INFORMATICS IN BIOLOGY, HEALTH, AND FOOD

Interdisciplinary Explorations in Life Science

Volume 1. Number 1. Dec. 2024 DOI:10.22034/ibhf.2024.485443.1015

**Original Article**

# Isolation and Characterization of Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Strains from Clinical Isolates

**Fatemeh Dostmohammadi [*1], Mahdi Kouhi Noghondar [2, 3, 4]**

[1] Department of Microbiology, Imam Reza Hospital, Mashhad University of Medical Siences, Mashhad, Iran.

[2] Department of Microbiology, Imam Reza Hospital, Mashhad University of Medical Siences, Mashhad, Iran

[3] Department of Microbiology and Virology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

[4] Social Determinants of Health Research Center, Basic Sciences Research Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

**Received:** 2024/10/25 **Accepted:** 2024/11/25 **Online Published:** 2024/11/25

## Abstract

*Pseudomonas aeruginosa* is a critical bacterial pathogen that plays a major role in hospital-acquired infections, particularly among patients with weakened immune systems, chronic illnesses, or severe burns. The treatment of these infections has become challenging due to the bacterium's broad-spectrum antibiotic resistance. This study aimed to isolate and identify carbapenem-resistant *P. aeruginosa* strains from clinical samples. A total of 126 *P. aeruginosa* isolates were collected from various departments of Imam Reza Hospital. The isolates were identified using biochemical methods. Antibiotic susceptibility was evaluated using ceftazidime, ciprofloxacin, piperacillin-tazobactam, amikacin, gentamicin, and cefepime, while the minimum inhibitory concentration for imipenem was determined using the E-test. The prevalence of $bla_{GIM}$ and $bla_{SHV}$ genes was assessed through PCR. The results showed that 41.26% of the isolates were obtained from urine cultures, followed by body secretions (35.15%) and tracheal samples (10.31%). The highest frequency of isolates (26%) was recorded in the intensive care unit. Among the 126 isolates, resistance was most prevalent against ciprofloxacin (73%) and least against amikacin (61.2%). Additionally, 69% of isolates were resistant to both imipenem and ceftazidime, 68% to cefepime, and 65% to gentamicin and piperacillin-tazobactam. Carbapenem-resistant strains exhibited MIC values exceeding 32 µg/ml. A total of 81 multidrug-resistant were identified. While the $bla_{GIM}$ gene was not detected in any isolate, 71% of the samples harbored the $bla_{SHV}$ gene. The high prevalence of antibiotic resistance observed in this study highlights the significant impact of unregulated and excessive antibiotic use. This growing resistance substantially complicates the effective treatment of *P. aeruginosa* infections.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, Antibiotic resistance, Carbapenem, $bla_{GIM}$, $bla_{SHV}$

**Cite this article**: Dostmohammadi F, Kouhi Noghondar M. Isolation and characterization of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains from clinical isolates. *Informatics in Biology, Health, and Food.* 2024;1(1):40-51.

**Copyright**©: The Authors. Published by Shandiz Institute of Higher Education

**Corresponding author**: Fatemeh Dostmohammadi **Email**: fdoostmohamadi1998@gmail.com

انفورماتیک در زیست‌شناسی، بهداشت و غذا
کاوش‌های بین رشته‌ای در علوم زیستی

دوره: ۱. شماره ۱. آذر ۱۴۰۳ DOI:10.22034/ibhf.2024.485443.1015

مقاله پژوهشی

# جداسازی و شناسایی سویه‌های مقاوم به کاربانپم در نمونه‌های بالینی *سودوموناس ائروجینوزا*، بیمارستان امام رضا (ع)، مشهد

**فاطمه دوست محمدی بایگی*[۱]، مهدی کوهی نقندر[۲،۳،۴]**

[۱] گروه میکروبیولوژی، بیمارستان امام رضا، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
[۲] گروه میکروبیولوژی، بیمارستان امام رضا، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
[۳] گروه میکروبیولوژی و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
[۴] مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی موثر بر سلامت، پژوهشکده علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران.

**دریافت:** ۱۴۰۳/۸/۴ **پذیرش:** ۱۴۰۳ /۹/۴ **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۳/۹/۵

## چکیده

*سودوموناس ائروجینوزا* یکی از پاتوژن‌های باکتریایی مهم در عفونت‌های بیمارستانی است که به‌ویژه افراد با سیستم ایمنی ضعیف و سوختگی‌های شدید را تحت تأثیر قرار می‌دهد. امروزه مقاومت این باکتری به طیف گسترده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌ها، درمان عفونت‌های ناشی از آن را دشوار کرده است. هدف مطالعه جداسازی و شناسایی سویه‌های مقاوم به کاربانپم *سودوموناس ائروجینوزا* می‌باشد. ۱۲۶ جدایه *سودوموناس* ائروجینوزا از نمونه‌های بالینی بخش‌های مختلف بیمارستان امام رضا (ع) جداسازی و با آزمون‌های فنوتیپی و بیوشیمیایی شناسایی شدند. حساسیت آنتی‌بیوتیکی با دیسک‌های سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، پیپراسیلین تازوبکتام، آمیکاسین، جنتامایسین و سفپیم بررسی شد. حداقل غلظت مهار کنندگی ایمی‌پنم با روش E-test انجام شد. شیوع ژن‌های $bla_{GIM}$ و $bla_{SHV}$ در جدایه‌های مقاوم به کاربانپم با روش واکنش زنجیره پلیمراز بررسی شد. درکل ۴۱/۲۶ درصد ازنمونه‌ها مربوط به کشت ادرار بودند. ترشحات بدن با ۳۵/۱۵درصد و نمونه‌های تراشه با ۱۰/۳۱درصد در مقام دوم و سوم قرار داشتند. جدایه‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، با بیشترین فراوانی (۲۶ درصد) مربوط به بخش مراقبت‌های ویژه بودند. بین ۱۲۶ جدایه، بیشترین مقاومت به سیپروفلوکساسین (۷۳ درصد) و کمترین مقاومت نسبت به آمیکاسین (۶۱/۲ درصد) مشاهده شد. همچنین ۶۹ درصد ایزوله‌ها به ایمی‌پنم و سفتازیدیم، ۶۸ درصد به سفپیم و ۶۵ درصد نسبت به جنتامایسین و پیپراسیلین/تازوباکتام مقاوم بودند. سویه‌های مقاوم به کاربانپم حداقل غلظت مهار کنندگی بالای µg/ml ۳۲ نشان دادند. ۸۱ جدایه با مقاومت چندگانه شناسایی شدند. ژن $bla_{GIM}$ در هیچ کدام از جدایه‌ها شناسایی نشد، در حالی که ۷۱ درصد نمونه‌ها حامل $bla_{SHV}$ بودند. فراوانی بالای مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی نشان دهنده مصرف بی‌رویه و بدون نظارت آنتی‌بیوتیک می‌باشد که درمان عفونت‌های سودوموناسی را با مشکل مواجه کرده است.

