

Mitra Salehi<sup>1</sup>, Sadaf Samani<sup>2\*</sup> 

<sup>1</sup> Assistant Professor,  
Department of Microbiology,  
Azad University, North  
Branch, Tehran, Iran

<sup>2</sup> MSc, Department of  
Microbiology, Azad  
University, North Branch,  
Tehran, Iran

## Determining the Prevalence of qnrB Gene in Pseudomonas Aeruginosa Strains Isolated from Clinical Centers in Tehran in 1394

Received:10 Dec. 2017; Accepted:22 May. 2018

### Abstract

**Background:** *Pseudomonas aeruginosa* is one of the major causes of nosocomial infections. The rise in antibiotic resistance among *Pseudomonas aeruginosa* strains has led to many complications in treatment processes. Among commonly used drugs, resistance to Fluoroquinolones is especially of much importance. In this study the prevalence of qnrB gene was investigated in resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates. This gene is responsible for the development of resistance to Fluoroquinolones.

**Material and Methods:** *Pseudomonas aeruginosa* isolates were collected from surfaces of clinical centers in Tehran and identified employing selective media and biochemical tests. Kirby Bauer Disk diffusion method was conducted for antibiotic susceptibility testing. The presence of qnrB gene was examined using polymerase chain reaction (PCR).

**Results:** About %40 of the collected samples harbored *Pseudomonas aeruginosa* strains, %100 of which were resistant to nalidixic acid and %96 showed resistance to norfloxacin and ciprofloxacin. qnrB was present in %3.3 of the isolates.

**Conclusion:** Analyzing the data from present study and previous research indicates that the rise in resistance rate is due to the extreme usage of Fluoroquinolones in clinical centers, apart from other prevailing reasons of this phenomenon.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa* , qnrB gene, Fluoroquinolones

**\*Corresponding Author:**  
MSc, Department of Microbiology,  
Azad University, North branch,  
Tehran, Iran

Tel: 0919-4575873  
E-mail: sadafsamani68@gmail.com

## بررسی شیوع ژن *qnrB* در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از مراکز درمانی تهران در سال ۱۳۹۴

میترا صالحی<sup>۱</sup>، صدف سامانی<sup>۲\*</sup> ID

<sup>۱</sup>استادیار میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران  
<sup>۲</sup>کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۹۶/۹/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۳/۱

### چکیده

**سابقه و هدف:** سودوموناس آئروژینوزا یکی از اصلی‌ترین عوامل ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی است. افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا باعث ایجاد پیچیدگی‌هایی در فرآیندهای درمانی شده است. در بین داروهای معمول، مقاومت به فلوروکینولون‌ها اهمیت ویژه‌ای دارد، در این مطالعه به بررسی شیوع ژن *qnrB* در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا مقاوم پرداخته شد. این ژن مسئول ایجاد مقاومت به فلوروکینولون‌هاست.

**مواد و روش‌ها:** ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا از سطوح محیطی مراکز درمانی در تهران جمع‌آوری شدند. با آزمون‌های بیوشیمیایی و محیط‌های اختصاصی جداسازی و خالص شدند. حساسیت این سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های فلوروکینولون به روش دیسک دیفیوژن سنجیده شد. جهت بررسی ژن *qnrB* واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرازی PCR انجام شد.

**یافته‌ها:** حدود ۴۰٪ از نمونه‌های جمع‌آوری شده از مراکز درمانی، به عنوان سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا شناسایی شدند. تعیین‌الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که ۱۰۰٪ ایزوله‌ها به نالیدیکسیک اسید، ۹۶٪ به نوروفلوکساسین و سیروفلوکساسین مقاومت دارند و ژن *qnrB* در ۳/۳٪ از نمونه‌ها حضور داشتند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه حاضر و دیگر مطالعات نشان می‌دهد که افزایش مقاومت سویه‌ها نسبت به فلوروکینولون‌ها به دلایل مختلف از جمله استفاده بی‌رویه در مراکز کلینیکی می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** سودوموناس آئروژینوزا، ژن *qnrB*، فلوروکینولون‌ها

