

Prevalence rate of resistance to ciprofloxacin among clinical *Pseudomonas Aeruginosa* isolates in Kurdistan province, west of Iran

Safoura Derakhshan¹, Aslan Hosseinzadeh², Manouchehr Ahmadi Hedayati³, Daem Roshani⁴

1. Assistant Professor, Liver and Digestive Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran, (Corresponding Author), Tel: +98-87-33664651. Email: s.derakhshan@muk.ac.ir. ORCID ID: 0000-0003-3978-014X

2. MSc, Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0002-9629-751X

3. Assistant Professor, Liver and Digestive Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0003-0654-8918

4. Associate Professor, Social Determinants of Health Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0003-4746-1114

ABSTRACT

Background and Aim: Infection by drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* causes important therapeutic problems. The present study was performed to investigate the antibiotic susceptibility and prevalence of antimicrobial resistance genes in *P. aeruginosa*.

Materials and Methods: In this cross sectional study, 61 clinical *P. aeruginosa* isolates were collected in Sanandaj between April and September 2017. Isolates were examined by disk diffusion method to determine susceptibility to 8 antibiotics and by polymerase chain reaction to detect the presence of extended-spectrum beta lactamase *bla*_{CTX-M} gene and plasmid-mediated quinolone resistance determinants, *qnrA*, *qnrB*, and *qnrS*. We also evaluated the effect of resistance to quinolones on cross resistance to other antibiotics. We used descriptive statistics for data analysis.

Results: Meropenem showed the highest susceptibility rate (88.5%), followed by piperacillin (85.2%), ceftazidime and amikacin (80.3%, each), imipenem (77%), cefepime (73.8%), ciprofloxacin (49.2%), and gentamicin (39.3%). Among 61 isolates, 32.8% showed multidrug resistance. Ciprofloxacin-resistant isolates had cross resistance to gentamicin (93.5%), cefepime (45.2%), ceftazidime and imipenem (38.7%, each), amikacin (35.5%), piperacillin (29%), and meropenem (22.6%). We detected *qnrS* in three isolates (4.9%). *bla*_{CTX-M}, *qnrB* and *qnrA* were not identified.

Conclusion: Our results suggested that ciprofloxacin may not be effective against *P. aeruginosa*. According to our knowledge, this is the first report of presence of *qnr* in *P. aeruginosa* from Kurdistan which highlights the need for continuous monitoring for prevention of the transmission of *qnr*.

Keywords: Antibiotic resistance, Beta- lactamase, *Pseudomonas aeruginosa*, Quinolone

Received: June 30, 2019

Accepted: Sep 2, 2019

How to cite the article: Safoura Derakhshan, Aslan Hosseinzadeh, Manouchehr Ahmadi Hedayati, Daem Roshani. Prevalence rate of resistance to ciprofloxacin among clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Kurdistan Province, west of Iran. SJKU 2020; 24 (6): 56-67

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBY-NC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

میزان شیوع مقاومت به سیپروفلوکساسین در میان ایزوله‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا جدا شده در استان کردستان، غرب ایران

صفورا درخشان^۱، اصلان حسین زاده^۲، منوچهر احمدی هدایتی^۳، دائم روشنی^۴

۱. استادیار، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران، تلفن ثابت: ۰۸۷-۳۳۶۶۴۶۵۱، پست الکترونیک: s.derakhshan@muk.ac.ir، کد ارکید: ۰۱۴X-۳۹۷۸-۰۰۰۳-۰۰۰۰

۲. کارشناسی ارشد، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۷۵۱X-۹۶۲۹-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۳. استادیار، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۸۹۱۸-۰۶۵۴-۰۰۰۳-۰۰۰۰

۴. دانشیار، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثر بر سلامت، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۱۱۱۴-۴۷۴۶-۰۰۰۳-۰۰۰۰

چکیده

زمینه و اهداف: عفونت توسط سودوموناس آئروژینوزای مقاوم به دارو، مشکلات درمانی مهمی ایجاد می‌کند. مطالعه حاضر برای بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی و شیوع ژن‌های مقاومت ضد میکروبی در سودوموناس آئروژینوزا انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی، ۶۱ ایزوله سودوموناس آئروژینوزای بالینی در سنندج بین فروردین تا شهریورماه ۱۳۹۶ جمع‌آوری شد. ایزوله‌ها توسط روش انتشار از دیسک برای تعیین حساسیت به ۸ آنتی‌بیوتیک و توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای تعیین حضور ژن بتالاکتاماز وسیع الطیف *bla*_{CTX-M} و عوامل پلاسمیدی مقاومت به کینولون *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* بررسی شدند. ما همچنین اثر مقاومت به کینولون‌ها بر مقاومت متقاطع به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها را ارزیابی کردیم. برای تحلیل داده‌ها از آمار توصیفی استفاده کردیم.

یافته‌ها: مروپنم بالاترین میزان حساسیت را نشان داد (۸۸/۵٪) که توسط پیراسیلین (۸۵/۲٪)، سفنازیدیم و آمیکاسین (هر کدام، ۸۰/۳٪)، ایمپنم (۷۷٪)، سفپیم (۷۳/۸٪)، سیپروفلوکساسین (۴۹/۲٪) و جنتامیسین (۳۹/۳٪) دنبال شد. از ۶۱ ایزوله، ۳۲/۸٪ مقاومت به چند دارو را نشان دادند. ایزوله‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین، مقاومت متقاطع به جنتامیسین (۹۳/۵٪)، سفپیم (۴۵/۲٪)، سفنازیدیم و ایمپنم (هر کدام، ۳۸/۷٪)، آمیکاسین (۳۵/۵٪)، پیراسیلین (۲۹٪) و مروپنم (۲۲/۶٪) داشتند. *qnrS* را در ۳ ایزوله (۴/۹٪) شناسایی کردیم. *bla*_{CTX-M}، *qnrB* و *qnrA* شناسایی نشدند.

