

REP-PCR Genotyping and Antibiogram Pattern of Clinical Isolates of Pseudomonas aeruginosa in Shahid Mohammadi Hospital, Bandar Abbas, Iran

Foroogh Faridi^{1,2}, Sedigheh Javadpour^{3*}, Mohammad Kargar¹

¹Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran.

²Molecular Medicine Research Center, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.

³Infectious & Tropical Diseases Research Center, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.

*Corresponding Author:
Sedigheh Javadpour,
Infectious & Tropical Diseases Research Center, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.

Email:
sedigheh.javadpour@yahoo.com

Received: 9 Aug, 2015

Accepted: 21 Nov, 2015

Abstract

Background and Objectives: *Pseudomonas aeruginosa* is one of the multi-drug resistant pathogens and a cause of opportunistic nosocomial infections. Different methods have been used for investigating genetic diversity of *P. aeruginosa*. rep-PCR typing has been introduced as a rapid and low-cost method with high discriminatory power. The aim of this study was to investigate distribution, genotypic relatedness, and antibiotic resistance in clinical isolates of *P. aeruginosa*.

Methods: This cross-sectional study was conducted on 67 *P. aeruginosa* clinical isolates at Shahid Mohammadi Hospital, Bandar Abbas, Iran, between May 2012 and June 2013. Identification of strains and determination of antibiotic resistance pattern were conducted by conventional biochemical tests and Kirby-Bauer method, respectively. Genetic similarity was investigated by rep-PCR. The correlation between molecular types and antimicrobial resistance patterns was determined by Pearson's chi-square test. $p \leq 0.05$ was considered to be the level of significance.

Results: rep-PCR results exhibited seven genotypic clusters with 76% similarity. Genotypes A and C were the most prevalent types with 16 (23.8%) frequency. ICU had the most distribution and diversity of rep-PCR types. The majority of isolates were obtained from sputum (29.8%). Most isolates were resistant to cotrimoxazole (80.6%) and susceptible to ciprofloxacin (85.1%), as the most effective antibiotic.

Conclusion: The result of this study showed that *P. aeruginosa* rep-PCR types A and C were the predominant strains in the studied hospital. Because drug resistance is considered a serious challenge ahead for treatment of nosocomial infections, it is necessary to implement the guidelines of infection control to reduce *P. aeruginosa* infections.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*; Distribution; Microbial sensitivity Tests; Repetitive sequence, Nucleic acid.

ژنوتایپینگ سویه‌های کلینیکی سودوموناس آئروژینوزا با استفاده از تکنیک REP-PCR و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آنها در بیمارستان شهید محمدی بندرعباس

فروغ فریدی^۱، صدیقه جوادپور^{۲*}، محمد کارگر^۱

چکیده

زمینه و هدف: سودوموناس آئروژینوزا از پاتوژن‌های مهم با مقاومت چند دارویی و عامل عفونت‌های فرصت طلب بیمارستانی است. از روش‌های مختلفی، به منظور بررسی تنوع ژنتیکی سودوموناس آئروژینوزا استفاده می‌شود. تایپینگ با تکنیک REP-PCR به عنوان یک روش کم‌هزینه، سریع با قدرت تمایز بالا معرفی شده است. هدف از این مطالعه تعیین پراکندگی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ارتباط ژنوتیپی در ایزوله‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد.

روش بررسی: این مطالعه به صورت توصیفی - مقطعی بر روی ۶۷ سویه کلینیکی سودوموناس آئروژینوزا در بیمارستان شهید محمدی بندرعباس بین سالهای ۱۳۹۱-۱۳۹۲ انجام شد. شناسایی سویه‌ها بر اساس تست‌های بیوشیمیایی معمول و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش Kirby-Bauer صورت گرفت. شباهت ژنتیکی با تکنیک REP-PCR مورد بررسی قرار گرفت. ارتباط تایپینگ مولکولی و الگوهای حساسیت ضد میکروبی بر اساس آزمون پیرسون کای مربع تعیین شد. سطح معنی داری، $p \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج REP-PCR، هفت دسته ژنتیکی با شباهت ۷۶٪ را نشان داد. شایع‌ترین تیپ‌ها با فراوانی ۱۶ (۲۳/۸٪)، مربوط به کلاسترهای A و C گزارش شد. بیشترین تنوع و پراکندگی REP تیپ‌ها نیز متعلق به سویه‌های ICU بود. اکثر سویه‌ها از نمونه خلط (۲۹/۸٪)، جداسازی شدند و بیشتر سویه‌ها به کوتریموکسازول (۸۰/۶٪)، مقاوم بودند. سیپروفلوکساسین با حساسیت ۸۵/۱٪، مؤثرترین آنتی‌بیوتیک بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد سودوموناس آئروژینوزا متعلق به REP تیپ A و C، سویه‌های غالب در بیمارستان مورد بررسی بوده‌اند. لذا از آنجا که مقاومت دارویی در عفونت‌های بیمارستانی، مشکل جدی درمان است؛ اجرای دستورالعمل‌های کنترل عفونت، به منظور مهار و کاهش عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا، لازم و ضروری به نظر می‌رسد.

کلید واژه‌ها: سودوموناس آئروژینوزا؛ پراکندگی؛ آزمایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی؛ توالی تکراری، اسید نوکلئیک.

گروه میکروبی‌شناسی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران.

^۲ مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران.

^۳ مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران.