\*نویسنده مسئول:

کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران

۰۹۱۹۴۵۷۵۸۷۳

E-mail: sadafsamani68@gmail.com

## مقدمه

امروزه مقاومت سویه‌های مختلف باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها یک مشکل سلامتی عمومی در جهان محسوب می‌شود که افزایش روزافزون آن در سطح جهان مشاهده می‌شود. گزارش‌های مربوطه اصولاً بر پایه شناسایی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری‌های ایزوله شده در عفونت‌های بیمارستانی بوده اند اما در سال‌های اخیر با شناسایی سویه‌های مقاوم به چندین دارو (MDR) به صورت گسترده در کشورهای مختلف، گسترش ژن‌های مربوطه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار شده اند.<sup>۱</sup> گسترش باکتری‌های مقاوم در مکان‌های عمومی از جمله بیمارستان‌ها، استخرها و مدارس گزارش شده است.<sup>۲،۳</sup>

از میان باکتری‌های بیماری‌زای رایج عامل ایجاد انواع عفونت‌ها می‌توان به سودوموناس آئروژینوزا اشاره نمود که حضورش در مکان‌های عمومی نیز بسیار گزارش شده است. این باسیل گرم منفی هوازی در بسیاری نیچ‌ها (nich) مانند محیط‌های آبی با مواد مغذی کم یا الیگوتروفیک، محیط‌های مغذی مانند فاضلاب و بدن انسان قابلیت رشد دارند. این باکتری یک پاتوژن شایع دستگاه ادراری و تناسلی در بیمارستان است. در همه دپارتمان‌های بیمارستان به خصوص در بخش ICU می‌تواند وجود داشته باشد که در آنجا حدود ۱۵٪ از عفونت‌های مربوطه را تشکیل می‌دهد.<sup>۴</sup> از آنجا که این باکتری جزو باکتری‌های کم‌نیاز برای رشد است، می‌تواند به راحتی در محیط اطراف باقی بماند و به بیماران مستعد منتقل شود به همین جهت سعی شده است که این مسئله با روش‌های فنوتیپی و ژنوتیپی مورد بررسی قرار گیرد. شیوع ناگهانی در بیمارستان در ارتباط با سویه‌های مقاوم به چندین دارو (MDR) از سودوموناس آئروژینوزا در بیمارستان‌ها بسیار گزارش شده است.<sup>۵</sup> مقاومت ذاتی سودوموناس آئروژینوزا به بسیاری از کلاس‌های آنتی‌بیوتیک و همچنین توانایی این باکتری به کسب مقاومت به تقریباً تمامی آنتی‌بیوتیک‌های موثر، درمان این پاتوژن را سخت می‌کند.<sup>۶</sup> مقاومت این باکتری تا کنون به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها همچون پنی‌سیلین، G، سفالوسپورین‌های نسل اول و دوم، تری‌متوپریم، تتراسیکلین، کلرامفنیکل و کینولون‌ها گزارش شده است، این میان مقاومت به کینولون‌ها توجه بسیاری به خود جلب نمود. این آنتی‌بیوتیک

معمولاً در عفونت‌های ادراری مصرف می‌شود و در برخی کشورها در عفونت‌های اطفال نیز تجویز می‌گردد. اولین شاخص مقاومتش در سال ۱۹۹۸ در سویه کلبسیلا پنومونیه به واسطه پلاسمید (*qnrA*) از آمریکا گزارش شد.<sup>۷</sup>

در باکتری‌های گرم منفی، برای مدت طولانی تصور می‌شد که مقاومت به کینولون‌ها کاملاً توسط موتاسیون‌های کروموزومی ژن‌های کدکننده تارگت‌های کینولون (DNA ژیراز و توپوایزومراز IV) و یا در اثر موتاسیون‌هایی در ژن‌های تنظیم‌کننده پروتئین‌های غشای خارجی یا پمپ‌های efflux ایجاد می‌شود اما نتایج تحقیقات حاکی از آن بود که پلاسمیدهای حاوی ژن‌های *qnr* مقاومت به کینولون را انتقال می‌دهند. این ژن‌ها پروتئین‌های پنتاپتیدی تکراری را کد می‌کنند که فعالیت سیپروفلوکساسین روی DNA ژیراز و توپوایزومراز IV را بلوکه می‌کند.<sup>۹،۸</sup>