**کلمات کلیدی:** *سودوموناس آئروژینوزا*، مقاومت، کاربانپم، $bla_{SHV}$، $bla_{GIM}$

**Cite this article:** Dostmohammadi F, Kouhi Noghondar M. Isolation and characterization of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains from clinical isolates. *Informatics in Biology, Health, and Food*. 2024;1(1):40-51.
**Copyright©:** The Authors. Published by Shandiz Institute of Higher Education.
**Corresponding author:** Fatemeh Dostmohammadi **Email**: fdoostmohamadi1998@gmail.com

## مقدمه

افزایش مقاومت باکتری‌ها به داروهای ضد میکروبی، به‌ویژه در عفونت‌های بیمارستانی، یک چالش جدی جهانی محسوب می‌شود. *سودوموناس ائروجینوزا* [1] یک باکتری گرم منفی و فرصت طلب است که به‌طور عمده در بیمارستان‌ها و مراکز درمانی یافت می‌شود (۱،۲). این باکتری به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی شناخته می‌شود. به‌خصوص در بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه (ICU)[2] که دارای سیستم ایمنی ضعیف هستند، می‌تواند عفونت‌های شدیدی ایجاد کند (۳). *سودوموناس ائروجینوزا* عامل عفونت‌های مختلف از جمله عفونت‌های ریوی، عفونت‌های زخم، عفونت‌های دستگاه ادراری و عفونت‌های خونی است (۴،۵). مقاومت این باکتری به آنتی‌بیوتیک‌های کاربا‌پنم بسیار نگران‌کننده است، زیرا گزینه‌های درمانی محدودی در دسترس است (۶). به طور معمول، مقاومت به کاربا‌پنم با تولید متالو بتالاکتامازها مرتبط است، اما در برخی مناطق، به نظر می‌رسد که نقش تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف در افزایش مقاومت، بیشتر مطرح است.

کاربا‌پنم‌ها به عنوان آنتی‌بیوتیک‌های خط آخر در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های مقاوم به چندین گروه آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند . با این حال، در سال‌های اخیر، مقاومت به کاربا‌پنم‌ها در بسیاری از پاتوژن‌ها، از جمله *سودوموناس ائروجینوزا* ، افزایش یافته است (۷). این مقاومت معمولاً از طریق تولید بتالاکتامازهای با طیف گسترده (ESBL)[3] یا متالو بتالاکتامازها (MBLs)[4] به وجود می‌آید (۸).

بتالاکتامازهای طیف گسترده و متالو بتالاکتامازها، آنزیم‌هایی هستند که توسط برخی از سویه‌های *سودوموناس ائروجینوزا* تولید می شوند و به مقاومت آنها در برابر طیف وسیعی از آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام از جمله کاربا‌پنم‌ها، پنی سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها کمک می‌کنند. این آنزیم‌ها باکتری‌ها را قادر می‌سازند که حلقه بتالاکتام را که جزء ساختاری حیاتی برای فعالیت آنتی بیوتیک است، شکسته و غیرفعال کنند (۹).

ژن‌های کلیدی ESBLها شامل $bla_{SHV}$ که معمولاً با مقاومت به سفالوسپورین‌ها همراه است، $bla_{TEM}$ که به پنی‌سیلین‌ها و برخی سفالوسپورین‌ها مقاومت نشان می‌دهد و $bla_{CTX-M}$ که به طور گسترده در ESBLها یافت می‌شود و باعث مقاومت به سفوتاکسیم و سفالوسپورین‌های مرتبط است. ژن‌هایی که در تولید متالو بتالاکتامازها دخیل هستند شامل $bla_{VIM}$[5]، $bla_{IMP}$[6] می‌باشد که یکی از رایج‌ترین ژن‌های متالو بتالاکتامازها هستند که به کاربا‌پنم‌ها مقاومت نشان می‌دهند. $bla_{NDM}$[7] اولین بار در سایر گونه‌های باکتریایی شناسایی شد اما به طور فزاینده‌ای در *سودوموناس* یافت شد و به ایجاد مقاومت گسترده کمک کرد. $bla_{GIM}$[8] و $bla_{SIM}$[9] کمتر رایج هستند اما هنوز در برخی مناطق قابل مشاهده هستند (۱۰،۱۱).

وجود این ژن‌ها اغلب نشان‌دهنده مقاومت به چند دارو (MDR)[10] در *سودوموناس ائروجینوزا* است که گزینه‌های درمانی را محدود می‌کند و بر ضرورت نظارت دقیق در محیط‌های بالینی برای جلوگیری از شیوع بیماری‌ها تأکید می‌کند. روش‌های مولکولی، مانند PCR و تعیین توالی، معمولاً ابزارهای کلیدی برای شناسایی ژن‌های مقاومت هستند، که درکنترل عفونت و هدایت رویکردهای درمانی مؤثر، استفاده می‌شوند.

این مطالعه با هدف بررسی شیوع ژن $bla_{SHV}$ به عنوان یکی از بتالاکتامازهای با طیف گسترده، و ژن $bla_{GIM}$ متالو بتالاکتاماز در جدایه‌های بالینی *سودوموناس ائروجینوزا* مقاوم به کاربا‌پنم در بیماران بیمارستان امام رضا (ع) مشهد انجام شد. با توجه به الگوهای متفاوت مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مناطق مختلف جهان، این تحقیق تلاش می‌کند تا تصویری دقیق از وضعیت مقاومت در مشهد ارائه دهد. یکی از اهداف اصلی این مطالعه، پاسخ به این مسئله ا است، که آیا مقاومت به کاربا‌پنم در این منطقه بیشتر به بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف مانند $bla_{SHV}$ وابسته است یا به متالو بتالاکتامازها مانند $bla_{GIM}$.

[1] *Pseudomonas aeruginosa*
[2] Intensive care units
[3] Extended-Spectrum Beta-Lactamases
[4] Metallo-Beta-Lactamases
[5] Verona Integron-Encoded Metallo-beta-lactamase
[6] Imipenemase
[7] New Delhi Metallo-beta-lactamase
[8] German Imipenemase
[9] Seoul Imipenemase
[10] Multidrug-resistant

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری نمونه‌ها و شناسایی جدایه‌ها

۱۲۶ جدایه *سودوموناس ائروجینوزا* از نمونه‌های بالینی بیماران بستری که در معرض خطر بالاتری از ابتلا به عفونت‌های *سودوموناس ائروجینوزا* بودند، از بخش‌های کبد و گوارش، اورولوژی، سوختگی مردان و زنان، مسمومین، جراحی عمومی، جراحی سوانح، اعصاب و روان، گوش حلق و بینی و به‌ویژه بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان آموزشی و درمانی امام رضا (ع) مشهد، تابستان ۱۴۰۲جمع‌آوری شدند. پس از جمع آوری نمونه‌ها از بخش‌های مختلف بیمارستان، جهت تشخیص جدایه-های *سودوموناس ائروجینوزا* از سایر باکتری‌های گرم منفی و حصول اطمینان از جنس و گونه باکتری از تست‌های بیوشیمیایی استاندارد، شامل رشد در محیط بلاد آگار، محیط سیتریماید آگار، عدم تخمیر گلوکز و لاکتوز در محیط TSI، تولید اکسیداز، مصرف قند از طریق اکسیداسیون در محیط اکسیداسیون- تخمیری (OF)[1]، رشد در دمای ۴۱ درجه سانتی‌گراد، تولید پیگمان و حرکت، استفاده شد. در این مطالعه از سویه‌ی استاندارد *سودوموناس ائروجینوزا* (ATCC 15692) نیز به‌عنوان سویه کنترل استفاده شد.

### آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی

جهت بررسی حساسیت آنتی بیوتیکی از روش دیسک دیفیوژن مطابق با استاندارد CLSI[2]، استفاده گردید. به طور خلاصه پس از تهیه سوسپانسیون باکتریایی مطابق با کدورت نیم مک فارلند (۱.۵ ×۱۰$^{۸}$ باکتری در هر میلی‌لیتر) باکتری توسط سوآپ استریل در محیط مولر هینتون آگار تلقیح و دیسک‌های آنتی‌بیوتیک در سطح محیط کشت قرار داده شدند. پس از گرم خانه گذاری در دمای ۳۵ درجه به مدت ۲۴ ساعت نتایج بررسی شدند. برای خواندن نتایج با استفاده از یک خط-کش دقیق، قطر هاله عدم رشد باکتری در اطراف دیسک بر حسب میلیمتر اندازه‌گیری شدند. با استفاده از جدول میزان حساسیت باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش شدند (CLSI, 2022 #152). ارزیابی کمی مقاومت ایزوله‌های *سودوموناس ائروجینوزا* به ایمی‌پنم و تعیین حداقل غلظت مهار رشد، با استفاده از روش E-testصورت گرفت. این تست‌ها بر روی محیط مولر هینتون آگار با قرار دادن نوار مربوطه روی محیط کشت حاوی باکتری انجام شدند. نقطه تلاقی یا هاله عدم رشد با نوار، نشان دهنده حداقل غلظت مهار رشد بود.

### بررسی حضور ژن‌های $bla_{SHV}$ و $bla_{GIM}$ با واکنش زنجیره پلی مراز (PCR)

استخراج DNA با استفاده از روش جوشاندن انجام شد. به طور خلاصه یک لوپ پر از کشت یک شبانه روزی رشد یافته از هر جدایه در ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل مخلوط و سوسپانسیون باکتریایی تهیه شد. سپس سوسپانسیون در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده و به مدت ۱۰ دقیقه با دور g ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. سپس مواد رویی به عنوان الگوی DNA برای PCR مورد استفاده قرار گرفتند. DNA استخراج شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای استفاده‌های بعدی و در دمای۲۰- درجه سانتی‌گراد برای نگهداری طولانی‌مدت ذخیره شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای ژن‌های $bla_{GIM}$ و $bla_{SHV}$ انجام شد. پرایمر مورد استفاده برای *ژن‌های* $bla_{GIM}$ شامل F-5′ TCGACACACCTTGGTCTGAA-3′ و R-5′AATTCCAACTTTGCCATGC-3′ و برای ژن $bla_{SHV}$ با ترادف F-5′AGGATTGACTGCCTTTTTG-3′ و R-5′ATTTGCTGATTTCGCTCG-3′ استفاده شدند. واکنش PCR در محلول بافری حاوی آب بدون نوکلئاز و مستر میکس ۲X انجام شد. مستر میکس PCR یک محلول از پیش آماده‌شده است که شامل Taq DNA پلیمراز، dNTPها و بافرهای واکنشی $MgCl_2$ با غلظت‌های بهینه برای تقویت کارآمد DNA در فرآیند PCR می‌باشد. این مواد از شرکت آمپلیکون تهیه شدند. مقادیر مواد واکنش PCR شامل آب دوبار تقطیر و غیر یونیزه ۱۱/۵ میکرولیتر، مستر میکس ۲X، ۱۲/۵ میکرولیتر، پرایمرهای فوروارد و ریورس هر کدام با غلظت ۱۰Pmol نیم میکرولیتر و DNA الگو ۰/۵ میکرولیتر بودند. برنامه ترموسایکلر برای واکنش با استفاده از برنامه زیر انجام شد: دمای واسرشت اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۰ چرخه به ترتیب دمای واسرشت ۹۵ درجه

[1] Oxidation-Fermentation

[2] Clinical and Laboratory Standards Institute

سانتی‌گراد یک دقیقه، دمای انیلینگ پرایمرها ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت به مدت ۳۰ ثانیه و طویل سازی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه تنظیم شد.

### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌های با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SPSS و آزمون کای اسکوئر انجام شد. p value < ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

## نتایج

### جمع‌آوری نمونه‌ها و شناسایی جدایه‌ها

در مطالعه حاضر از مجموع ۱۳۰ نمونه بالینی مثبت *سودوموناس ائروجینوزا* که طی بازه زمانی شش ماهه به آزمایشگاه بیمارستان امام رضا (ع) ارسال گردیده بودند، پس از انجام آزمایشات اولیه و تست‌های بیوشیمیایی ۱۲۶ جدایه *سودوموناس ائروجینوزا* مورد استفاده قرار گرفت.

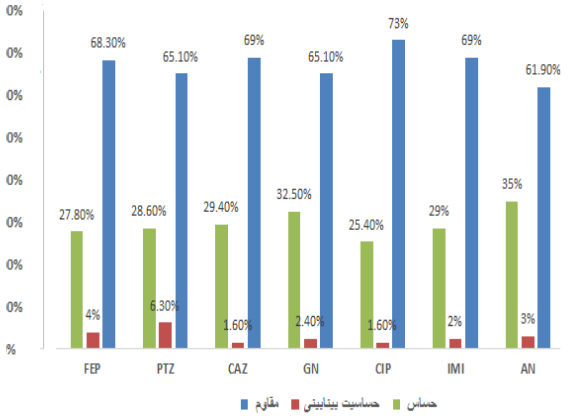
نتایج نشان داد که بیشترین درصد *سودوموناس ائروجینوزا* مربوط به بخش ICU با ۲۶ درصد و سپس بخش داخلی با ۱۸٪ و بخش ارولوژی با ۱۴درصد بودند. در بازه زمانی تعیین شده از بخش‌های قلب اطفال و کبد و گوارش فقط یک مورد ارسالی باکتری جدا شد. در کل از ۱۲۶ نمونه جدا شده، ۴۱/۲۶ درصد مربوط به کشت ادرار، ۳۵/۱۵ درصد نمونه مربوط به ترشحات و ۱۰/۳۱ درصد مربوط به تراشه بود. جدول ۱ فراوانی جدایه‌ها را از نمونه‌های بالینی مختلف نشان می‌دهد.