نتیجه‌گیری: نتایج ما پیشنهاد می‌کند که سیپروفلوکساسین ممکن است مقابل سودوموناس آئروژینوزا مؤثر نباشد. مطابق دانش ما، این اولین گزارش حضور *qnrS* در سودوموناس آئروژینوزا از کردستان است که نیاز به نظارت مستمر برای جلوگیری از انتقال *qnrS* را توصیه می‌کند.

کلمات کلیدی: مقاومت آنتی‌بیوتیکی، بتالاکتاماز، سودوموناس آئروژینوزا، کینولون

وصول مقاله: ۹۸/۴/۹ اصلاحیه نهایی: ۹۸/۶/۹ پذیرش: ۹۸/۶/۱۱

مقدمه

گزارش شده‌اند. باکتری‌های تولید کننده ESBL به علت مقاومت به بیشتر داروهای موجود یک مشکل جهانی در بهداشت عمومی هستند (۸).

عوامل ضد میکروبی با فعالیت قابل اطمینان در برابر عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا، به تنها چند آنتی‌بیوتیک در سه طبقه دارویی محدود می‌شوند که شامل بتالاکتام‌ها، فلوروکینولون‌ها و آمینوگلیکوزیدها می‌شود. در میان این آنتی‌بیوتیک‌ها، فلوروکینولون‌ها یک طبقه مهم هستند، زیرا آن‌ها دارای خواص مطلوب دارویی و قابلیت جذب خوراکی بالا هستند (۴). با این حال، استفاده گسترده از این کلاس در سال‌های اخیر، مقاومت به فلوروکینولون‌ها را افزایش داده است، که این امر موجب چالش جدی در درمان عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا شده است. مهم‌تر از همه، مقاومت به فلوروکینولون‌ها ممکن است با میزان بالای مقاومت به سایر کلاس‌های دارویی ضد سودوموناسی، یعنی بتالاکتام‌ها و آمینوگلیکوزیدها همراه باشد و سویه‌ها می‌توانند علاوه بر فلوروکینولون‌ها به سایر گروه‌های آنتی‌بیوتیکی نیز مقاومت متقاطع نشان دهند که به این سویه‌ها، سویه‌های مقاوم به چند دارو یا MDR (Multidrug resistant) می‌گویند (۴). بررسی‌ها نشان داده است که یکی از فاکتورهای خطر مستقل برای کسب فنوتیپ MDR، مقاومت به سیپروفلوکساسین است که با توجه به تعداد محدود داروهای ضد سودوموناسی، نشان‌دهنده اهمیت از دست رفتن تاثیر فلوروکینولون‌ها است (۱). به عنوان مثال در مورد آنتی‌بیوتیک‌های گروه بتالاکتام، ۶۷٪ و ۳۷٪ سویه‌های مقاوم به فلوروکینولون می‌توانند به سفنازیدیم و ایچی‌پنم، به ترتیب مقاومت متقاطع نشان داده و همچنین در مطالعات مختلف، ۶۶٪ تا ۵۸٪ سویه‌های مقاوم به فلوروکینولون، مقاومت متقاطع را به آنتی‌بیوتیک گروه آمینوگلیکوزیدی جنتامیسین نشان داده‌اند (۹ و ۴).

اگر چه در ابتدا مقاومت به کینولون‌ها تنها کروموزومی در نظر گرفته شد؛ اما اولین عامل پلاسمیدی مقاومت به کینولون (Plasmid-mediated quinolone

سودوموناس آئروژینوزا یکی از شایع‌ترین و مهم‌ترین بیماری‌زاهای فرصت طلب گرم منفی است که طیف گسترده‌ای از عفونت‌ها مانند عفونت خون، ریه و عفونت‌های دستگاه ادراری، استخوان و مفصل یا بافت نرم را ایجاد می‌کند (۱). درمان عفونت‌های این باکتری به علت مقاومت ذاتی آن به طیف وسیعی از عوامل ضد میکروبی و همچنین توانایی بالا برای کسب مقاومت آنتی‌بیوتیکی به یک چالش بالینی تبدیل شده است (۲). سازمان بهداشت جهانی (World Health Organization, WHO) به تازگی سودوموناس آئروژینوزا را در میان بیماری‌زاهای بالاترین اولویت برای توسعه آنتی‌بیوتیک‌های جدید گروه‌بندی کرده است (۳). این شیوع بالای مقاومت، مشکلات درمانی مهمی ایجاد کرده که با میزان بالای بیماری و مرگ و میر همراه است (۴).

مکانیسم‌های مقاومت در برابر عوامل ضد میکروبی در سودوموناس آئروژینوزا شامل عواملی مانند بتالاکتامازها و دیگر آنزیم‌های تغییردهنده آنتی‌بیوتیک، اینتگرون‌ها، پمپ‌های دفعی یا افلوکس و پورین‌های غشای خارجی است (۲). بتالاکتامازهای وسیع الطیف (Extended-spectrum beta-lactamases, ESBLs) عمدتاً پلاسمیدی هستند که به استثنای سفامیسین و کرباپنم-ها باعث مقاومت به بتالاکتام‌ها می‌شوند. ESBL‌ها گروه متنوعی از بتالاکتامازها هستند که در میان آن‌ها گروه CTX-M در حال حاضر شایع‌ترین ESBL در بیشتر نقاط جهان است. آنزیم‌های CTX-M به طور عمده با خانواده انتروباکتریاسه مرتبط هستند، اما در حال حاضر در میان گونه‌های گرم منفی غیر انتروباکتریاسه (سودوموناس آئروژینوزا، اسیتوباکتر باثومانی و غیره) شناسایی شده‌اند. از زمان شناسایی اولین ایزوله سودوموناس آئروژینوزا دارای *bla*_{CTX-M} در جهان در سال ۲۰۰۶ (۵)، ایزوله‌های CTX-M مثبت سودوموناس آئروژینوزا در مناطق مختلف ایران با میزان شیوع صفر در زاهدان (۶) تا ۴۵/۸٪ در تهران (۷)

(PMQR, resistance) به نام *qnr*، در سال ۱۹۹۸ در یک ایزوله کلبسیلا پنومونیه گزارش شد (۱۰). سه گروه اصلی ژن‌های *qnr* شامل *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* شناسایی شده اند. Qnr پروتئین‌های با تکرار پنتاپپتیدی هستند که به آنزیم‌های DNA زیراز و توپوایزومراز IV متصل شده و بدین وسیله این آنزیم‌ها را از مهار با کینولون‌ها محافظت می‌کنند. از دیدگاه بالینی، اگرچه Qnr مقاومت سطح پایین را نسبت به کینولون ایجاد می‌کند؛ اما ممکن است باعث تسهیل ایجاد مقاومت سطح بالا در هنگام یا بعد از درمان با فلوروکینولون‌ها شود. بنابراین، ژن‌های پلاسמידی *qnr* می‌توانند موجب گسترش و افزایش شیوع سویه‌های مقاوم در برابر کینولون شوند (۱۱).