* نویسنده مسئول مکاتبات:

صدیقه جوادپور، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
sedigheh.javadpour@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۵/۱۸

تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۳۰

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Faridi F, Javadpour S, Kargar M. rep-PCR genotyping and antibiogram pattern of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Shahid Mohammadi Hospital, BandarAbbas, Iran. Qom Univ Med Sci J 2016;10(7):38-48. [Full Text in Persian]

مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا، باسیل گرم منفی غیر تخمیری و پاتوژن فرصت‌طلبی است که باعث عفونت‌های شدید بیمارستانی، به‌ویژه در بیمارانی که دچار نقص یا ضعف سیستم ایمنی هستند، می‌شود. همچنین این باکتری عامل مرگ و میر در بیماران مبتلا به زخم‌های سوختگی شدید، عفونت ادراری، ایدز، سرطان ریه، بیماری انسدادی مزمن ریوی، برونشکتازی و فیروز کیستیک است (۲،۱). سودوموناس آئروژینوزا دارای عوامل بیماری‌زایی مختلفی از جمله لیپولی ساکارید، فلاژل، تاژک و عوامل ترش‌چی متعدد مانند انواع پروتئازها، الاستاز، آگزوتوکسین، پیوسیانین و پلی‌ساکارید خارج سلولی است (۳،۱). در حال حاضر، وجود مکانیسم‌های متفاوت مقاومت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های رایج باعث ایجاد مقاومت در طول درمان شده است (۴). همچنین مطالعات نشان می‌دهد این باکتری سبب مرگ در ۷۰٪ از افرادی است که به پنومونی ناشی از این باکتری مبتلا شده‌اند. به‌علاوه، این باکتری عامل ۱۲٪ از عفونت‌های مجاری ادراری بیمارستانی، ۱۶٪ از بیماران مبتلا به ذات‌الریه بیمارستانی و ۸٪ از عفونت‌های زخم‌های جراحی است (۲). سودوموناس آئروژینوزا دارای مجموعه گسترده‌ای از ژن‌های عملکردی است و از تنوع فنوتیپی بزرگ و پلی‌مورفیسم ژنومی بالایی نیز برخوردار می‌باشد. شناسایی سودوموناس آئروژینوزا بیشتر بر مبنای خصوصیات فنوتیپی و با استفاده از روش‌های میکروبی‌شناسی معمول انجام می‌شود که از دقت کافی برخوردار نبوده و زمانبر است. امروزه، روش‌های تشخیص سریع، آسان، حساس و اختصاصی باکتری‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۵). در دهه‌های اخیر، روش‌های مولکولی مانند واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به علت سریع و قابل اعتماد بودن بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. در حال حاضر، چندین روش تایپینگ مولکولی در دسترس است که شباهت‌های ژنتیکی بین سویه‌ها را نیز مشخص می‌کند (۳). شناسایی و طبقه‌بندی صحیح و دقیق باکتری‌ها، به‌خصوص در بررسی‌های اپیدمیولوژیک در محیط‌های بیمارستان، بسیار حایز اهمیت است. به‌طور کلی روش‌های مبتنی بر DNA مانند PCR به‌عنوان تکنیک قابل اطمینان، ساده و ارزان برای شناسایی و طبقه‌بندی باکتری‌ها می‌باشد (۶).

روش REP-PCR که در این مطالعه انجام شد بر اساس استفاده از پرایمرهای مکمل با ترادف‌های تکراری از DNA که به‌طور طبیعی در اغلب ژنوم‌های باکتریایی به‌طور گسترده‌ای پراکنده می‌باشند، پایه‌ریزی شده است. محصول‌های تولیدشده از REP-PCR در ژل، انگشت‌نگاری‌های ژنومی بسیار اختصاصی و پیچیده‌ای را ایجاد می‌کنند. این عناصر تکراری می‌توانند در هر دو سو و یا در موقعیت‌های دور و مجزا در بین ژن‌ها پراکنده باشند. در این روش پرایمرهای الیگونوکلئوتیدی به‌گونه‌ای طراحی شده‌اند تا بتوانند واکنش PCR را خارج از توالی‌های تکرارهای معکوس REP راه‌اندازی کنند. انگشت‌نگاری‌های ژنومی حاصل از REP-PCR باکتری‌ها، امکان تمایز را در سطوح گونه، زیرگونه و سویه امکان‌پذیر می‌سازند (۷).

گزارش‌ها حاکی از آن است که REP-PCR یک روش مطمئن، سریع و حساس برای متمایز ساختن دامنه وسیعی از جنس‌ها و گونه‌های باکتریایی است. همچنین REP-PCR یک روش دقیق، تجدیدپذیر و مؤثر است (۸). این مطالعه با هدف تایپینگ سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا با استفاده از تکنیک REP-PCR، بررسی پراکندگی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه به‌صورت توصیفی - مقطعی بر روی ۶۷ سویه سودوموناس آئروژینوزا که به‌طور تصادفی به مدت یک‌سال از نمونه‌های بالینی مختلف در بیمارستان شهید محمدی بندرعباس ایزوله شده بود، انجام شد. جهت شناسایی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا، ابتدا رنگ‌آمیزی گرم، سپس تست‌های بیوشیمیایی شامل: رشد در محیط مک‌کانکی آگار، EMB، تست اکسیداز، تست OF، بررسی حرکت، رشد در ۴۲ درجه سانتیگراد و تولید پیگمان در محیط مولر هیتون آگار انجام گرفت (۹،۱). حساسیت نمونه‌های ایزوله‌شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج، با استفاده از روش دیسک دیفیوژن Kirby-Bauer انجام شد و با توجه به توصیه‌های مؤسسه استانداردهای آزمایشگاه بالینی (CLSI)، مورد بررسی و تفسیر قرار گرفت.

کلاسترها با استفاده از داده‌های به‌دست آمده از مرحله قبل، توسط نرم‌افزار NTSYS PC به روش جاکارد و الگوریتم UPGMA تجزیه و تحلیل شدند (۱۴). ارتباط تاپینگ مولکولی و الگوهای حساسیت ضد میکروبی براساس آزمون پیرسون کای-مربع با استفاده از نرم‌افزار SPSS، نسخه ۱۹ تعیین گردید. سطح معنی‌داری، $p \leq 0/05$ در نظر گرفته شد (۱۰).