این شاخص‌ها حداقل غلظت مهارکنندگی کینولون‌ها را ۲۳-۸ برابر بیشتر می‌کنند و از مهار DNA ژیراز جلوگیری می‌نمایند.<sup>۱۰</sup> سه گروه اصلی از شاخص‌های *qnr* شامل *qnrA*، *qnrB*، *qnrS* هستند که در سراسر جهان یافت شده اند و بسیاری واریانت‌های *qnr* در gene bank لیست شده اند. در بین آنها سکانس *qnrB* فراوانی بیشتری دارد.<sup>۱۱</sup>

یکی از نکات مورد توجه در امر درمان بیماری‌های عفونی انجام تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی است و همچنین باید از مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها پرهیز شود تا علاوه بر درمان موثر مانع از پیدایش سویه‌های مقاوم شود.

## مواد و روش‌ها

### جمع آوری نمونه‌ها

در این مطالعه ۳۰۰ نمونه از محیط مراکز درمانی سطح استان تهران جمع آوری شد.

### جداسازی

۳۰۰ نمونه از محیط مراکز درمانی سطح استان تهران با سواب مرطوب و استریل جمع آوری و درون لوله‌های حاوی محیط کشت استریل BHI broth واجد ضد قارچ سیکلو هگزیمید به آزمایشگاه

گردید. جهت انجام آزمایش سوسپانسیون از کلنی‌های باکتری معادل کدورت ۰/۵ مک فارلند تهیه شده و پس از آغشته کردن سوآب استریل با سوسپانسیون، بر روی محیط مولر هیتتون آگار پخش گردید. پس از قرار دادن دیسک‌های آنتی بیوتیک روی پلیت قطر هاله عدم رشد پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد اندازه گیری و نتایج طبق دستور العمل مربوطه (CLSI) تحت عناوین حساس، نیمه حساس و مقاوم ثبت و تحلیل گردید.

### استخراج پلاسمید

استخراج پلاسمید از ایزوله‌های مقاوم با استفاده از کیت استخراج پلاسمید Gene All طبق دستور العمل آن انجام گردید. در نهایت ۱ ماکرولیتر از سوپرناتانت به عنوان نمونه DNA برای واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) مورد استفاده قرار گرفت. تکثیر ژن qnrB به روش (PCR) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) تکثیر ژن‌ها در دستگاه ترموسایکلر با برنامه دمایی (جدول ۲) انجام شد سپس محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ الکتروفورز گردید و با استفاده از ترانس لومیناتور مورد بررسی قرار گرفت.

دانشکده انتقال داده شد و درون انکوباتور ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد.

سپس بر روی محیط کشت اختصاصی سیتیریماید آگار کشت داده شد و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. پس از مشاهده رشد، هر تک کلنی کشت و خالص گردید. برای نگهداری کلنی‌های باکتری و به دلیل از بین رفتن پلاسمیدها در حین پاساژ باکتری، کلنی‌های خالص شده در محیط BHI broth حاوی ۲۰ درصد گلیسرول و دمای ۲۰- درجه فریز شدند.