با توجه به اینکه با دانش ما، تاکنون گزارشی در توصیف شیوع آنزیم ESBL نوع CTX-M و پروتئین‌های Qnr در سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از شهر سنندج در کردستان وجود ندارد؛ هدف این بررسی، تعیین خصوصیات ایزوله‌های بیماری‌زای بالینی سودوموناس آئروژینوزا در کردستان، از جمله حساسیت ضد میکروبی و حضور ژن‌های *qnr* و *bla*_{CTX-M} و ارزیابی تأثیر مقاومت به فلوروکینولون‌ها روی مقاومت متقاطع به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها است.

روش بررسی

جداسازی و شناسایی باکتری‌ها: در این مطالعه توصیفی، از ماه فروردین تا شهریورماه ۱۳۹۶، مجموع ۶۱ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا از نمونه‌های مختلف بالینی بیماران بستری و سرپایی که به دو بیمارستان آموزشی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی کردستان با نام‌های بیمارستان توحید (۵۱۸ تخت خوابی) و بیمارستان بعثت (۴۰۰ تخت خوابی) در سنندج، ایران مراجعه کرده بودند، جمع‌آوری شد. سنندج، مرکز استان کردستان در غرب ایران است. ایزوله‌ها از عفونت مجاری ادراری ($n=44$)، تراشه ($n=10$)، خون ($n=5$)، مدفوع ($n=1$) و خلط ($n=1$) به دست آمدند. تعداد

ایزوله‌های به دست آمده از بیمارستان توحید ۳۳ ایزوله؛ بنابراین از بیمارستان بعثت ۲۸ ایزوله جمع‌آوری شد. همراه با جمع‌آوری ایزوله‌ها، اطلاعات دموگرافی بیماران شامل سن، جنس، نوع نمونه، سرپایی یا بستری بودن و همچنین بخش بستری بیماران تهیه شد.

ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا توسط ویژگی‌های بیوشیمیایی و میکروب‌شناسی مانند رنگ گرم منفی، تولید رنگ‌دانه، بوی شبیه انگور، تحرک، اندول منفی، اکسیداز مثبت، عدم تخمیر کربوهیدرات‌ها، آزمایش اکسیداسیون مثبت و تخمیر منفی در محیط اکسیداسیون/تخمیر (Oxidation/Fermentation, O/F) (ساخت شرکت Merck، آلمان)، جذب سترات در محیط سیمون سترات آگار (ساخت شرکت Merck، آلمان)، رشد در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد، اوره آز منفی، متیل رد و وژپروسکوئر منفی در محیط کشت متیل رد/ وژپروسکوئر (MR/VP)، (ساخت شرکت Merck، آلمان) شناسایی شدند (۱۲). ایزوله‌ها به صورت خالص در محیط تریپتیکاز سوی برات (ساخت شرکت Q-lab، آمریکا) حاوی ۱۵ درصد گلیسرول (برای کاهش اثرات مخرب کریستال‌های یخ روی باکتری‌ها) در دمای 70°C تا زمان انجام آزمایش ذخیره شدند.

ارزیابی حساسیت ضد میکروبی: آزمایش حساسیت به آنتی‌بیوتیک با استفاده از روش انتشار از دیسک در محیط مولر هینتون آگار (ساخت شرکت Q-lab، آمریکا) انجام شد و حساسیت سویه‌ها بر اساس دستورالعمل‌های موسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی ۲۰۱۷ (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) تعیین شد (۱۳). دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی (ساخت شرکت Rosco، دانمارک) از سه کلاس دارویی ضد سودوموناسی مورد بررسی قرار گرفت: بتالاکتام‌ها [ایمی پنم (۱۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفپیم (۳۰ میکروگرم) و پپراسیلین (۱۰۰ میکروگرم)]؛ آمینو گلیکوزیدها [آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)

جذب نوری ۲۶۰/۲۸۰ برای تعیین خلوص، به عنوان DNA الگو برای انجام آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت. نسبت جذب نوری ۲۶۰/۲۸۰ در طیف ۱/۸ تا ۲ نشان‌دهنده خلوص DNA است. بالای این طیف نشان‌دهنده آلودگی با پروتئین و پایین این طیف نشان‌دهنده آلودگی با RNA است (۱۵).

تکثیر ژن‌های *bla*_{CTX-M} و *PMQR* (*qnrA*، *qnrB* و *qnrS*) در حجم کلی ۲۵ میکرو لیتر حاوی بافر 1X PCR، ۱/۵ میلی مولار $MgCl_2$ ، ۰/۲ میلی مولار از هر dNTP، ۰/۴ میکرومولار از هر پرایمر، Taq پلی مراز (ساخت شرکت SinaClon، ایران) و ۳ میکرو لیتر DNA الگو انجام شد. تکثیر در دستگاه چرخاننده حرارتی DNA (ساخت شرکت Eppendorf، آلمان) به صورت زیر انجام شد: واسرشت اولیه (۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه)، به دنبال آن یک الگوی سه مرحله ای از واسرشت (۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه)، اتصال (۱ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۱ دقیقه) در مجموع ۳۵ چرخه انجام شد. یک گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد. فهرست پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده است.

محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد در بافر تریس- بورات اتیلن دی آمین تتراسیتیک اسید (Tris-borate ethylenediaminetetraacetic acid, DNA safe stain) (ساخت شرکت SinaClon، ایران) رنگ آمیزی شدند. یک لدر 100 bp Plus (ساخت شرکت SinaClon، ایران) نیز استفاده شد.

تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 16 (SPSS Inc.)، آمریکا) انجام شد. برای ارزیابی داده‌ها از آمار توصیفی استفاده شد.

و جنتامیسین (۱۰ میکرو گرم) و فلوروکینولون‌ها [سپروفلوکساسین (۵ میکرو گرم)]. ایزوله‌ها از محیط ذخیره بر روی محیط نوترینت آگار (ساخت شرکت Q-lab، آمریکا) کشت شده و به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. سپس یک کدورت استاندارد (نیم مک فارلند) در سرم فیزیولوژی از هر یک از ایزوله‌ها تهیه شد و پلیت‌های مولر هینتون آگار با کدورت استاندارد ایزوله‌ها توسط سواب‌های استریل تلقیح شدند. سپس دیسک‌های ضد میکروبی با فواصل حدوداً ۲۰ میلی متر روی محیط قرار داده شده و پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. قطر هاله‌های عدم رشد در اطراف دیسک‌ها بر حسب میلی متر اندازه‌گیری شده و بر اساس استانداردهای CLSI 2017 به عنوان مقاوم، حساس و یا حد واسط طبقه‌بندی شدند (۱۳). کنترل کیفی با استفاده از سودوموناس آئروژینوزا سویه ATCC27853 انجام شد. سویه‌های MDR به عنوان سویه‌های غیر حساس به حداقل یک عامل در سه یا بیشتر از سه طبقه ضد میکروبی تعریف شدند (۱۴).

استخراج DNA و شناسایی ژن‌های مقاومت توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (Polymerase chain reaction, PCR): DNA ژنومی از هر ایزوله سودوموناس آئروژینوزا توسط روش جوشاندن استخراج شد. به طور خلاصه، کشت‌های خالص شبانه از ایزوله‌ها در محیط تریپتیکز سوی براث سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ، بافر تریس- اتیلن دی آمین تتراسیتیک اسید (Tris-ethylenediaminetetraacetic acid, TE) به رسوب اضافه شد. سوپانسیون به دست آمده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شده و سپس سانتریفیوژ شد. مایع رویی، جمع‌آوری شده و پس از ارزیابی کیفی روی ژل آگارز ۱٪ (ساخت شرکت SinaClon، ایران) و ارزیابی کمی توسط اندازه‌گیری جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر و محاسبه نسبت

جدول ۱. پرایمرها و اندازه پیش بینی شده محصولات PCR

منبع	دمای اتصال (درجه سانتی گراد)	اندازه محصول (جفت باز)	توالی پرایمر (۳'-۵'*)	ژن هدف
(۱۶)	۵۶	۵۹۳	ATGTGCAGYACCAGTAARGT/ TGGGTRAARTARGTSACCAG	<i>bla</i> _{CTX-M}
(۱۷)	۵۶	۵۱۶	ATTTCTCACGCCAGGATTTG/ GATCGGCAAAGGTTAGGTCA	<i>qnrA</i>
(۱۷)	۵۸	۴۶۹	GATCGTGAAAGCCAGAAAGG/ ACGATGCCTGGTAGTTGTCC	<i>qnrB</i>
(۱۷)	۵۶	۴۱۷	ACGACATTCGTCAACTGCAA/ TAAATTGGCACCTGTAGGC	<i>qnrS</i>

* R: G/A, S: G/C, Y: C/T

یافته‌ها

از ۶۱ ایزوله، ۴۰ ایزوله (۶۵/۶٪) مقاوم به حداقل یک آنتی‌بیوتیک و ۲۰ ایزوله (۳۲/۸٪) MDR بودند؛ همچنین ۲۱ ایزوله (۳۴/۴٪) به تمام آنتی‌بیوتیک‌ها حساس بودند. تعداد ۲۳ الگوی مقاومتی در ۶۱ ایزوله شناسایی شد (جدول ۲) که این الگوها از مقاومت به تنها یک آنتی‌بیوتیک تا مقاومت در برابر تمام آنتی‌بیوتیک‌ها متغیر بودند. از ۶۱ ایزوله، ۸ ایزوله به یک آنتی‌بیوتیک (۱۳/۱٪)، ۱۱ ایزوله به دو آنتی‌بیوتیک (۱۸٪)، ۳ ایزوله به ۳ آنتی‌بیوتیک (۴/۹٪)، ۷ ایزوله به ۴ آنتی‌بیوتیک (۱۱/۵٪)، ۳ ایزوله به ۵ آنتی‌بیوتیک (۴/۹٪)، ۲ ایزوله به ۶ آنتی‌بیوتیک (۳/۳٪)، ۴ ایزوله به ۷ آنتی‌بیوتیک (۶/۵٪) و ۲ ایزوله به ۸ آنتی‌بیوتیک (۳/۳٪) مقاوم بودند.

از آنجا که بسیاری از سوبه‌های مقاوم به فلوروکینولون همچنین مقاومت به عوامل دیگر را نشان می‌دهند (۴)، فنوتیپ MDR در ایزوله‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین تعیین شد. از ۳۱ ایزوله مقاوم به سیپروفلوکساسین، ۱۹ ایزوله (۶۱/۳٪) MDR بودند، در حالی که در گروه ۳۰ ایزوله حساس به سیپروفلوکساسین تنها یک ایزوله (۳/۳٪) MDR بود. فراوان‌ترین الگوی شناسایی شده در دو گروه، مقاومت به جنتامیسین تعیین شد (جدول ۲). مقاومت هم‌زمان به سه کلاس دارویی ضدسودوموناسی (بتالاکتام، آمینو گلیکوزید و فلوروکینولون) در ۱۸ (۵۸/۱٪) از ۳۱ ایزوله مقاوم به سیپروفلوکساسین یافت شد و ۲۱ (۷۰٪) از ۳۰ ایزوله حساس به سیپروفلوکساسین، به همه آنتی‌بیوتیک‌ها حساس بودند.

