اگزوتوکسین A در پاتوژنز باکتری پسودوموناس آئروژینوزا می‌باشد (۱۱).

به طور کلی نتیجه‌گیری می‌شود که مقایسه شمارش گلبول‌های سفید در تزریق تجربی اگزوتوکسین A به موش‌ها و شمارش گلبول‌های سفید در انسان‌های عفونی با باکتری پسودوموناس آئروژینوزا کاهش در شمارش گلبول‌های سفید را نشان می‌دهد که تأثیر کاهنده این سم بر تعداد گلبول‌های سفید در شرایط بدن را نشان می‌دهد همچنین می‌توان نتیجه گرفت که باکتری عامل عفونت در بیماران مورد تحقیق سوش توکسیژنیک مولد اگزوتوکسین A می‌باشد. با توجه به تأثیر اگزوتوکسین A باکتری مورد نظر پیشنهاد می‌شود فعالیت‌هایی بر پایه ساخت واکسن ایمنی بخش و بدون اثرات جانبی ضد این سم انجام پذیرد .

تقدیر و تشکر

بدین وسیله مراتب سپاس و قدردانی خود را از مساعدت و همکاری پرسنل بخش‌ها و آزمایشگاه بیمارستان قطب‌الدین شیرازی اعلام می‌دارم.

Effect of *Pseudomonas aeruginosa* Pure Exotoxin A on Mice WBC in Comparison with Human WBC Contaminated by *Pseudomonas aeruginosa*

Naghmachi M^{*},
Sharifi A^{**}, ...
Kohanteb J^{***}

^{*}MSc in Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

^{**}Assistant Professor of Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

^{***}MSc in Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

KEYWORDS:

Exotoxin A,
Pseudomonas aeruginosa,
Burn infection.

Received: 29/12/2008

Accepted: 09/03/2009

Corresponding Author: Naghmachi M
Email: naghmachi@yahoo.com

ABSTRACT

Introduction & Objective: *Pseudomonas aeruginosa* is a gram negative bacterial. This bacterium is resistant to many antibiotics and chemical disinfectants. *Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic bacteria and caused infection in skin, external ear, upper respiratory tract, large intestine and is an important bacteria in nosocomial infections. It causes acute infection in burn disease. This bacterium can produce exotoxin A and effect on elongation factor II and can stop protein synthesis. The aim of this study was to evaluate the effect of exotoxin A on mice WBC and comparison of the results with human WBC that contaminated with *Pseudomonas aeruginosa*.

Materials & Methods: This is an experimental study which was conducted in 1384 on burn disease patients referred to Shiraz Ghotbodini hospital. Sample that contaminated with PA was taken from these patients for WBC count and WBC differentiation. Sample was also taken from 100 burn patients without infection (50 male and 50 female). Toxigenic strain of PA103 was cultured on liquid media and used for purification of exotoxin A. This sample was injected to 50 mice (I.V) and after different incubation time, WBC was counted. Ten normal mice was used as control. Collected data analyzed by SPSS.

Results: WBC count decreased in mice that received *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A in comparison with normal mice ($P < 0.05$). WBC count was significantly decreased in burn patients in comparison with normal individuals ($P < 0.029$) and most decrease was belonged to PMN.

Conclusion: The results demonstrated that *Pseudomonas aeruginosa* that produce exotoxin induce WBC decrease in burn disease and also in mice that contaminated with exotoxin of this bacteria. It can be concluded that bacterial infection in burn patients is toxigenic strain of PA that produce exotoxin A.

REFERENCES:

1. Bahador A, Alikhani MY, Mansouri SH, PiriDoghae H, Taheri Kalani M. Walker microbiology. Pseudomonas. 5th ed. Tehran: Dibage Publisher; 1386; 251-262.
2. Nadernasab M, Rashed T, Vazem M. Gram negative nonferment bacteria. 2th ed. Mashhad: Astanegodserazavi Publisher; 1375; 117-9.
3. Braunwald E, Hauser SL, Fauci AS, Longo DL, Kasper DL, Jameson JL. Harrison's Principles of internal medicine translated by. In: Sina SH, Mirzadeh S, Haghazali M, Parva P, Behpour AR. Diseases due gram negative bacteria. 1st ed. Iran: Samat Publisher; 1998; 433-446. Sharp J, Zurarleff JJ, Korvick JA, Muder R. Antibiotic therapy for Pseudomonas aeruginosa bacteremia outcome correlations in a prospective study of 200 patients. AMJ Med 1989; 87: 540-6.
5. Jawetz ZE, Melnik J, Adelberg EA. Medical Microbiology. 20th ed. USA: California Appleton and Lang; 1995; 218-21.
6. Hirakata Y, Furuya N, Tateda K, Kacu M, Yamaguchi K. In vivo production of exotoxin A and its role in endogenous Pseudomonas aeruginosa septicemia in mice. Infect Immun 1989; 61: 2468-73.
7. Miyazaki SH, Matsumoto T, Tateda K, Ohno A, Yamaguchi K. Role of exotoxin A in inducing severe Pseudomonas aeruginosa infections in mice. Journal of Medical Microbiology 1995; 43: 169-75.
8. Kohzaki T, Eguchi Y, Kato M. Protective activity of anti exotoxin A monoclonal antibody against mice infected with toxin-producing Pseudomonas aeruginosa. J Infect Dis 1993; 17: 119-25.
9. Cross AS, Sadoff JC, Iglewski BH, Sokol PA. Evidence for the role of toxin A in the pathogenesis of human infection with Pseudomonas. J Infect Dis 1980; 142: 538-46.
10. Goldberg JB, Plerg B. Pseudomonas aeruginosa lipopolysaccharide and pathogenesis. Trends Microbiology 1996; 4: 490-4.
11. Usher LR, Lawson RA, Geary I, Taylor CJ, Bingle CD, Taylor GW, Whyte MK. Induction of neutrophil apoptosis by the Pseudomonas aeruginosa exotoxin pyocyanin: a potential mechanism of persistent infection. J Immunol 2002; 168(4): 1861-8.
12. Jenkins CE, Swiatoniowski A, Issekutz AC, Lin TJ. Pseudomonas aeruginosa exotoxin A induces human mast cell apoptosis by a caspase-8 and -3-dependent mechanism. J Biol Chem 2004; 279(35): 37201-7.