از مجموع ۵۲ نمونه مربوط به کشت ادرار، ۱۶ نمونه مربوط به بخش ارولوژی و ۱۴ نمونه مربوط به بخش داخلی بودند. همچنین از مجموع ۳۷ نمونه ارسالی مربوط به ترشحات مختلف بدن، ۱۱ نمونه مربوط به بخش ICU بود. به علاوه از ۱۳ نمونه مربوط به تراشه، ۱۲ نمونه نیز از بخش ICU دریافت شدند.

از مجموع ۱۲۶ نمونه باکتریایی مورد بررسی، ۸۴ مورد (۶۷ درصد) مربوط به مردان و ۴۲ نمونه (۳۳ درصد) نیز مربوط به زنان بودند. و در بین آنها جدایه‌های *سودوموناس ائروجینوزا* از ۳۵ مورد نمونه‌های کشت ادرار مردان و ۱۷ مورد نمونه‌های کشت ادرار زنان جدا شدند. همچنین در نمونه‌های مربوط به ترشحات بدن ۲۶ مورد مربوط به مردان و ۱۱ مورد مربوط به زنان بود. به علاوه از ۳۳ جدایه *سودوموناس ائروجینوزا* از بخش ICU، ۲۰ مورد مربوط به مردان و ۱۳ مورد مربوط به زنان بود و از ۲۳ مورد نمونه بخش داخلی، ۱۵ مورد مربوط به مردان و تنها ۸ مورد مربوط به زنان بود.

### نتایج آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی

نمودار شکل ۱، حساسیت، مقاومت و حساسیت بینابینی آنتی-بیوتیک‌های مورداستفاده را در بین جدایه‌های *سودوموناس ائروجینوزا* نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین با ۹۲ مورد (۷۳درصد) و کمترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک آمیکاسین با ۷۸ مورد (۶۱/۲ درصد) است.




شکل ۱: فراوانی سویه‌های مقاوم، حساسیت بینابینی و حساس در جدایه‌های *سودوموناس ائروجینوزا* .

آمیکاسین:AN، ایمی‌پنم:IMI، سیپروفلوکساسین:CIP،

جنتامایسین: GN، سفتازیدیم: CAZ، پیپراسیلین

تازوبکتام: PTZ، سفپایم: FEP.

Figure 1: Frequency of resistant, intermediate and sensitive strains in *P. aeruginosa* isolates.

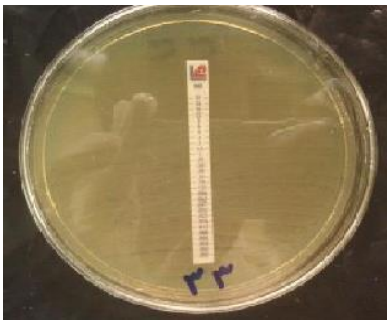
سایر آنتی‌بیوتیک‌ها سطوح متوسطی از مقاومت را نشان دادند، با نرخ مقاومت ۶۹ درصد برای ایمی‌پنم و سفتازیدیم، ۶۸ درصد برای سفپیم، و ۶۵ درصد برای جنتامایسین و پیپراسیلین/تازوباکتام. این یافته‌ها نشان داد که *سودوموناس ائروجینوزا* به چندین کلاس از آنتی‌بیوتیک‌ها، از جمله کاربا‌پنم‌ها (ایمی‌پنم) و سفالوسپورین‌ها (سفتازیدیم و سفپیم)، که اغلب گزینه‌های آخر برای درمان عفونت‌های MDR هستند، مقاومت دارند.

جدول۱: فراوانی سویه‌های سودوموناس ائروجینوزا جداشده از نمونه‌های بالینی

Table 1: Frequency of *P.aeruginosa* strains isolated from clinical samples.

| نمونه بالینی | فراوانی | درصد فراوانی |
|---|---|---|
| ادرار | ۵۲ | ۴۱/۲۶ |
| ترشحات | ۳۸ | ۳۰/۱۵ |
| تراشه | ۱۳ | ۱۰/۳۱ |
| خون | ۷ | ۵/۵۵ |
| کاتتر | ۵ | ۳/۹۶ |
| آسیت | ۲ | ۱/۵۸ |
| سایر مایعات | ۲ | ۱/۵۸ |
| پلور | ۱ | ۰/۷۹ |
| برونش | ۱ | ۰/۷۹ |
| زخم زانو | ۱ | ۰/۷۹ |
| مفصل | ۱ | ۰/۷۹ |
| آبسه | ۱ | ۰/۷۹ |
| ساق پا | ۱ | ۰/۷۹ |
| بیوپسی | ۱ | ۰/۷۹ |
| کل | ۱۲۶ | ۱۰۰ |

طبق بررسی‌های صورت گرفته از مجموع ۱۲۶ نمونه مورد آزمایش، ۸۱ نمونه با فراوانی ۶۴/۳ درصد سویه MDR و تعداد ۴۵ نمونه نیز با فراوانی ۳۵/۷ درصد سویه غیر MDR شناسایی شدند. برای بررسی حداقل غلظت مهار آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم از روش E-test استفاده شد (شکل ۲). تمامی سویه‌های مورد بررسی حداقل غلظت مهار بالای ۳۲ داشتند.

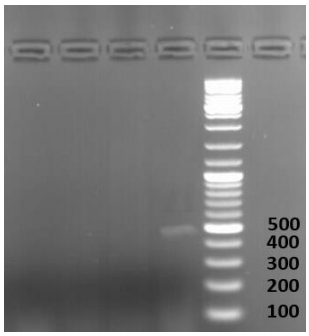


شکل ۲: بررسی حداقل غلظت مهار آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم به روش E-test.

Figure 2: Investigation of the minimum inhibition concentration of imipenem antibiotic by E-test method

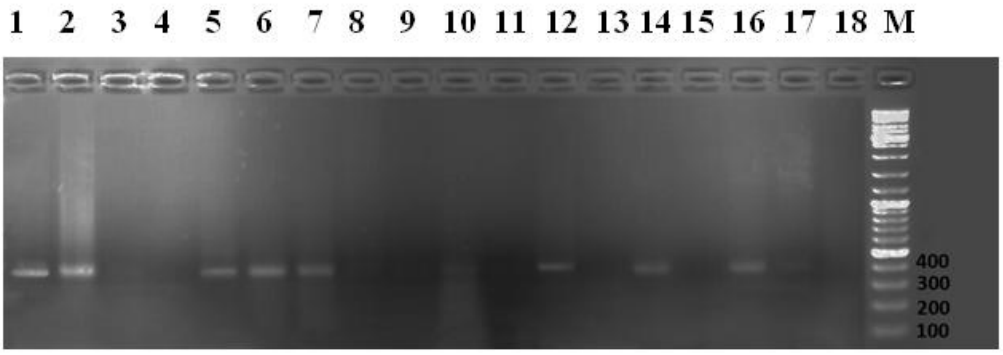
**نتایج PCR**

حضور ژن‌های مقاومت $bla_{SHV}$, $bla_{GIM}$ , در جدایه‌های بالینی *سودوموناس ائروجینوزا* با تکنیک PCR و الکتروفورز روی ژل اگارز بررسی شد. نتایج PCR نشان داد که هیچ کدام از جدایه‌ها حامل ژن $bla_{GIM}$ نبودند با این حال ۷۱درصد جدایه‌های ایمی‌پنم مقاوم، حاوی ژن $bla_{SHV}$ بودند (شکل ۳ و ۴).