### بررسی‌های میکروسکوپی و ماکروسکوپی

پس از مشاهده رشد، رنگ آمیزی گرم و تست‌های بیوشیمیایی مانند تست حرکت، تست سترات، تست (Oxidation- OF (Fermentation, TSI, MRVP، رشد در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد، تولید پیوسیانین و بوی خاص انگور به منظور شناسایی قطعی ایزوله‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

### تعیین الگوی مقاومت سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها

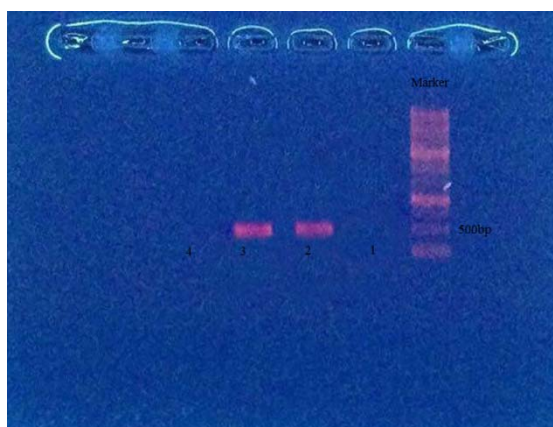
تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی با استفاده از روش آگار دیسک دیفیوژن (Kirby-Bauer) بر روی محیط مولر هیتتون آگار انجام

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت تعیین حضور ژن qnrB

Gene	Primer sequence (5' □ □ 3')	PCR product bp
qnrB	F=GATCGTGAAAGCCAGAAAGG R=ACGATGCCTGGTAGTTGTCC	۵۰۰

جدول ۲: برنامه دما، زمان و چرخه ترموسایکلر با استفاده از جفت پرایمرهای qnrB

چرخه‌های دمایی PCR :	دما (°c)	زمان	تعداد سیکل
واسرشت اولیه	۹۴	۶۰ ثانیه	-
واسرشت	۹۴	۴۵ ثانیه	۴۵
اتصال	۵۸	۴۵ ثانیه	۴۵
سنتز	۷۲	۶۰ ثانیه	۳۵
چرخه نهایی	۷۲	۵ دقیقه	-



شکل ۱: محصول PCR ژن *qnrB* به اندازه ۵۰۰ bp

شماره ۱: کنترل منفی، شماره ۲: کنترل مثبت، شماره ۳: نمونه مثبت، شماره ۴: نمونه منفی

## یافته‌ها

در این تحقیق ۳۰۰ نمونه از مراکز درمانی جمع آوری شد و به وسیله محیط کشت اختصاصی سیتریماید آگار، رنگ آمیزی گرم و دیگر روش‌های بیوشیمیایی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جداسازی شدند. تست حساسیت آنتی بیوتیک به روش دیسک دیفیوژن برای ایزوله‌ها مورد بررسی قرار گرفت که به نالیدیکسیک اسید ۱۰۰٪، به سیپروفلوکساسین و نوروفلوکساسین ۹۶٪ ایزوله‌ها مقاومت نشان دادند. در استخراج ژنوم پلاسمیدی تمام ایزوله‌های مقاوم به خانواده فلوروکینولون‌ها حاوی پلاسمید بودند و پس از انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز در صد حضور ژن *qnrB* ۳/۳٪ بود (شکل ۱).

## بحث و نتیجه‌گیری

فلوروکینولون‌ها از آنتی بیوتیک‌های رایج در درمان عفونت‌های بیمارستانی می‌باشند و شناخت مکانیسم‌های مقاومت باکتری‌ها به خانواده فلوروکینولون‌ها ضروری است. مکانیسم‌های متعددی باعث مقاومت این باکتری‌ها به فلوروکینولون‌ها می‌شود. یکی از این مکانیسم‌های مقاومت به آنتی بیوتیک‌های فلوروکینولون حضور ژن *qnr* می‌باشد.

در تحقیق حاضر مقاومت سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از مراکز درمانی در برابر آنتی بیوتیک‌های فلوروکینولون از

جمله سیپروفلوکساسین بررسی شدند. از نتایج بدست آمده ۹۶٪ نمونه‌ها نسبت به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین مقاومت نشان دادند.