یافته‌ها

از ۶۷ سویه سودوموناس آئروژینوزا ایزوله شده، ۴۵ سویه مربوط به جنس مذکر و ۲۲ سویه از جنس مؤنث جداسازی شدند. فراوانی عفونت سودوموناس آئروژینوزا بیشتر مربوط به گروه سنی ۴۰-۲۱ سال بود. متوسط سن بیماران، ۴۸ سال بود. سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا اغلب از نمونه‌های خلط (۲۹/۸٪)، لوله تراشه و زخم (هر کدام ۲۵/۴٪) جدا شد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: فراوانی و فراوانی نسبی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا براساس نوع نمونه

نوع نمونه	فراوانی	درصد فراوانی (%)
خلط	۲۰	۲۹/۸
زخم	۱۷	۲۵/۴
تراشه	۱۷	۲۵/۴
ادرار	۱۰	۱۴/۹
خون	۳	۴/۵
کل	۶۷	۱۰۰

اکثر سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا مربوط به بخش داخلی و ICU (هریک ۲۸/۳٪) بود و پس از آن بیماران بخش اورژانس (۲۰/۹٪)، بیشترین فراوانی را داشتند (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: فراوانی و فراوانی نسبی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا به تفکیک بخش‌های بیمارستان

بخش‌های بستری	فراوانی	درصد فراوانی (%)
داخلی	۱۹	۲۸/۳
مراقبت‌های ویژه	۱۹	۲۸/۳
اورژانس	۱۴	۲۰/۹
جراحی	۶	۸/۹
سوختگی	۵	۷/۵
ارتوپدی	۲	۳
اعصاب	۲	۳
کل	۶۷	۱۰۰

دیسک‌های آنتی‌بیوگرام خریداری شده از شرکت Himedia (کشور هند) حاوی آنتی‌بیوتیک‌های کوتریموکسازول (۲۵ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم)، ایمپنم (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، در غلظت معین بودند (۱۱،۱۰).

DNA با کتری با روش جوشاندن استخراج شد. هر نمونه به ۲۰۰ میکرولیتر بافر TE (۱۰ میلی‌مول برلیتر تریس هیدروکلراید، ۱ میلی‌مول برلیتر EDTA با pH=۷/۵)، منتقل و ۳ بار در دور (۸۰۰۰ در دقیقه به مدت ۴ دقیقه) سانتریفوژ شد. سپس هر نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در بن‌ماری جوش و بلافاصله ۵ دقیقه در یخ قرار گرفت (مرحله ذوب و انجماد). مرحله ذوب و انجماد نیز ۳ بار تکرار گردید. پس از سانتریفوژ نمونه‌ها (در دور ۱۰۰۰۰ در دقیقه به مدت ۵ دقیقه)، محلول رویی حاصل در یک ویال اپندورف استریل جهت انجام PCR جمع‌آوری شد (۱۲،۱۳).

در انگشت‌نگاری DNA به روش REP-PCR، آغازگرهای الیگونوکلئوتیدی REP-PCR مورد استفاده در این مطالعه؛

REP1 5'-IIICGICGICATCIGGC-3' و

REP25'ICGICTTATCIGGCCTAC-3'

بودند. برای انجام فرآیند REP-PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر از محلول واکنش، برای هر واکنش، ۱/۲۵ میکرولیتر dNTPs به اضافه ۲/۵ میکرولیتر 10x buffer به اضافه ۲/۵ میکرولیتر MgCl₂ به اضافه ۱۲/۳۵ میکرولیتر آب مقطر استریل و به اضافه ۲ میکرولیتر از هر پرایمر با ۰/۴ میکرولیتر آنزیم Taq و در نهایت، ۲ میکرولیتر از DNA مورد استفاده قرار گرفت. پس از آماده‌سازی مخلوط فوق، میکروتیوب‌ها در دستگاه ترموسایکلر قرار گرفته و با برنامه واسرشتگی اولیه در ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۷ دقیقه و سپس ۳۵ چرخه با برنامه واسرشتگی در ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمرها به DNA هدف در ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه و طولیل شدن در ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۸ دقیقه دنبال شد. الکتروفورز نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۱/۱٪ انجام گرفت، سپس با اتیدیوم بروماید، رنگ آمیزی و مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۴،۱۰). به منظور آنالیز داده‌ها، باندهای نمونه براساس حضور (یک) و یا عدم حضور (صفر) باندها امتیازبندی شدند. داده‌ها در نرم‌افزار EXCEL ذخیره شدند.

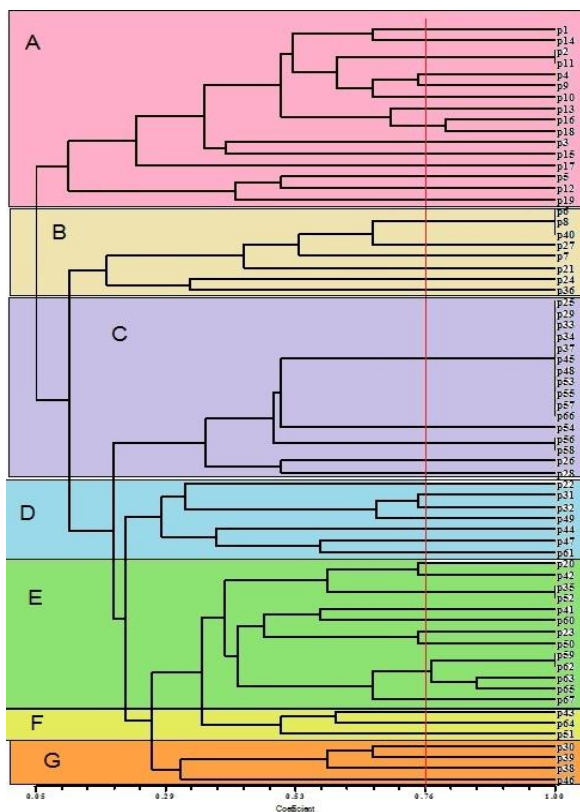
بالاترین میزان مقاومت مربوط به کوتریموکسازول (۸۰/۶٪) و در پی آن ایمی‌پنم و آمیکاسین (هریک ۷۴/۶٪) بود (جدول ۳). بیشترین میزان حساسیت نسبت به سیپروفلوکساسین (۸۲/۱٪) و