در مجموع، ۶۱ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا بین فروردین تا شهریور ۱۳۹۶ از نمونه‌های بالینی مختلف بیماران مراجعه‌کننده به دو بیمارستان توحید و بعثت در شهر سنج در ایران جمع‌آوری شد. از ۶۱ ایزوله، ۴۵ ایزوله (۷۳/۸٪) از مردان و ۱۶ ایزوله (۲۶/۲٪) از زنان جمع‌آوری شدند. سه ایزوله (۴/۹٪) از بیماران سرپایی جدا شده و بنابراین ۵۸ ایزوله از بیماران بستری در بخش‌های مختلف شامل بخش‌های مردان (n=۲۷)، زنان (n=۱۰)، اورژانس (n=۱۰)، واحد مراقبت ویژه (Intensive Care Unit)، واحد مراقبت قلبی (ICU) (n=۵)، سرطان (n=۴) و مغز و اعصاب (n=۱) جمع‌آوری شد. میانگین سن بیماران تقریباً ۵۵ سال بود و بیشترین تعداد بیماران در گروه سنی ۴۰ تا ۴۹ سال قرار داشتند (۱۶ از ۶۱ بیمار (۲۶/۲٪)).

نتایج آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که ۵۴ از ۶۱ ایزوله (۸۸/۵٪) به مروپنم حساس بودند. از ۶۱ ایزوله، ۵۲ ایزوله (۸۵/۲٪) به پیراسیلین، ۴۹ ایزوله به سفنازیدیم و آمیکاسین (۸۰/۳٪، هر کدام)، ۴۷ ایزوله به ایمی‌پنم (۷۷٪) و ۴۵ ایزوله به سفپیم (۷۳/۸٪) حساسیت نشان دادند. اثربخشی کمتر برای جنتامیسین و سیپروفلوکساسین با میزان حساسیت ۳۹/۳٪ (۲۴ از ۶۱ ایزوله) و ۴۹/۲٪ (۳۰ از ۶۱ ایزوله) به ترتیب مشاهده شد.

جدول ۲. الگوی مقاومت ضد میکروبی در ۶۱ ایزوله بالینی سودوموناس آئروژینوزا

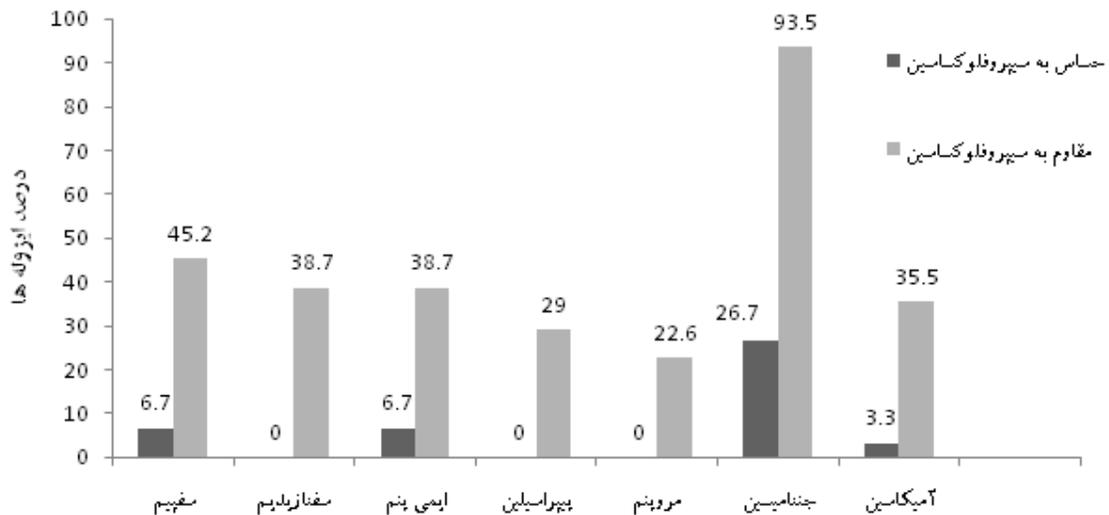
مقاومت به ^۱	در تمام ایزوله ها (n=۶۱)	در ایزوله های مقاوم به فلوروکینولون سیپروفلوکساسین (n=۳۱)	در ایزوله های حساس به فلوروکینولون سیپروفلوکساسین (n=۳۰)
PM	۱	۰	۱
GM	۶	۰	۶
CI	۱	۱	۰
GM- CI	۱۰	۱۰	۰
IP-GM	۱	۰	۱
AN-GM- CI	۱	۱	۰
GM-PI- CI (MDR) ^۲	۱	۱	۰
PM-GM-CI (MDR)	۱	۱	۰
AN- GM- PI-CI (MDR)	۱	۱	۰
TZ- PM- GM- CI (MDR)	۲	۲	۰
AN- IP- GM- CI (MDR)	۱	۱	۰
TZ- PM- GM- CI (MDR)	۱	۱	۰
PM- IP- MP- CI (MDR)	۱	۱	۰
AN- PM- IP- GM (MDR)	۱	۰	۱
AN-IP- MP- GM- CI (MDR)	۱	۱	۰
TZ- PM- IP- GM- CI (MDR)	۱	۱	۰
TZ- AN- PM- GM- CI (MDR)	۱	۱	۰
TZ- AN- IP- GM- PI- CI (MDR)	۱	۱	۰
TZ- AN- PM- IP- GM- CI (MDR)	۱	۱	۰
TZ- PM- IP- MP- GM- PI- CI (MDR)	۲	۲	۰
AN- PM- IP- MP- GM- PI- CI (MDR)	۱	۱	۰
TZ- AN- PM- IP- GM- PI- CI (MDR)	۱	۱	۰
TZ- AN- PM- IP- MP- GM- PI- CI (MDR)	۲	۲	۰
حساس به همه	۲۱	۰	۲۱

AN-۱: آمیکاسین؛ PM: سفیم؛ TZ: سفنازیدیم؛ CI: سیپروفلوکساسین؛ GM: جنتامیسین؛ IP: ایمی پنم؛ MP: مروپنم؛ PI: پیراسیلین

MDR-۲: عدم حساسیت به حداقل یک عامل در سه یا بیش تر از سه طبقه ضد میکروبی

فلوروکینولون سیپروفلوکساسین رخ داد (نمودار ۱). برای آمینوگلیکوزیدها، سویه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین، بیشترین مقاومت را به جنتامیسین (۹۳/۵٪) نشان دادند، در حالی که ۲۶/۷٪ از سویه‌های حساس به سیپروفلوکساسین، مقاوم به جنتامیسین بودند.