در مطالعه دوستی و همکاری‌ها در سال ۱۳۹۱ به میزان مقاومت سودوموناس آئروژینوزا‌های بالینی نسبت به سیپروفلوکساسین و برخی آنتی بیوتیک‌های مطرح در درمان سودوموناس آئروژینوزا پرداخته شده است. نتایج تحقیقات وی میزان مقاومت ایزوله‌ها را نسبت به سیپروفلوکساسین ۴۰/۶٪ نشان داد.<sup>۱۲</sup> مقایسه تحقیق حاضر با نتایج دوستی مغایرت دارد، علت افزایش فراوانی مقاومت به سیپروفلوکساسین نسبت به سال‌های گذشته را احتمالاً می‌توان استفاده بی‌رویه از این آنتی‌بیوتیک در نظر گرفت.

خلجی و همکاران در سال ۲۰۱۳ به بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیک سویه‌های سودوموناس‌های جدا شده از سوسک‌های جمع آوری شده از بیمارستان‌ها در جنوب غربی کشور پرداختند، نتایج تحقیقات آنها نشان داد که تمام ایزوله‌ها نسبت به سیپروفلوکساسین مقاومت داشتند.<sup>۱۳</sup> مقایسه تحقیق حاضر با نتایج خلجی مطابقت دارد.

ژن‌های *qnr* مسئول مقاومت پلاسمیدی به کینولون‌ها بوده و اثر مهارتی این آنتی بیوتیک‌ها به صورتی است که از عمل آنزیم‌های DNA زیراز و توپوایزومراز IV جلوگیری می‌کند.<sup>۱۵،۱۴</sup>

در این پژوهش حضور ژن *qnrB* توسط آنالیز مولکولی PCR بررسی شد که ۳/۳٪ از سویه‌ها حاوی این ژن بود.

شرقی لهستان داشتند، از ۲۵ ایزوله که با روش آنالیز مولکولی PCR مورد بررسی قرار گرفتند حضور qnrB در ۵ نمونه (۲۰٪) گزارش شده است.<sup>۱۸</sup>

نتایج مطالعات میترا صالحی و همکاران در سال ۱۳۹۳ بر شیوع ژن qnr در میان ایزوله‌های اسپیتوباکتر بالینی در سطح شهر تهران در جهت بروز مقاومت به فلوروکینولونها مورد بررسی قرار گرفت، ۲۲٪ از ایزوله‌ها حاوی ژن qnrB بودند<sup>۱۹</sup> که این تعداد درصد با مطالعه حاضر مغایرت داشت. نمونه‌های جدا شده از محیط هنوز حاوی پلاسمید هستند اما نمونه‌های بالینی این پلاسمید را به وفور دارند، در نمونه‌هایی که از محیط جدا شده اند احتمال از دست دادن پلاسمید بالاست و یا به علت ماندن در محیط تعداد آنها پایین می‌آید، که در این تحقیق ۳/۳٪ از سویه‌ها حاوی این ژن بود.

### سپاسگزاری

بدینوسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران- شمال برای تأمین منابع مالی این پروژه اعلام می‌داریم.

Hong Yong و همکاران ۲۵۶ ایزوله از باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه را از ۹ بیمارستان در چین جدا کردند، آنالیز الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی نشان داد که همه نمونه‌ها به سیپروفلوکساسین مقاومت داشتند و حضور ژن‌های qnr به روش PCR تایید شد.<sup>۱۶</sup> در مطالعه حاضر نوع الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن و همچنین آنالیز مولکولی PCR برای تایید حضور ژن qnrB انجام شد که با مطالعه Hong Yong و همکاران مطابقت داشت و همچنین نتایج فراوانی سویه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین در مطالعه حاضر با نتایج مطالعه Hong Yong و همکاران مطابقت داشت.

نتایج مطالعه احسان شمس و همکاران در سال ۲۰۱۵ بر شیوع ژن‌های مقاومت کینولونی وابسته به پلاسمید در سویه‌های کلبسیلا پنومونی که از کاشان ایران جدا شده بودند، ۴۶٪ ایزوله‌ها حاوی ژن‌های پلاسمیدی qnrB بودند که با روش PCR بررسی شد. در مطالعه حاضر بررسی ژن پلاسمیدی qnrB با مطالعه شمس و همکاران مطابقت داشت.<sup>۱۷</sup>