جدول شماره ۳: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا

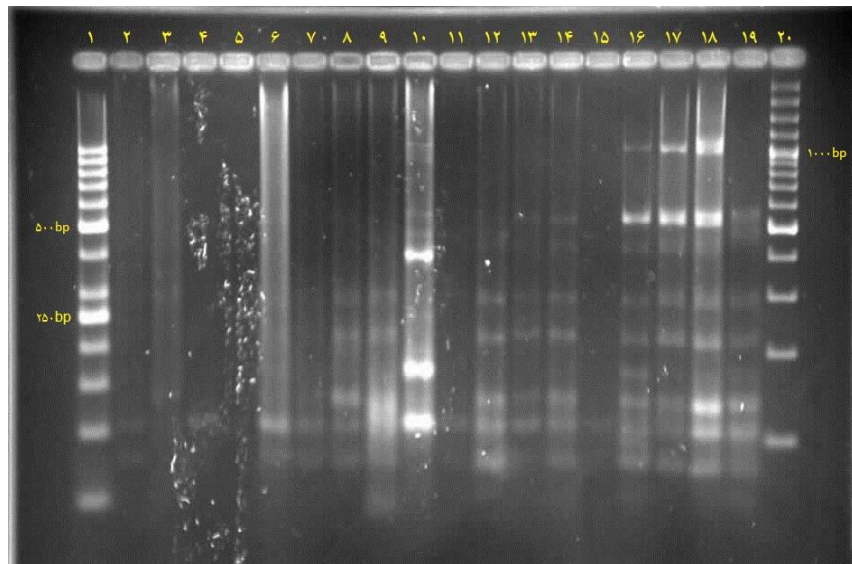
آنتی‌بیوتیک	مقاوم	نیمه‌حساس	حساس
سیپروفلوکساسین	۱۴/۹	۳	۸۲/۱
ایمی‌پنم	۲۵/۴	۰	۷۴/۶
آمیکاسین	۲۰/۹	۴/۵	۷۴/۶
مروپنم	۲۵/۴	۱/۵	۷۳/۱
سفتازیدیم	۳۱/۳	۳	۶۵/۷
سفترباکسون	۶۲/۷	۱۱/۹	۲۵/۴
کوتریموکسازول	۸۰/۶	۰	۱۹/۴

ایزوله‌های P۲ و P۱۱ از گروه A؛ P۶، P۸ و P۴۰ از گروه B و P۲۵، P۲۹، P۳۳، P۳۴، P۳۷، P۴۵، P۴۸، P۵۳، P۵۵، P۵۶، P۵۷، P۶۶، متعلق به گروه C و سویه‌های P۶۲، P۵۹، P۵۳، P۵۲، کمترین فاصله ژنتیکی (۰٪) را داشتند، در حالی که سویه‌های P۳۶ و P۲۴ با ۶۷٪ فاصله ژنتیکی، بیشترین تفاوت را نشان دادند.

با استفاده از نرم‌افزار PCNTSYS و روش جاگرد، سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا مورد بررسی، با ضریب تشابه ۷۶٪ در ۷ کلاستر (G-A) جای گرفتند (شکل شماره ۱). در مجموع، ۲۰ قطعه مجزا با سایزهای ۱۵۰-۳۰۰۰ جفت باز، ایجاد و در هر سویه نیز ۱۰-۱۰۰ قطعه مشاهده گردید (شکل شماره ۲). کلاستر ۱ و ۳، بیشترین فراوانی (۲۳/۹٪) را در بین ۷ کلاستر دارا بودند (جدول شماره ۴).



شکل شماره ۱: دندروگرام براساس ضریب تشابه سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا



شکل شماره ۲: الگوهای انگشت‌نگاری ژنتیکی سویه‌های سودوموناس آنروژینوزا با روش REP-PCR. چاهک ۱: مارکر ۵۰ bp؛ چاهک ۲-۱۹: سویه‌های باکتریایی؛ چاهک ۲۰: مارکر ۱۰۰ bp.

جدول شماره ۴: فراوانی سویه‌های سودوموناس آنروژینوزا براساس گروه‌های رپ تایپ

رپ تایپ	درصد فراوانی	فراوانی
A	۲۳/۹	۱۶
B	۱۱/۹	۸
C	۲۳/۹	۱۶
D	۱۰/۴	۷
E	۱۹/۴	۱۳
F	۴/۵	۳
G	۶	۴
کل	۱۰۰	۶۷

بیشترین تنوع و پراکندگی رپ تایپ‌ها در نمونه‌های بخش‌های مراقبت‌های ویژه و داخلی مشاهده گردید. در هر بخش، رپ تایپ خاصی غالب بود. ایزوله‌های بخش‌های داخلی، سوختگی و مراقبت‌های ویژه، بیشتر متعلق به رپ تایپ C، E و A بود (جدول شماره ۶).

غالب سویه‌های گروه E از نمونه خلط (۶۱/۵٪) و سویه‌های گروه A بیشتر از نمونه تراشه (۴۳/۷٪) جدا شدند. همچنین در گروه C نمونه زخم و ادرار (هریک ۳۱/۲٪)، بیشترین فراوانی را دارا بودند (جدول شماره ۵).

جدول شماره ۵: فراوانی سویه‌های سودوموناس آنروژینوزا، براساس نوع نمونه در گروه‌های مختلف رپ تایپ

رپ تایپ	A		B		C		D		E		F		G	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
خلط	۱	۲۵	۰	۳۷/۵	۴	۲۵	۰	۰	۸	۶۱/۵	۱	۳۳/۳	۱	۲۵
زخم	۱	۲۵	۱	۳۷/۵	۵	۳۱/۲	۲	۲۸/۶	۲	۱۵/۴	۰	۰	۱	۲۵
لوله تراشه	۰	۰	۴	۲۵	۱	۶/۲	۳	۴۲/۹	۱	۷/۷	۱	۳۳/۳	۰	۰
ادرار	۰	۰	۰	۰	۵	۳۱/۲	۲	۲۸/۶	۱	۷/۷	۱	۳۳/۳	۰	۰
خون	۰	۰	۰	۰	۱	۶/۲	۰	۰	۱	۷/۷	۰	۰	۰	۰
کل	۴	۱۰۰	۸	۱۰۰	۱۶	۱۰۰	۷	۱۰۰	۱۳	۱۰۰	۳	۱۰۰	۱۶	۱۰۰

جدول شماره ۶: فراوانی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا، براساس بخش‌های بستری و رپ تایپ‌های مختلف