شکل۳: نتایج PCR و عدم حضور ژن $bla_{GIM}$ از سمت راست لدر ۱۰۰۰، کنترل مثبت و نمونه‌های انتخابی.

Figure 3: PCR results and absence of $bla_{GIM}$ gene. From the right side of ladder 1000, positive control and selected samples.




شکل ۴: نتایج PCR و عدم حضور ژن $bla_{SHV}$ از سمت راست لدر ۱۰۰۰، کنترل مثبت و منفی و نمونه‌های انتخابی.

Figure 4: PCR results and absence of $bla_{SHV}$ gene. From the right side of ladder 1000, positive and negative control and selected samples.

## بحث

شیوع فزاینده پاتوژن‌های باکتریایی مقاوم به چند دارو، به ویژه *سودوموناس ائروجینوزا* ، نشان دهنده چالشی مهم برای بهداشت جهانی به شمار می‌آید، این مسئله به‌ویژه در محیط‌های بیمارستانی که عفونت‌های بیمارستانی شایع هستند، اهمیت بیشتری پیدا می‌کند.. توانایی قابل توجه *سودوموناس ائروجینوزا* در ایجاد مقاومت در برابر چندین کلاس از آنتی بیوتیک‌ها، از جمله بتالاکتام‌ها، فلوروکینولون‌ها، و آمینوگلیکوزیدها، استراتژی‌های درمانی را به‌شدت پیچیده کرده و اغلب منجر به نتایج بالینی ضعیف می‌شود. در این راستا، درک الگوهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی *سودوموناس ائروجینوزا* برای اطلاع‌رسانی رویکردهای درمانی مؤثر و بهبود مدیریت بیماران، به‌ویژه در مناطق پرخطر مانند بخش‌های مراقبت‌های ویژه ضروری است.

در مطالعه حاضر، تجزیه و تحلیل دقیق توزیع نمونه‌ها در میان بخش‌های مختلف بیمارستان نشان داد که بخش مراقبت‌های ویژه با فراوانی ۲۶درصد از کل نمونه‌ها، بیشترین سهم از ابتلا به این باکتری را داشتند. بخش داخلی ۱۸درصد و بخش اورولوژی ۱۴ درصد از کل نمونه ها را شامل شدند که منعکس کننده میزان فراوانی نسبی بیمار و نیازهای بالینی این واحدها است.

۱۲۶ *سودوموناس ائروجینوزا* جدا شده از نمونه‌های کلینکی و بخش‌های مختلف بیمارستان، نشانگر تنوع توزیع و فراوانی انواع نمونه‌ها در بخش‌های مختلف بیمارستان بود. بیشترین نمونه‌ها به ترتیب مربوط به کشت ادرار با ۴۱/۲۶ درصد، ترشحات بدن با ۳۵/۱۵ درصد و نمونه‌های تراشه با ۱۰/۳۱ درصد بودند. فراوانی بالای کشت‌های مثبت *سودوموناس ائروجینوزا* مربوط به ادرار شیوع قابل توجه عفونت‌های دستگاه ادراری در جمعیت بیمار را نشان داد. با توجه به گسترش سیستمیک بالقوه باکتری‌ها این یک مشاهده مهم بود. این امر اهمیت مطالعه عفونت‌های ادراری را نه تنها به عنوان مسائل موضعی، بلکه به عنوان تهدیدات سیستمیک بالقوه در مدیریت بالینی نشان داد. ۱۶ نمونه از ۵۲ جدایه *سودوموناس ائروجینوزا* جداشده از ادرار مربوط به بخش اورولوژی بود، در حالی که بخش داخلی ۱۴ جدایه را به خود اختصاص داد. این فراوانی با پروفایل های مورد انتظار بیمار در این بخش‌ها، جایی که مشکلات ادراری و سیستمیک معمولاً مدیریت و بررسی می شوند، مطابقت دارد. فراوانی بالای کشت مثبت *سودوموناس ائروجینوزا* در نمونه‌های ادرار بخش اورولوژی، نقش حیاتی تشخیص هدفمند در پیشگیری و مدیریت عفونت‌های ادراری، به‌ویژه در محیط‌های بیمارستانی که خطر عفونت‌های بیمارستانی افزایش می‌یابد، تأکید می‌کند.

۳۵/۱۵ درصد از کل نمونه ها شامل ترشحات بدن بود که بخش قابل توجهی از تشخیص های بالینی را نشان داد. از ۳۷ جدایه *سودوموناس ائروجینوزا* مربوط به ترشحات مختلف، ۱۱ نمونه از بخش ICU بود که بیشتر بر تقاضای تشخیصی بالای بیماران بدحال ارتباط داشت که با نقش ICU در مدیریت بیمارانی که بیشتر مستعد ابتلا به عفونت‌ها هستند، از جمله مواردی که ناشی از روش‌های تهاجمی، تهویه مکانیکی، یا اقامت طولانی‌مدت در بیمارستان هستند، مطابقت دارد. نظارت بر این ترشحات برای تشخیص زودهنگام عفونت و جلوگیری از تشدید سپسیس یا سایر عوارض ضروری است.

یک یافته قابل توجه دیگر این است که ۱۲ جدایه *سودوموناس ائروجینوزا* از ۱۳ نمونه نای نیز توسط ICU ارسال شده است. ارسال مکرر این نمونه‌ها نشان‌دهنده اقدامات پیشگیرانه کنترل عفونت است، که در آن تشخیص زودهنگام می‌تواند با فعال کردن مداخلات درمانی به‌موقع، تأثیر قابل‌توجهی بر نتایج بیمار داشته باشد. نسبت بالای نمونه‌های ICU، هم برای ترشحات و هم برای نای، ممکن است به عنوان شاخصی از فشار این واحد برای پروتکل‌های کنترل عفونت سخت‌گیرانه، با هدف کاهش شیوع عفونت‌های اکتسابی در بیمارستان باشد. شیوع بالای جدایه های *سودوموناس ائروجینوزا* از بخش مراقبت های ویژه (۳۳ مورد در این مطالعه) با یافته های سایر بیمارستان های ایران مطابقت داشت. به عنوان مثال، مطالعه‌ای که در بخش مراقبت‌های ویژه یکی از بیمارستان‌های بزرگ کرمان انجام شد، نشان داد که *سودوموناس ائروجینوزا* شایع‌ترین پاتوژن است که ۴۰ درصد از کل عفونت‌های ICU تشکیل می‌دهد (۱۲). مطالعه دیگری در تهران، فراوانی بالای ایزوله های *سودوموناس ائروجینوزا* را در بیماران ICU گزارش کرد که ۳۵ درصد از کل عفونت های باکتریایی را شامل می شود (۱۴). مطالعه حاضر شیوع بالاتر جدایه *سودوموناس ائروجینوزا* را در مردان (۶۷ درصد) نسبت به زنان (۳۳ درصد) به ویژه در نمونه های ادرار و ترشحات بدن نشان داد. این روند در سایر مطالعات انجام شده در ایران نیز مشاهده شده است. به عنوان مثال، در مطالعه‌ای که در دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد، عفونت *سودوموناس ائروجینوزا* در مردان (۶۳/۸ درصد) در مقایسه با زنان (۳۶/۲ درصد) در نمونه‌های ادرار و

تنفسی شیوع بیشتری داشت. مطالعه دیگری از تهران نیز یافته های مشابهی را گزارش کرد که در آن مردان ۶۵ درصد از کل موارد را به ویژه در عفونت های مرتبط با بیماران ICU تشکیل می دادند (۱۵).