در میان عوامل بتالاکتام، سویه‌های مقاوم به فلوروکینولون سیپروفلوکساسین، بیشترین مقاومت متقاطع را به سفیم (۴۵/۲٪) نشان دادند که به دنبال آن سفنازیدیم و ایمی پنم (۳۸/۷٪، هر کدام) قرار گرفتند. در مقابل، مقاومت به یک عامل بتالاکتام میان ۶/۷٪ یا کمتر در سویه‌های حساس به



نمودار ۱. مقاومت ضد میکروبی در میان ایزوله‌های البینی حساس و مقاوم به فلوروکینولون سیپروفلوکساسین سودوموناس آئروژینوزا

عفونت‌های این باکتری شده است (۱). بر اساس نتایج ما، ایزوله‌های بررسی شده به طور کلی به بتالاکتام‌ها و آمینوگلیکوزیدها حساس بودند. نتایج مشابهی نیز در بررسی Badamchi و همکاران (سال ۲۰۱۷) بر روی ۸۴ ایزوله سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از کودکان با عفونت ادراری در تهران به دست آمد (۱۸)، در حالی که در بررسی Kashfi و همکاران (سال ۲۰۱۷) که بر روی ۶۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم سوختگی در تهران انجام شد، بیش از ۷۰٪ ایزوله‌ها به بتالاکتام و آمینوگلیکوزیدها مقاومت نشان دادند (۱۹). علی‌رغم حساسیت بالا به بتالاکتام‌ها و آمینوگلیکوزیدها، درصد نسبتاً بالایی از ایزوله‌های ما (۵۱٪) به فلوروکینولون سیپروفلوکساسین مقاوم بودند. نتایج متفاوتی در مورد میزان مقاومت سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا به سیپروفلوکساسین در ایران گزارش شده است که این وضعیت می‌تواند به علت مصرف متفاوت منطقه‌ای فلوروکینولون‌ها باشد. در مطالعه Badamchi و همکاران (سال ۲۰۱۷) در تهران بر روی ایزوله‌های جدا شده از عفونت ادراری، میزان مقاومت ۲۷٪ به

آزمایش PCR نشان داد که سه ایزوله از ۶۱ ایزوله (۴/۹٪)، دارای عامل پلاسمیدی مقاومت به کینولون از نوع *qnrS* بودند و هر سه ایزوله از مردان بستری در بیمارستان بعثت به دست آمدند. یکی از ۳ سویه دارای *qnrS* از نمونه تراشه یک بیمار ۴۳ ساله بستری در بخش ICU جدا شد و در برابر تمام آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی مقاوم بود. دو ایزوله دیگر دارای *qnrS* از ادرار دو بیمار ۴۶ و ۶۵ ساله جدا شدند که هر دو در بخش مردان بستری بودند. یکی از ایزوله‌ها فقط به آنتی‌بیوتیک‌های مروپنم و پیراسیلین حساس بود و دیگری به ایمنی پنم، مروپنم، پیراسیلین و آمیکاسین حساسیت نشان داد و به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بود. ژن ESBL نوع *bla_{CTX-M}* و دیگر ژن‌های PMQR بررسی شده یعنی *qnrA* و *qnrB* در هیچ ایزوله‌ای یافت نشدند.

بحث

سودوموناس آئروژینوزا یکی از شایع‌ترین بیماری‌زاهای گرم منفی است. از طرف دیگر، افزایش مقاومت ضد میکروبی باعث ایجاد نگرانی‌های جدی در درمان

تعداد ۱۱ ایزوله (۸/۴۵٪) دارای ژن *bla*_{CTX-M} بودند (۷). در بررسی ما، *CTX-M* در سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از سندج شناسایی نشد که این امر دلیل بر این است که ممکن است، مقاومت از طریق سایر راه‌ها به غیر از حضور *CTX-M* باشد. علاوه بر بتالاکتام‌ها، آمینوگلیکوزیدها و فلوروکینولون‌ها مؤثرترین عوامل بر علیه عفونت‌های سودوموناسی هستند. جذب خوراکی بالا و ویژگی‌های دارویی و ایمنی مطلوب، فلوروکینولون‌ها را یک عامل مناسب ضد سودوموناسی می‌کند (۴)؛ اما با استفاده گسترده از این کلاس، مقاومت در برابر فلوروکینولون‌ها در سال‌های اخیر به فراوانی گزارش شده است (۱). مقاومت به فلوروکینولون‌ها ممکن است توسط ژن‌های پلاسمیدی از نوع *qnr* ایجاد شود. تاکنون، تعداد کمی از مطالعات، حضور *qnr* را در سودوموناس آئروژینوزا گزارش کرده‌اند. در مطالعه Molapour و همکاران (سال ۲۰۱۹)، بر روی ۱۴۹ سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم سوختگی در تهران، هیچ ژن *qnr* یافت نشد (۲۳). در مطالعه Rajaei و همکاران (سال ۲۰۱۷)، از ۶۰ سویه سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه‌های بالینی در کرمان، *qnrA* در ۱۶/۷٪ ایزوله‌ها، *qnrB* در ۱۳/۳٪ و ژن *qnrS* در ۱۱/۷٪ ایزوله‌ها یافت شدند (۲۴). در کشور مصر Ali و همکاران (سال ۲۰۱۸)، *qnrA* را در ۳ ایزوله و *qnrS* را در ۱۴ ایزوله از ۹۲ ایزوله بالینی سودوموناس آئروژینوزا شناسایی کردند (۲۵). در بررسی ما، اگرچه تنها ۳ ایزوله از ۶۱ ایزوله دارای *qnrS* بودند؛ اما شناسایی و وجود ژن‌های پلاسمیدی PMQR یک ویژگی مهم است، زیرا آن‌ها باعث تسهیل انتخاب مکانیسم‌های مقاومت سطح بالا شده و باعث می‌شوند که باکتری‌ها به تدریج کاملاً به فلوروکینولون‌ها مقاوم شوند (۱۱). با دانش ما، این اولین توصیف از حضور ژن‌های PMQR در سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از کردستان است.