رپ تایپ	G		F		E		D		C		B		A	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
بخش‌های بستری														
اعصاب	۰	۰	۰	۰	۱	۷/۷	۱	۱۴/۳	۰	۰	۰	۰	۰	۰
جراحی	۰	۰	۰	۰	۱	۷/۷	۰	۰	۰	۰	۱	۱۲/۵	۲	۱۲/۵
اورژانس	۰	۰	۲	۶۶/۷	۲	۱۵/۴	۱	۱۴/۳	۴	۲۵	۴	۵۰	۱	۶/۲
مراقبت‌های ویژه	۲	۵۰	۱	۳۳/۳	۲	۱۵/۴	۲	۲۸/۶	۱	۶/۲	۰	۰	۰	۰
ارتوپدی	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۱۴/۳	۰	۰	۰	۰	۱	۶/۲
سوختگی	۰	۰	۰	۰	۱	۱۵/۴	۰	۰	۴	۲۵	۰	۰	۰	۰
داخلی	۲	۵۰	۰	۰	۶	۴۶/۱	۲	۲۸/۶	۵	۳۱/۲	۱	۱۲/۵	۳	۱۸/۷
کل	۴	۱۰۰	۳	۱۰۰	۱۳	۱۰۰	۷	۱۰۰	۱۶	۱۰۰	۸	۱۰۰	۱۶	۱۰۰

درخصوص مقاومت چند دارویی، ۱۱ ایزوله (۱۶/۴٪) به ۳ آنتی‌بیوتیک مورد آزمایش مقاوم بود، ۷ ایزوله (۱۰/۴٪) به ۴ آنتی‌بیوتیک، ۴ ایزوله (۶٪) به ۵ آنتی‌بیوتیک و ۷ ایزوله (۱۰/۴٪) به ۶ آنتی‌بیوتیک مختلف، مقاومت داشتند. تنها ۲ ایزوله (۳٪) متعلق به رپ تایپ A و B، به همه ۷ آنتی‌بیوتیک مورد بررسی، مقاوم بودند. علاوه بر این، ایزوله‌های رپ تایپ F، بالاترین میزان مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها (متوسط ۷۶/۲٪) را دارا بودند. رابطه‌ای بین الگوی مقاومت و رپ تایپ دیده نشد ($p=0/315$) (آزمون کای مربع) (جدول شماره ۷).

سویه‌های کلاستر D و F نسبت به کوتریموکسازول، مقاوم بودند. سویه‌های کلاستر F به ایمی‌پنم، مقاوم و کلاستر G فاقد سویه‌های مقاوم به این آنتی‌بیوتیک بود. در کلاستر G، سویه‌های مقاوم به آمیکاسین مشاهده نشد. سویه‌های کلاستر E و G نسبت به سیپروفلوکساسین حساسیت کامل داشتند. سویه‌های کلاستر G نسبت به مروپنم، حساس؛ در صورتی که سویه‌های کلاستر F مقاوم بودند. در این پژوهش تمامی سویه‌های کلاستر G به سفنازیدیم حساسیت داشتند. اما در سویه‌های کلاستر A و F، درصد مقاومت بیشتر از حساسیت به سفنازیدیم بود.

جدول شماره ۷: درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی رپ تایپ‌های مختلف

رپ تایپ	A	B	C	D	E	F	G
آنتی‌بیوتیک‌ها							
کوتریموکسازول	۶۸/۷	۸۷/۵	۷۵	۱۰۰	۸۴/۶	۱۰۰	۷۵
ایمی‌پنم	۱۸/۷	۵۰	۲۵	۱۴/۳	۱۵/۴	۱۰۰	۰
آمیکاسین	۱۸/۷	۳۳/۳	۶/۲	۵۷/۱	۲۳/۱	۳۳/۳	۰
سفتریاکسون	۷۵	۶۲/۵	۵۰	۷۱/۴	۵۳/۸	۱۰۰	۵۰
سیپروفلوکساسین	۱۸/۷	۱۲/۵	۲۵	۱۴/۳	۰	۳۳/۳	۰
مروپنم	۱۲/۵	۳۷/۵	۲۵	۱۴/۳	۳۰/۸	۱۰۰	۰
سفنازیدیم	۵۰	۳۷/۵	۲۵	۱۴/۳	۲۳/۱	۶۶/۷	۰
میانگین	۳۷/۵	۴۵/۸	۳۳	۴۰/۸	۳۳	۷۶/۲	۱۷/۹

بحث

در این مطالعه، میزان عفونت سودوموناس آئروژینوزا در بیمارستان شهید محمدی بررسی شد. علاوه بر این، از روش REP-PCR، به منظور بررسی ارتباط سویه‌ها و تعیین گروه کلونال غالب در بخش‌های مختلف بیمارستان استفاده شد. ۶۷ بیمار مورد مطالعه قرار گرفتند. با بررسی جنس بیماران مشخص گردید شیوع سودوموناس آئروژینوزا در مردان، ۴۵ نفر (۶۷/۱۶٪) در مقایسه با زنان، ۲۲ نفر (۳۲/۸۳٪)، بالاتر بوده است. نتایج این پژوهش با مطالعات انجام شده توسط Jamshaid و همکاران،

سودوموناس علت عمده عفونت‌های بیمارستانی، به خصوص در بیماران ICU است. وجود مقاومت‌های چنددارویی در سودوموناس باعث شکست در درمان آنتی‌بیوتیکی می‌شود. به علت تنوع فنوتیپی و پیچیدگی ژنومی سودوموناس آئروژینوزا، شناسایی دقیق باکتری‌های ایزوله شده در مطالعات اپیدمیولوژیک برای تشخیص گونه‌های مشابه یا مرتبط، منشأ عفونت و راه‌های انتقال متقاطع در محیط بیمارستان، حایز اهمیت است (۱۵).

Stephanie و همکاران که در آن عفونت سودوموناس آئروژینوزا در مردان شایع تر گزارش شد، همخوانی داشت (۱۶). در مطالعه حاضر، بیماران براساس سن به پنج گروه دسته‌بندی شدند و متوسط سن بیماران ۴۸ سال بود. بروز عفونت سودوموناس آئروژینوزا بیشتر در گروه سنی ۴۰-۲۱ سال مشاهده گردید، اما ارتباط معنی‌داری بین سن و بروز عفونت سودوموناس آئروژینوزا ($p=0/23$) وجود نداشت. Stephanie و همکاران نیز بیشترین میزان سویه‌های سودوموناس را از بیماران گروه سنی ۳۰-۲۱ سال جدا کردند (۱۷). در مطالعه انجام‌شده توسط قربانعلی‌زادگان از ۱۵۵ بیمار (۶۹٪ مرد و ۳۱٪ زن)، با متوسط سن ۵۲ سال، بیشترین میزان عفونت مربوط به بیماران با سن بیشتر از ۵۰ سال گزارش شد (۱۸). همسو با این یافته‌ها، در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (مطالعه جمالی در تهران، ۷۲٪ مرد و ۲۸٪ زن با میانگین سنی ۳۲/۹ سال). در مطالعه حاضر سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا اغلب از نمونه خلط (۲۹/۸٪)، زخم و لوله تراشه (۲۵/۴٪) جدا شد. در پژوهش قربانعلی‌زادگان نیز بیشتر ایزوله‌ها مربوط به نمونه خلط (۱۶/۹٪) بود (۱۹، ۱۸).