در مطالعه حاضر، ایزوله‌های *سودوموناس ائروجینوزا* ، الگوهای قابل توجهی از مقاومت آنتی‌بیوتیکی را نشان دادند که یک مسئله حیاتی در عفونت‌های اکتسابی بیمارستانی است. داده ها نشان داد که بیشترین مقاومت مربوط به سیپروفلوکساسین با (۷۳ درصد) بود. این سطح بالای مقاومت به‌ویژه نگران‌کننده است، زیرا سیپروفلوکساسین معمولاً در درمان طیف وسیعی از عفونت‌های باکتریایی، از جمله عفونت‌های ناشی از *سودوموناس ائروجینوزا* ، به دلیل فعالیت وسیع الطیف و فارماکوکینتیک مطلوب آن استفاده می‌شود(۱۶). استفاده گسترده از سیپروفلوکساسین، هم در محیط های بیمارستانی و هم در درمان سرپایی، ممکن است به این مقاومت به دست آمده، کمک کرده باشد. این یافته با سایر مطالعات در ایران و در سطح جهان مطابقت دارد. زیرا استفاده بیش از حد و سوء استفاده از فلوروکینولون ها مانند سیپروفلوکساسین منجر به افزایش قابل توجهی در میزان مقاومت در *سودوموناس ائروجینوزا* شده است. ، یک مطالعه در تهران میزان مقاومت ۷۰ درصدی به سیپروفلوکساسین را در بین ایزوله‌های *سودوموناس ائروجینوزا* گزارش داد که با مقاومت مشاهده شده در مطالعه حاضر قابل مقایسه است (۱۷) . به همین ترتیب، مطالعه‌ای که در اهواز انجام شد نشان داد که ۷۲ درصد از ایزوله های *سودوموناس ائروجینوزا* به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند. این مطالعات، همراه با یافته های حاضر، نشان می دهد که استفاده گسترده از سیپروفلوکساسین در درمان انواع عفونت ها، به ویژه در محیط های بیمارستانی، احتمالاً به توسعه سریع مقاومت کمک کرده است. فلوروکینولون‌ها، مانند سیپروفلوکساسین، به دلیل پوشش وسیع الطیف و توانایی نفوذ به بافت‌ها اغلب مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما استفاده بیش از حد از آن‌ها هم در بیمارستان‌ها و هم در محیط‌های درمانی سرپایی باعث ایجاد مقاومت این سویه از باکتری شده است (۱۵).

در مقابل، کمترین مقاومت در مورد آمیکاسین مشاهده شد، که ۶۱/۲ درصداز جدایه ها مقاوم بودند. اگرچه این کمترین مقاومت در میان آنتی‌بیوتیک‌های آزمایش‌شده است، اما بیانگر این واقعیت است که بیش از ۶۰ درصد از جدایه‌ها به آمیکاسین مقاومت نشان می‌دهند. این امر شیوع هشداردهنده سویه‌های *سودوموناس ائروجینوزا* مقاوم به چند دارو (MDR) را نشان می‌دهد. مطالعات دیگر در ایران میزان مقاومت نسبتاً پایین‌تری برای آمینوگلیکوزیدها مانند آمیکاسین در مقایسه با سایر آنتی‌بیوتیک‌ها گزارش کرده‌اند، و با مطالعه فعلی مطابقت دارد. مطالعه ای که در اصفهان انجام شد، میزان مقاومت مشابه ۶۰ درصدی را برای آمیکاسین نشان داد (۱۵)، در حالی که یک مطالعه در تهران مقاومت ۵۸ درصدی را برای این آنتی-بیوتیک گزارش کرد (۱۶). آمیکاسین که اغلب برای عفونت‌های شدید مصرف می‌شود، به دلیل توانایی در مهار سنتز پروتئین و فعالیت باکتری‌کشی قوی‌اش، اثربخشی خود را در برابر *سودوموناس ائروجینوزا* حفظ کرده است. با این حال، میزان مقاومت ۶۱/۲درصدی در مطالعه کنونی نشان می‌دهد که مقاومت در حال افزایش است.

سایر آنتی بیوتیک ها سطوح متوسطی از مقاومت را نشان دادند، با نرخ مقاومت ۶۹ درصد برای ایمی‌پنم و سفتازیدیم، ۶۸ درصد برای سفپیم، و ۶۵ درصد برای جنتامایسین و پیپراسیلین/تازوباکتام. این یافته‌ها نشان داد که *سودوموناس ائروجینوزا* به چندین کلاس از آنتی‌بیوتیک‌ها، از جمله کاربابپنم‌ها (ایمی‌پنم) و سفالوسپورین‌ها (سفتازیدیم و سفپیم)، که اغلب گزینه‌های آخر برای درمان عفونت‌های MDR هستند، مقاوم شده است.

مقاومت نسبتاً بالا به ایمی پنم (۶۹ درصد) به طور یقین نگران کننده است، زیرا کاربابپنم‌ها اغلب برای درمان عفونت‌های شدید و مقاوم به چند دارو استفاده می شوند. زیرا مقاومت به کاربابپنم، به ویژه در محیط‌های بیمارستانی، چالشهای مهمی را برای مدیریت عفونت ایجاد می کند. میزان مقاومت قابل مقایسه در مطالعات دیگر در ایران گزارش شده است. به عنوان مثال، مطالعه ای در مشهد نشان داد که ۶۸ درصد از ایزوله های *سودوموناس ائروجینوزا* به ایمی‌پنم مقاوم هستند (۱۷) و مطالعه ای در تبریز میزان مقاومت ۶۵ درصدی را گزارش کرده است (۱۸) . این یافته‌ها نشان‌دهنده روند ثابت افزایش مقاومت به کاربابپنم در سراسر ایران است که احتمالاً به دلیل فشار انتخابی ناشی از استفاده بیش از حد از کاربابپنم‌ها در درمان عفونت‌های MDR است. روند رو به رشد *سودوموناس ائروجینوزا* مقاوم به کاربابپنم یک نگرانی جهانی است، زیرا این سویه‌ها تقریباً به تمام آنتی‌بیوتیک‌های موجود مقاوم هستند. این امر منجر به انتخاب گزینه‌های درمانی محدود و نرخ مرگ‌ومیر بالاتر بیماران می‌شود (۱۹).