سیروفلوکساسین (۱۸) و در مطالعه Khosravi و همکاران (سال ۲۰۱۷) در اهواز که در آن تقریباً ۷۰ درصد ایزوله‌ها از زخم جدا شده بود، ۹۳٪ ایزوله‌ها به سیروفلوکساسین مقاوم بودند (۲۰). افزایش استفاده از فلوروکینولون‌ها هم در پزشکی و هم در دامپزشکی ممکن است مسئول افزایش مقاومت در برابر این عوامل باشد. همچنین با توجه به تاثیر مقاومت به فلوروکینولون‌ها بر مقاومت به سایر داروهای ضد میکروبی، روند افزایش مقاومت به فلوروکینولون‌ها ممکن است منجر به وضعیت خطرناکی شود که در آن سویه‌های MDR انتخاب شده و افزایش یابند. در مطالعه ما، ۳۲/۸٪ از ایزوله‌ها MDR بودند، در حالی که ۶۱/۳٪ از ایزوله‌های مقاوم به سیروفلوکساسین، MDR تعیین شدند. عفونت با ایزوله‌های MDR منجر به افزایش شدت بیماری و هزینه بیمارستان و محدود کردن انتخاب‌های درمانی شده که در نهایت می‌تواند درمان عفونت‌ها را پیچیده‌تر کند (۱). یکی از مکانیسم‌های ایجاد مقاومت ضد میکروبی در سودوموناس آئروژینوزا تولید ESBL‌ها است (۲). آنزیم‌های *CTX-M* در حال حاضر شایع‌ترین نوع ESBL در بسیاری از نقاط جهان می‌باشند (۸). ایزوله‌های *CTX-M* مثبت سودوموناس آئروژینوزا در مناطق مختلف ایران با میزان شیوع متفاوت گزارش شده‌اند. Peymani و همکاران (سال ۲۰۱۷) حضور ژن *bla*_{CTX-M} را در سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از بیمارستان‌های تهران و قزوین بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که از ۲۶۶ ایزوله، ۱۳ ایزوله (۴/۹٪) دارای ژن *bla*_{CTX-M} بودند (۲۱). Farshadzadeh و همکاران (سال ۲۰۱۴) در اهواز، شیوع ژن *bla*_{CTX-M} را در سودوموناس آئروژینوزا بررسی کردند و از ۱۸۵ ایزوله جدا شده از زخم بیماران سوختگی، فقط یک ایزوله (۰/۵٪) دارای ژن *bla*_{CTX-M} بود (۲۲). در مطالعه دیگری از ایران که توسط Alan و همکاران (سال ۲۰۱۶) انجام شد، از ۲۴ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه‌های مختلف بالینی در تهران،

آوری شدند، این مطالعه یافته‌های مهمی برای پزشکان دارد، زیرا موفقیت درمان تجربی عفونت سودوموناس آئروژینوزا بر پایه دانش و آگاهی از الگوهای منطقه‌ای حساسیت ضد میکروبی عامل بیماری‌زا است. از سوی دیگر، مقاومت به فلوروکینولون، نقش مهمی در ایجاد مقاومت به سمت دیگر عوامل ضد سودوموناسی دارد. این مشکل به دلیل تعداد محدود عوامل مؤثر بر ضد سودوموناس آئروژینوزا، پیچیده تر می‌شود. علاوه بر این، ما ظهور سودوموناس آئروژینوزای حامل ژن *qnr* را در کردستان توصیف کردیم. اگر چه میزان شیوع PMQR در مطالعه ما کم بود، با این حال درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط ایزوله‌های دارای ژن های PMQR، به دلیل توانایی بالای آن‌ها برای انتقال ژن-های مقاومت بین گونه‌های مختلف پیچیده تر می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته میکروبیولوژی حاصل شده و با حمایت مالی شماره [IR.MUK.REC.1395.292] از دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران انجام شده است. بدین وسیله از بخش میکروبیولوژی آزمایشگاه بیمارستان‌های بعثت و توحید سپاسگزاری به عمل می‌آید. کد اخلاق: این طرح توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کردستان با شماره IR.MUK.REC.1395.292 تصویب شده است

در حال حاضر، با توجه به تعداد محدود داروهای ضد سودوموناسی، از دست رفتن تأثیر فلوروکینولون‌ها یک نگرانی مهم است. مهم‌تر از همه، سویه‌های مقاوم به فلوروکینولون می‌توانند مقاومت متقاطع را به دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها نشان دهند (۱). از ۳۱ ایزوله مقاوم به سیپروفلوکساسین در مطالعه ما، ۹۳/۵٪ دارای مقاومت متقاطع به جنتامیسین، ۴۵/۲٪ به سفپیم، و ۳۸/۷٪ به سفنازیدیم و ایمپنم (هر کدام) بودند. برخی محققان نیز مقاومت بالا نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها را در میان سودوموناس آئروژینوزای مقاوم به فلوروکینولون گزارش کرده‌اند (۴ و ۹). در مطالعه Hsu و همکاران (سال ۲۰۰۵)، سویه‌های مقاوم به فلوروکینولون اغلب به سفنازیدیم (۶۷٪)، سفپیم (۶۲٪)، جنتامیسین (۵۸٪) و ایمپنم (۳۵٪) مقاومت متقاطع نشان دادند (۴). در مطالعه Neuhauser و همکاران (سال ۲۰۰۳)، سویه‌های مقاوم به فلوروکینولون، بیشترین مقاومت متقاطع را نسبت به جنتامیسین (۶۶٪)، سفنازیدیم (۳۹/۸٪) و ایمپنم (۳۷٪) نشان دادند (۹).