در بررسی خلیلی و همکاران، نمونه ادرار با ۴۱٪ و لوله تراشه با ۲۹٪، از منابع اصلی جداسازی سودوموناس آئروژینوزا بود. در گزارش رحیمی، فراوانی سودوموناس آئروژینوزا از خون، ۳۳٪؛ خلط، ۲۴٪ و ادرار، ۲۲٪ بود. اما در مطالعه حاضر ۴/۵ و ۱۴/۹٪ از ایزوله‌ها به ترتیب از نمونه خون و ادرار به دست آمد (۲۱، ۲۰). در مطالعه حاضر اکثر سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا مربوط به بیماران بخش ICU (۲۸/۳٪) و داخلی (۲۸/۳٪) و پس از آن بخش اورژانس (۲۰/۹٪) بود که با نتایج تحقیقات انجام‌شده در بیمارستان‌های دیگر همخوانی داشت. نتایج مطالعه حاضر نشان داد سیپروفلوکساسین با فعالیت ۸۲/۱٪ و درپی آن ایمی‌پنم و آمیکاسین با فعالیت ۴۷/۶٪، بیشترین اثر ضد میکروبی را دارند. در مطالعه حاجی‌زاده، آمیکاسین (۹۵٪)، توپراماسین (۹۲٪) و سیپروفلوکساسین (۹۰٪)، به‌عنوان سه آنتی‌بیوتیک مؤثر معرفی شدند. رجب‌پور و همکاران نیز مؤثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها را ایمی‌پنم (۹۰/۴۰٪)، آمیکاسین (۸۰٪) و افلوکساسین (۶۰٪) گزارش کردند (۲۲). آمیکاسین، ایمی‌پنم و سیپروفلوکساسین نیز به‌عنوان سه عامل مؤثر در درمان سودوموناس آئروژینوزا در

مطالعات دیگر مورد تأیید قرار گرفته است. رضوی و Bonfiglio و همکاران، حداکثر حساسیت سودوموناس آئروژینوزا را در برابر ایمی‌پنم (۷۶/۹٪) و مروپنم (۷۰/۴٪) مشاهده کردند (۲۴، ۲۳). Navaneeth و همکاران نیز در مطالعه خود، حساسیت ۸۸٪ سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا را در برابر ایمی‌پنم و مروپنم نشان دادند (۲۵). برخلاف مطالعات ذکرشده در مطالعه Indu Biswal، آمیکاسین به‌عنوان مقاوم‌ترین آنتی‌بیوتیک گزارش شد. همچنین در این مطالعه، کلیستین (۱۰۰٪)، مروپنم (۷۹/۳٪) و سیپروفلوکساسین (۷۹/۳۱٪) و پس از آنها ایمی‌پنم با حساسیت ۷۲/۴٪، مؤثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها بودند (۲۶). در مطالعه صابر در کراچی، ایمی‌پنم (۱۰۰٪)، پیراسیلین/تازوباکتام (۹۰/۹۱٪) و سولباکتام/سفوپرازون (۸۸/۴۳٪)، سه داروی مؤثر در برابر عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا بودند و پس از آن آمیکاسین، آزترئونام و سیپروفلوکساسین با ۷۸/۵۱، ۸۰/۹۹ و ۶۵/۲۹٪ حساسیت، گزارش شدند (۲۷). اگرچه Bonfiglio و همکاران، مروپنم را فعال‌ترین آنتی‌بیوتیک در برابر سودوموناس آئروژینوزا معرفی کردند. در مطالعه حاضر میزان حساسیت به مروپنم با ۷۳/۱۳٪، رتبه چهارم آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر را به خود اختصاص داد که قابل مقایسه با مطالعه جمال با ۷۱٪ بود. براساس مشاهدات مطالعه حاضر، بیشترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک مربوط به سولفامتاکسازول (۸۰/۶۰٪) بود که نزدیک به نتایج ایمانی با ۹۶/۴٪ می‌باشد (۲۸). رایبنا صابر، بالاترین میزان مقاومت را در برابر سفوروکسیم (۹۱/۷٪) و سولفامتاکسازول (۸۴/۳٪) گزارش کرد (۲۷). در مطالعات متعددی مقاومت به نسل سوم سفالوسپورین از ۹۷/۱-۷۸/۹٪ مشاهده شده است. همچنین در نتایج صالحی و دوستی، میزان مقاومت، ۶۲/۶۹٪ برای سفتریاکسون ذکر گردید (۲۹، ۳۰). یکی از عوامل مهم خطر ابتلا به عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا، طول مدت بستری، به‌خصوص در بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه است. حاجی باقری و همکاران در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که بیماران با بیش از ۱۰ روز بستری در بیمارستان، بیشتر در معرض خطر عفونت سودوموناس آئروژینوزا قرار دارند. متوسط طول مدت بستری در مطالعه حاضر، ۱۷/۷ روز نزدیک به گزارش حاجی باقری (۱۵/۳۸ روز) بود (۳۱).

سودوموناس آئروژینوزاهای جداسازی شده از بیماران بخش سوختگی نیز از تشابه بیشتری برخوردار بودند که بسیاری از آنها متعلق به گروه C بود. درحالی که سودوموناس آئروژینوزا جداسازی شده از بخش‌های دیگر، تنوع ژنتیکی بالاتری را نشان دادند. سویه‌های جداسازی شده از لوله تراشه نیز بسیار هتروژن بودند، درحالی که سویه‌های ایزوله‌شده از نمونه خون، حداقل تنوع ژنتیکی را نشان دادند.