الگوهای مقاومت آنتی بیوتیکی مشاهده شده در این مطالعه با

روندهای جهانی، به ویژه در مناطقی که *سودوموناس ائروجینوزا* عامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی است، مطابقت دارد. یک بررسی سیستماتیک انجام شده در اروپا و آمریکای شمالی میزان مقاومت بالا به سیپروفلوکساسین (۷۲ درصد)، ایمی پنم (۶۸ درصد) و سفتازیدیم (۷۰ درصد) را در بین ایزوله‌های *سودوموناس ائروجینوزا* ، مشابه یافته‌های ایران گزارش کرده است (۲۰). این روندها تهدید جهانی ناشی از *سودوموناس ائروجینوزا* با مقاومت چندگانه را برجسته می کند و بر اهمیت همکاری بین المللی در مبارزه با مقاومت آنتی بیوتیکی تاکید می کند.

مقاومت کارباپنم در *سودوموناس ائروجینوزا* اغلب توسط تولید آنزیم‌های هیدرولیزکننده کارباپنم، از جمله متالوبتا-لاکتامازها (MBLs) و بتالاکتامازهای طیف گسترده (ESBLs) ایجاد می‌شود. از جمله مرتبط‌ترین ژن‌های کارباپنماز از نظر بالینی می‌توان به *blaVIM* ، *blaIMP*، *blaNDM* و *blaGIM* اشاره کرد که با تجزیه این آنتی بیوتیک های قوی، مسئول ایجاد مقاومت به کارباپنم ها هستند. ژن blaSHV که معمولاً با مقاومت بتالاکتام با طیف گسترده مرتبط است، در برخی از مطالعات نیز در مقاومت به کارباپنم نقش دارد. نظارت بر شیوع این ژن‌های مقاومت در ایزوله‌های بالینی برای درک مکانیسم‌های مولکولی مقاومت و شناسایی گزینه‌های درمانی مناسب در بیمارستان‌ها، به‌ویژه در مناطقی که *سودوموناس ائروجینوزا* عامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی است، ضروری است.

در مطالعه حاضر، ژن $bla_{GIM}$ در هیچ کدام از جدایه های *سودوموناس ائروجینوزا* شناسایی نشد، در حالی که ژن $bla_{SHV}$در ۷۱ درصد از جدایه‌های *سودوموناس ائروجینوزا* شناسایی گردید. عدم وجود ژن $bla_{GIM}$ با چندین مطالعه انجام شده در سایر مناطق ایران از جمله مشهد و اصفهان مطابقت دارد (۱۷) ، در مطالعه‌ای گزارش شده است که $bla_{GIM}$ دارای حضور بسیار کم یا غیرقابل تشخیص است. به عنوان مثال، در مطالعه ای توسط خسروی و همکاران که در اهواز انجام شد، عدم حضور ژن‌های چون $bla_{IMP}$ در جدایه های *سودوموناس ائروجینوزا* جمع آوری شده از بیماران، گزارش شد (۲۱). این نشان می‌دهد که در حالی که فراوانی $bla_{GIM}$در ایران نسبتاً نادر است، سایر ژن‌های MBL مانند blaVIM و blaIMP شیوع بیشتری دارند، همانطور که در مطالعه مذکور با نرخ تشخیص حدود ۱۵-۲۰ درصد گزارش شده است. به طور مشابه، مطالعات سایر کشورها نیز شیوع کم یا صفر $bla_{GIM}$ را گزارش می‌کنند (۲۲) که نشان می‌دهد این ژن ممکن است از نظر جغرافیایی محدود یا محدود به سویه‌هایی با شیوع خاص باشد. در مقابل، شیوع بالای $bla_{SHV}$ (۸۰ درصد) در این مطالعه به طور قابل توجهی در مقایسه با سایر گزارش‌های ایران و سایر مناطق بیشتر است. مطالعه ای که توسط شاهچراغی و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام شد، شیوع $bla_{SHV}$ را ۶۰ درصد در بین جدایه‌های *سودوموناس ائروجینوزا* گزارش کرد (۲۳)، در حالی که در کشورهایی مانند عربستان سعودی و مصر، شیوع بین ۵۰-۷۰ درصد مشاهده شده است (۲۲). شیوع بالاتر این ژن در مطالعه حاضر می تواند، تغییرات منطقه ای در انتشار $bla_{SHV}$ را نشان دهد یا احتمالاً منعکس کننده تفاوت در شیوه‌های کنترل عفونت بیمارستانی است. توزیع گسترده $bla_{SHV}$نگران کننده است زیرا بیانگر سهم قابل توجهی از تولید بتالاکتاماز با طیف گسترده در مقاومت *سودوموناس ائروجینوزا* در ایران است که درمان این عفونت‌ها را با آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتاماز جمله کارباپنم‌ها پیچیده‌تر می‌کند.

## نتیجه‌گیری

گسترش *سودوموناس ائروجینوزا* مقاوم به کارباپنم یک چالش بزرگ برای سلامت عمومی ایجاد می‌کند زیرا این سویه‌ها اغلب به چندین کلاس آنتی‌بیوتیک دیگر مقاوم هستند و گزینه‌های درمانی کمی باقی می‌گذارد. میزان مقاومت بالای مشاهده شده در این مطالعه بر نیاز به برنامه‌های نظارت ضدمیکروبی سخت‌گیرانه‌تر و افزایش اقدامات کنترل عفونت، به‌ویژه در ICU, تاکید می‌کند. علاوه‌براین، توسعه آنتی‌بیوتیک‌های جدید و استراتژی‌های درمانی جایگزین، مانند درمان‌های ترکیبی یا باکتریوفاژ درمانی، برای مقابله با تهدید رو به رشد ناشی از سویه‌های مقاوم به کارباپنم و تضمین نتایج بالینی بهتر برای بیماران مبتلا ضروری خواهد بود. همچنین، عدم وجود $bla_{GIM}$ در این مطالعه، همراه با شیوع بالای $bla_{SHV}$، نشان می‌دهد که *سودوموناس ائروجینوزا* در این منطقه ممکن است برای مقاومت به کارباپنم به جای متالوبتالاکتامازها، بیشتر به مقاومت ناشی از ESBL متکی باشد. الگویی که ممکن است رویکرد متفاوتی باشد.

## References


1. Gailiene G, Pavilonis A, Kareiviene V. The peculiarities of Pseudomonas aeruginosa resistance to antibiotics and prevalence of serogroups. Medicina (Kaunas). 2007; 43(1):36-42. PMID: 17297282.