Anna Diana Michalska و همکاران در سال ۲۰۱۳ طی مطالعه‌ای که بر روی شیوع مقاومت فلوروکینولون‌ها در بین سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا در بیمارستان آموزشی در شمال

### References

- Baba T, Takeuchi F, Kuroda M, et al. Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *Lancet*, 2002. 359, 1819-1827.
- Sobhy N, Aly F, Abd El Kader O, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from skin and soft tissue infections (in a sample of Egyptian population): Analysis of *mec* gene and staphylococcal cassette chromosome. *Braz. J. Infect. Dis* 2012., 16, 426-431.
- Nobile C, Costantino R, Bianco A, et al. Prevalence and pattern of antibiotic resistance of *Campylobacter* spp. in poultry meat in Southern Italy. *Food Control*, 2013. 32, 715-718.
- Slekovec C, Plantin J, Cholley P. Tracking Down Antibiotic-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolated in Wastewater Network. *PLoS One*, 2012. 7(12): p.e49300.
- Yoshida H, Nakamura M, Bogaki M, et al. Proportion of DNA gyrase mutants among quinolone-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1990 34: 1273-1275.
- Kerr KG, Snelling AM. *Pseudomonas aeruginosa*: a formidable and ever present adversary. *J Hosp Infect*, 2009. 73(4): p. 338-344.
- Hocquet D, Berthelot P, Roussel-Delvallez M, et al. *Pseudomonas aeruginosa* may accumulate drug resistance mechanisms without losing its ability to cause bloodstream infections. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007. 51(10): p. 3531-3536.
- Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet*, 1998;351(9105):p.797-799.
- Jacoby GA. Mechanisms of resistance to quinolones. *Clin Infect Dis*. 2005. 41 (Suppl. 2): p. S120 S126.
- Gay K, Robicsek A, Strahilevitz J, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance in non-Typhi serotypes of *Salmonella enterica*. *Clin Infect Dis* 2006;43:297-304.
- Mammeri H, Van De Loo M, Poirel L, et al. Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Escherichia coli* in Europe. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005. 49(1):p:71-6.

12. Doosti M, Haj Ojagh Faghihi M, Ramezani A. Comparison of Conventional Culture Methods and Polymerase chain Reaction (PCR) for Specific Detection of *Pseudomonas Aeruginosa*. J Isfahan Med School, Vol 30, No 192, 2<sup>nd</sup> week, August 2012. [In Persian]
13. Khalaji Y, Doosti A, Ghorbani-Dalini. Molecular evaluation of antibiotic resistance prevalence in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cockroaches in Southwest Iran. Int J of Med and Med Sci Acad J. 2013 Vol. 5(9), pp. 420-424
14. Met L, Caroff N, Dauvergne S, et al. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in ESBL Enterobacteriaceae clinical isolates over a 1-year period in a French hospital. Pathologie Biol. 2011; 59:151-6.
15. Corkill JE, Anson JJ, Hart CA. High prevalence of the plasmid-mediated quinolone resistance determinant *qnrA* in multidrug-resistant Enterobacteriaceae from blood cultures in Liverpool. UK. J Antimicrob Chemother. 2005;56:1115
16. Yang H, Chen H, Yang Q, et al. High Prevalence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes *qnr* and *aac(6)-Ib-cr* in Clinical Isolates of *Enterobacteriaceae* from Nine Teaching Hospitals in China. Antimicrob Agents Chemother. Dec. 2008, p. 4268-4273.
17. Shams E, Firoozeh F, Moniri R, et al. Prevalence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes among Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Human Isolates in Iran. Hindawi Publishing Corporation J of Pathogens Volume 2015, Article ID 434391, 7 pages.
18. Michalska AD, Sacha PT, Ojdana D, et al. Department of Microbiological Diagnostics and Infectious Immunology, Med University Bialystok, Poland. Braz J Microbiol 45, 4, 1455-1458 (2014).
19. Salehi M, Tabibzadeh M, Fallahian M R. Prevalence of *qnr* gene in clinical Acinetobacter isolates. NCMBJ. 2015; 5 (18) :83-88. [In Persian]