نتیجه‌گیری

مطالعه ما اطلاعات جدیدی را در مورد اپیدمیولوژی مولکولی مقاومت ضد میکروبی در میان ایزوله‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از کردستان در غرب ایران ارائه می‌کند. حدود نیمی از ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا به سیپروفلوکساسین مقاومت نشان دادند. با وجود اینکه ایزوله‌های بررسی شده، تنها از مناطق محدودی جمع

References

1. Gasink LB, Fishman NO, Weiner MG, Nachamkin I, Bilker WB, Lautenbach E. Fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: assessment of risk factors and clinical impact. *Am J Med.* 2006;119:e19- e25.
2. Ruiz-Martínez L, López-Jiménez L, Fusté E, Vinuesa T, Martínez J, Viñas M. Class 1 integrons in environmental and clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents.* 2011;38:398-402.
3. World Health Organization. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. 2017;27. Available from:

- <https://www.who.int/medicines/publications/global-priority-list-antibiotic-resistant-bacteria/en/>
- 4.Hsu DI, Okamoto MP, Murthy R, Wong-Beringer A. Fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors for acquisition and impact on outcomes. J Antimicrob Chemother. 2005;55:535-41.
 - 5.Al Naiemi N, Duim B, Bart A. A CTX-M extended-spectrum β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* and *Stenotrophomonas maltophilia*. J Med Microbiol. 2006;55:1607-8.
 - 6.Bokaeian M, Zahedani SS, Bajgiran MS, Moghaddam AA. Frequency of PER, VEB, SHV, TEM and CTX-M genes in resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* producing extended spectrum β -lactamases. Jundishapur J Microbiol. 2015;8: e13783.
 - 7.Alan TF, Goudarzi H, Fallah F, Hashemi A, Doustdar F, Bostan H. Detection of *bla*_{NDM}, *bla*_{DIM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM} and *bla*_{CTX-M-15} beta-lactamase genes among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* strains isolated from two hospitals of Tehran, Iran. Novel Biomed. 2016;4:153-8.
 - 8.Polotto M, Casella T, de Lucca Oliveira MG, Rúbio FG, Nogueira ML, de Almeida MT, et al. Detection of *P. aeruginosa* harboring *bla*_{CTX-M-2}, *bla*_{GES-1} and *bla*_{GES-5}, *bla*_{IMP-1} and *bla*_{SPM-1} causing infections in Brazilian tertiary-care hospital. BMC Infect Dis. 2012;12:176.
 - 9.Neuhauser MM, Weinstein RA, Rydman R, Danziger LH, Karam G, Quinn JP. Antibiotic resistance among gram-negative bacilli in US intensive care units: implications for fluoroquinolone use. Jama. 2003;289:885-8.
 - 10.Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. The Lancet. 1998;351(9105):797-9.
 - 11.Jiang Y, Zhou Z, Qian Y, Wei Z, Yu Y, Hu S, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance determinants *qnr* and *aac* (6)-Ib-cr in extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in China. J Antimicrob Chemother. 2008;61:1003-6.
 - 12.Tille P. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 13th ed. New York: Elsevier, 2015:336-43.
 13. Patel JB, Weinstein MP, Eliopoulos GM, Jenkins SG, Lewis JS, Limbago B, et al. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 27th edition (M100). Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017: 42-4.
 - 14.Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey R, Carmeli Y, Falagas M, Giske C, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect. 2012;18:268-81.
 - 15.Khare P, Raj V, Chandra S, Agarwal S. Quantitative and qualitative assessment of DNA extracted from saliva for its use in forensic identification. J Forensic Dent Sci. 2014;6:81-5.
 - 16.Pagani L, Dell'Amico E, Migliavacca R, D'Andrea MM, Giacobone E, Amicosante G, et al. Multiple CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases in nosocomial isolates of Enterobacteriaceae from a hospital in northern Italy. J Clin Microbiol. 2003;41:4264-9.
 - 17.Robicsek A, Strahilevitz J, Sahn D, Jacoby G, Hooper D. *qnr* prevalence in ceftazidime-resistant Enterobacteriaceae isolates from the United States. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50:2872-4.
 - 18.Badamchi A, Masoumi H, Javadinia S, Asgarian R, Tabatabaee A. Molecular detection of six virulence genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolates detected in children with urinary tract infection. Microb Pathog. 2017;107:44-7.

19. Kashfi M, Hashemi A, Eslami G, Amin MS, Tarashi S, Taki E. The prevalence of aminoglycoside-modifying enzyme genes among *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients. Arch Clin Infect Dis. 2017;12:e40896.
20. Khosravi AD, Motahar M, Montazeri EA. The frequency of class 1 and 2 integrons in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients in a burn center of Ahvaz, Iran. PloS one. 2017;12:e0183061.
21. Peymani A, Naserpour-Farivar T, Zare E, Azarhoosh K. Distribution of *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, and *bla*_{CTX-M} genes among ESBL-producing *P. aeruginosa* isolated from Qazvin and Tehran hospitals, Iran. J Prev Med Hyg. 2017;58:E155-E160.
22. Farshadzadeh Z, Khosravi AD, Alavi SM, Parhizgari N, Hoveizavi H. Spread of extended-spectrum β -lactamase genes of *bla*_{OXA-10}, *bla*_{PER-1} and *bla*_{CTX-M} in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients. Burns. 2014;40:1575-80.
23. Molapour A, Peymani A, Saffarain P, Habibollah-Pourzerehki N, Rashvand P. Plasmid-mediated quinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in Tehran, Iran. Infect Disord Drug Targets. 2019.
24. Rajaei S, Kazemi-Pour N, Rokhbakhsh-Zamin F. Frequency of plasmid-mediated quinolone resistance genes among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Kerman, Iran. Iran J Med Microbiol. 2017;11:10-18.
25. Ali SA, Hassan RM, Khairat SM, Salama AM. Plasmid-mediated quinolone resistance genes *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS* and *aac* (6')-Ib in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. Microbiol Res J Int. 2018:1-12.