2. Jones RN, Stilwell MG, Rhomberg PR, SaderHS. Antipseudomonal activity of piperacillin/tazobactam: more than a decade of experience from the SENTRY Antimicrobial 4.Surveillance Progrom (1997-2007). Diagn Microbiol Infect Dis. 2009; 65:331-334. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2009.06.022

3. Dabir S, Mohammadi J, Alizadeh A, Karimi F, Nori K, Mahmoudi S, Pournajafi A. Investigation of the prevalence of CTX-M-1 beta-lactamase gene in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from urinary tract infections in Zanjan hospitals, Iran. South Asian Res J Bio Appl Biosci. 2020;2(2):20. doi: 10.36346/sarjbab. 2020.v02i02. 002 .

4. Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-resistant Pseudomonas aeruginosa: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. Clin Microbiol Rev 2009; 22(4): 582-610. doi: 10.1128/cmr.00040-09

5. Qin, S., W. Xiao, C. Zhou, Q. Pu, X. Deng, L. Lan, H. Liang, X. Song and M. Wu (2022). "Pseudomonas aeruginosa: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics." Signal transduction and targeted therapy 7(1): 199. doi: 10.1038/s41392-022-01056-1

6. Brooks GF, Butel J, Morse SA. Jawetz Medical Microbiology ,23th edition, New York, McGraw-Hill, 2004; pp:262-264.

7. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerging infectious diseases. 2011 Oct;17(10):1791. doi: 10.3201/eid1710.110655

8. Shakibaie MR, Adeli S, Salehi MH. Antibiotic resistance patterns and extended-spectrum β-lactamase production among Acinetobacter spp. isolated from an intensive care Unit of a hospital in Kerman, Iran.Antimicrob Resist Infect Control 2012; 1(1): 1. doi: 10.1186/2047-2994-1-1.

9. Akingbade O, Balogun S, Ojo D, Afolabi R, Motayo B, Okerentugba P, et al. Plasmid Profile Analysis of Multidrug Resistant Pseudomonas aeruginosa Isolated from Wound Infections in South West, Nigeria. World Applied Sci J 2012; 20(6): 766-75. doi: 10.5829/idosi.wasj.2012.20.06.667.

10. Sawada Y, Yaginuma S, Tai M, Iyobe S, Mitsuhashi S. Resistance to β-lactam antibiotics in Pseudomonas aeruginosa. InMicrobial drug resistance 1974 (pp. 391-397). University of Tokyo Press Tokyo.

11. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile β-lactamases. Clinical microbiology reviews. 2007 Jul;20(3):440-58. doi:10.1128/cmr.00001-07.

12. Sharifi H, Pouladfar G, Shakibaie MR, Pourabbas B, Mardaneh J, Mansouri S. Prevalence of β-lactamase genes, class 1 integrons, major virulence factors and clonal relationships of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from hospitalized patients in southeast of Iran. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2019 Jul;22(7):806. doi: 10.22038/ijbms.2019.35063.8340.

13. Dargahi Z, Hamad AA, Sheikh AF, Ahmad Khosravi N, Samei Fard S, Motahar M, Mehr FJ, Abbasi F, Meghdadi H, Bakhtiyariniya P, Heydari R. The biofilm formation and antibiotic resistance of bacterial profile from endotracheal tube of patients admitted to intensive care unit in southwest of Iran. PLoS One. 2022, 17;17(11): e0277329. doi:10.1371/journal.pone.0277329.

14. Ghashghaee A, Behzadifar M, Azari S, Farhadi Z, Bragazzi NL, Behzadifar M, Shahri SS, Ghaemmohamadi MS, Ebadi F, Mohammadibakhsh R, Seyedin H. Prevalence of nosocomial infections in Iran: A systematic review and meta-analysis. Medical journal of the Islamic Republic of Iran. 2018; 32:48. doi: 10.14196/mjiri.32.48.

15. Sedighi M, Peyvandi M, Dehghan M, Raissi V, Pourentezari M, Faghri J. Antimicrobial Resistant Pattern of Pseudomonas aeruginosa Strains Isolated from Patients Referring to Hospitals of Isfahan, Iran. Global Journal of Medicine Researches and Studies.2014;1(1):6-10. https://scholar.google.com

16. Nateghian AR, Karaji S, Zamani K. A decade of trends in the distribution and antimicrobial susceptibility of prevalent uropathogens among pediatric patients from Tehran, Iran during 2005–2016. Asian Journal of Urology. 2021 Jul 1;8(3):253-9. doi: 10.1016/j.ajur.2020.05.008.

17. Vakilzadeh MM, Heidari A, Mehri A, Shirazinia M, Sheybani F, Aryan E, Naderi H, Najaf Najafi M, Varzandeh M. Antimicrobial Resistance among Community-Acquired Uropathogens in Mashhad, Iran. Journal of Environmental and Public Health.

2020;2020(1):3439497. doi:10.1155/2020/3439497.

18. Taghinejad J, Hosseinzadeh M, Molayi Kohneshahri S, Javan Jasor V. Pseudomonas aeruginosa: A biological review. Laboratory and Diagnosis. 2017 Mar 10;8(34):67-82. http://labdiagnosis.ir/browse.php?a_id=202&slc_lang=en&sid=1&printcase=1&hbnr=1&hmb=1

19. Pogue JM, Kaye KS, Veve MP, Patel TS, Gerlach AT, Davis SL, Puzniak LA, File TM, Olson S, Dhar S, Bonomo RA. Ceftolozane/tazobactam vs polymyxin or aminoglycoside-based regimens for the treatment of drug-resistant Pseudomonas aeruginosa. Clinical Infectious Diseases. 2020 Jul 11;71(2):304-10. doi: 10.1093/cid/ciz816.

20. Begum S, Begum T, Rahman N, Khan RA. A review on antibiotic resistance and way of combating antimicrobial resistance. GSC Biological and Pharmaceutical Sciences. 2021 Feb 28;14(2):087-97. doi: 10.3057.4/gscbps.2021.14.2.0037 .

21. Khosravi AD, Mihani F. Detection of metallo-β-lactamase–producing Pseudomonas aeruginosa strains isolated from burn patients in Ahwaz, Iran. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2008 Jan 1;60(1):125-8. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2007.08.003.

22. Abdeltwab NM, Emara M, El-Mahdy TS, El-Magd MA, Moustafa WH, El-domany RA. First report of imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa clinical isolates harboring blaGIM-gene in the Middle East Region. Microbiology. 2019 Jan;52. doi: 10.52142/omujecm.41.3.3.

23. Shahcheraghi F, Nikbin VS, Feizabadi MM. Prevalence of ESBLs genes among multidrug-resistant isolates of Pseudomonas aeruginosa isolated from patients in Tehran. Microb Drug Resist. 2009 Mar;15(1):37-9. doi: 10.1089/mdr.2009.0880. PMID: 19265477.

24. Zowawi HM, Balkhy HH, Walsh TR, Paterson DL. β-Lactamase production in key gram-negative pathogen isolates from the Arabian Peninsula. Clinical microbiology reviews. 2013 Jul;26(3):361-80. doi: 10.1128/cmr.00096-12.