نتیجه‌گیری

با توجه به تنوع ژنتیکی بالای سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا، تایپ‌بندی دقیق ایزوله‌های بالینی برای نظارت اپیدمیولوژیک و یافتن روابط کلونال بین سویه در مدیریت کنترل عفونت بیمارستان، بسیار مفید و ضروری است. یکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر، حجم کم نمونه‌ها بود، لذا به منظور اطلاع دقیق‌تر از ارتباط بین ژنوتیپ‌های مختلف و الگوهای آنتی‌بیوتیکی آنها در مطالعات بالینی، لازم است مطالعه بر روی تعداد نمونه‌های بیشتری صورت گیرد. مقالات و مطالعات اندکی نیز در رابطه با ژنوتیپ سودوموناس آئروژینوزا، به‌خصوص با استفاده از روش REP-PCR وجود دارد و براساس اطلاعات جمع‌آوری‌شده، پژوهش حاضر اولین مطالعه داخلی در این زمینه است. با توجه به تنوع ژنتیکی بالای سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا، تایپ‌بندی دقیق ایزوله‌های بالینی برای نظارت اپیدمیولوژیک و یافتن ارتباط کلونال بین ایزوله‌ها در مدیریت عفونت در بیمارستان‌ها، لازم و ضروری می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کارکنان محترم آزمایشگاه بیمارستان شهید محمدی شهر بندرعباس که نهایت همکاری را در اجرای این پژوهش داشتند، کمال سپاسگزاری به عمل می‌آید. همچنین از مساعدت مرکز پزشکی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بندرعباس قدردانی می‌گردد.

از مزیت‌های روش REP-PCR مورد استفاده در این مطالعه، نیاز به مقدار کم DNA (در حدود ۵۰ نانوگرم)، حساسیت بالا، نتایج قابل اطمینان و اجرای سریع، علاوه بر آن قدرت تمایز بالا در سطح زیرگونه‌ها بود (۴). در بررسی سویه‌های ایزوله‌شده از بیمارستان شهید محمدی بندرعباس، براساس تشابه الگو باندها، تعداد ۷ کلاستر مشخص به دست آمد که نشان‌دهنده میزان آلودگی و کلونال بودن آن سویه‌ها در بیمارستان مربوطه است. هرچه تعداد و بزرگی کلاسترهای یک بیمارستان بیشتر باشد، نشان‌دهنده آلودگی و گردش بیشتر باکتری‌ها و مقیم‌بودن آن سویه‌ها در آن بیمارستان است. از نظر اپیدمیولوژی هر قدر ایزوله‌های بیمارستانی در کلاسترهای کمتری قرار گیرند، نشان‌دهنده وضعیت بهتر بیمارستان است. نتایج حاصل از این مطالعه، وجود ۷ کلاستر با حداکثر تشابه ۷۶٪ را در بین ایزوله‌ها نشان می‌دهد. در مطالعه Syrmis در استرالیا بر روی ۱۶۳ ایزوله جمع‌آوری‌شده از بیماران سیستمیک فیروزیس با تکنیک REP-PCR، ۶ کلون بزرگ به‌دست آمد که با روش PFGE مورد تأیید قرار گرفت (۶). در مطالعه Jordheim، ۸۴ ایزوله از نظر اپیدمیولوژی، بررسی و منشأیابی شد که ۸۴ سویه محیطی و بیمارستانی که دارای تشابه ۹۵٪ بودند از نظر کلاستربندی، متفاوت گزارش شدند (۷). Ratkai (سال ۲۰۱۰) نیز ۲۹ سویه جمع‌آوری‌شده از ۴ بخش مختلف به همراه ایزوله‌های محیطی با مقاومت چند دارویی را با استفاده از روش REP-PCR در ۵ کلاستر، مشخص و ارتباط آنها را با آزمایش PFGE تأیید کرد (۳۲). در مطالعه حاضر عدد p به‌دست آمده، ارتباط معنی‌داری بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و کلاسترها نشان نداد ($p=0/315$) و به‌علت کم‌بودن تعداد نمونه‌ها، نتایج از نظر آماری معنی‌دار نبود. همچنین نتایج نشان داد الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در کلاسترهای مختلف، متفاوت است. شباهت سویه‌های رپ تایپ A (۱۶ ایزوله) کمتر از رپ تایپ F (۳ ایزوله) و G (۴ ایزوله) بود. رپ تایپ G (۴ ایزوله)، بیشتر از گونه‌های دیگر به آنتی‌بیوتیک‌ها حساس بود. اعضای گروه F (۴ ایزوله) نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، بسیار مقاوم بودند.

References:

1. Murray PR, Pfaller MA. Medical microbiology. 7th ed. New York: Saunders Pub; 2013. p. 288.
2. Aghamollaei H, Azizi Barjini K, Moosazadeh Mogaddam. Rapid detection of *Pseudomonas aeruginosa* by PCR method using specific primers of quorum sensing lasI gene. *Armaghane Danesh* 2013;18(9):722-35. [Full Text in Persian]
3. Yousefi Mashouf R, Esmaeili R, Alikhani MY, Ghanbari M. Evaluation of exotoxin A gene and frequency of polymerase chain reaction sensitivity in detection of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *Tehran Univ Med J* 2014;72(3):167-73. [Full Text in Persian]
4. Mudau M, Jacobson R, Minenza N, Kuonza L, Morris V, Engelbrecht H, et al. Outbreak of multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection in the haematology unit of a South African Academic Hospital. *PLoS ONE* 2013;8(3):e55985.
5. Driscoll JA, Brody SL, Kollef MH. The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs* 2007;67(3):351-68.
6. Syrmis MW, O'Carroll MR, Sloots TP, et al. Rapid genotyping of *Pseudomonas aeruginosa* isolates harboured by adult and paediatric patients with cystic fibrosis using repetitive element- based PCR assays. *J Med Microbiol* 2004;53(Pt 11):1089-96.
7. Doléans-Jordheim A, Cournoyer B, Bergeron E, Croizé J, Salord H, André J, et al. Reliability of *Pseudomonas aeruginosa* semi-automated rep-PCR genotyping in various epidemiological situations. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009;28(9):1105-11.
8. Aujoulat F, Lebreton F, Romano S, Delage M, Marchandin H, Brabet M, et al. Comparative diffusion assay to assess efficacy of topical antimicrobial agents against *Pseudomonas aeruginosa* in burns care. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2011;10:27.
9. Brooks GO, Carroll KC, Butel J, Morse S. Jawetz Melnick&Adelbergs Medical Microbiology. 26th ed. New York: McGraw-Hill. p. 262-7.
10. Chuang YC, Wang JT, Chen ML, Chen YC. Comparison of an automated repetitive-sequence-based pcr microbial typing system with pulsed-field gel electrophoresis for molecular typing of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *J Clin Microbiol* 2010;48(8):2897-901.
11. Shutt CK, Pounder JI, Page SR, Schaecher BJ, Woods GL. Clinical evaluation of the diversilab microbial typing system using repetitive-sequence-based PCR for characterization of *Staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol* 2005;43(3):1187-92.
12. Higgins PG, Janssen K, Fresen MM, Wisplinghoff H, Seifert H. Molecular Epidemiology of *Acinetobacter baumannii* Bloodstream Isolates Obtained in the United States from 1995 to 2004 Using rep-PCR and Multilocus Sequence Typing. *J Clin Microbiol* 2012;50(11):3493-500.
13. Queipo-Ortuño MI, De Dios Colmenero J, Macias M, Bravo MJ, Morata P. Preparation of bacterial DNA template by boiling and effect of immunoglobulin g as an inhibitor in real-time PCR for serum samples from patients with brucellosis. *Clin Vaccine Immunol* 2008;15(2):293-6.
14. Rikalović M, Vrvic MM, Gojgic-Cvigovic G, Karadžić I. Production and characterization of rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* san ai. *J Serbian Chem Soc* 2012;77(1):27-42.
15. Rhame FS. The Ecology and epidemiology of *pseudomonas aeruginosa*. In: Sabath LD. (ed.) *Pseudomonas aeruginosa*. Berne: Hans Huber; 2000. p. 31-51.
16. Khan JA, Iqbal Z, Rahman SU, Farzana K, Khan A. Prevalence and resistance pattern of *Pseudomonas aeruginosa* against various antibiotics. *Pak J Pharm Sci* 2008;21(3):311-5.

17. Momeni SS, Whiddon J, Moser SA, Cheon K, Ruby JD, Childers NK. Comparative genotyping of streptococcus mutans by repetitive extragenic palandromic PCR and multilocus sequence typing. *Mol Oral Microbiol* 2013;28(1):18-27.
18. Qorbanalizadehgan M, Ranjbar R, Joneidi N, Ali Akbat Esfahani A, Esmaeili D, Goodarzi Z. A Study on the prevalence of nosocomial infections in ICU patients admitted at Baqiyatallah Hospital. *J Ilam Univ Med Sci* 2008;16(1):1-6. [Full Text in Persian]
19. Jamali SH, Bahar MA, Houshmand SM. Detection of BLA_{VIM} gene among imipenem – resistant pseudomonas aeruginosa isolated from burn wounds from Tehran Shahid Motahari Hospital. *J Microbiol Knowledge* 2009;1(1):19-25. [Full Text in Persian]
20. Rahimi B, Shojapour M, Sadeghi A, Pourbabayi AA. The study of the antibiotic resistance pattern of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from hospitalized patients in Arak. *Arak Med Univ J* 2012;15(3):8-14. [Full Text in Persian]
21. Khalili Y, Gotasloo R, Aghazadeh M, Naghili B, Pornoor M. Prevalence of antibiotic resistance and veb-1 type extended-spectrum beta-lactamase in Pseudomonas aeruginosa isolates from intensive care unit patients. *Med J Tabriz Univ Med Sci* 2011;33(4). [Full Text in Persian]
22. Rajabpour M, Arabestani MR, Yousefi Mashof R, Alikhani MY. MIC determination of Pseudomonas aeruginosa strains were isolated from clinical specimens of patients admitted to educational hospitals in Hamedan (90-91). *Iran J Med Microbiol* 2013;7 (3):18-25. [Full Text in Persian]
23. Razavi M, Mansouri S, Norouzi F. Antibiotic resistance pattern among nonfermenting gram-negative bacteria isolated from clinical specimens during 2007-2008 in Kerman, IRAN. *Iran J Med Microbiol* 2011;4(4):7-13.[Full Text in Persian]
24. Bonfiglio G, Carciotto V, Russo G, Stefani S, Schito GC, Debbia E, et al. Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: An Italian survey. *J Antimicrob Chemother* 1998;41(2):307-10.
25. Navaneeth BV, Sridaran D, Sahay D, Belwadi MR. A preliminary study on metallo-beta-lactamase producing Pseudomonas aeruginosa in hospitalized patients. *Indian J Med Res* 2002;116:264-7.
26. Biswal I, Arora BS, Kasana D, Neetushree. Incidence of multidrug resistant pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients and environment of teaching institution. *J Clin Diagn Res* 2014;8(5):DC26-9.
27. Sabir R, Alvi SF, Fawwad A, Basit A. Antibigram of Pseudomonas aeruginosa and Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in patients with diabetes. *Pak J Med Sci* 2014;30(4):814-8.
28. Imani Foolad AA, Rostami Z, Shapouri R. Antimicrobial resistance and ESBL prevalence in Pseudomonas aeruginosa strains isolated from clinical specimen by phenotypic and genotypic methods. *J Ardabil Univ Med Sci* 2010;10(3):189-98. [Full Text in Persian]
29. Salehi M, Hekmatdoost M, Hosseini F. Quinolone resistance associated with efflux pumps mexAB-oprM in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. *J Microbial World* 2014;6(4). [Full Text in Persian]
30. Doosti M, Haj Ojagh Faghihi M, Ramazani A, Saini MR. Comparison of conventional culture methods and polymerase chain reaction (PCR) for specific detection of Pseudomonas Aeruginosa. *J Isfahan Med Sch* 2012;30(192). [Full Text in Persian]
31. Hajibagheri K, Afrasiabian SH. An epidemiologic study of nosocomial infections and its related factors at the intensive care unit of Tohid Hospital, in Sanandaj during 2003-2004. *J Kurdistan Univ Med Sci* 2006;10(4):44-50. [Full Text in Persian]
32. Ratkai C, Peixe LV, Grosso F, Freitas AR, Antunes P, Fodor E, et al. Successful application of the DiversiLab repetitive-sequence-based PCR typing system for confirmation of the circulation of a multiresistant Pseudomonas aeruginosa clone in different hospital wards. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010;67(2):202-6.