



Semnan University



Research Article

## Study of Frequency of Quorum sensing Genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Bovine mastitis

Saman Mahdavi<sup>1\*</sup>

### Abstract

*Pseudomonas aeruginosa* is an important opportunistic pathogen that causes mastitis resistant to treatment in lactating dairy cows. This bacterium is a nosocomial pathogen and can be also transmitted to humans through food. Antibiotic resistance and biofilm production are two important factors in the pathogenesis and long-term persistence of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Pseudomonas aeruginosa* has two complete Quorum sensing systems that cause the activation of pathogenic genes. The aim of this research was to study of frequency of Quorum sensing genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from bovine mastitis in Maragheh city in 2022. In this descriptive cross-sectional study, 200 cows with clinical mastitis were sampled and 60 *Pseudomonas aeruginosa* isolates were identified after biochemical and staining tests. Then the isolated samples were investigated for the presence of *lasI* and *rhlR* genes by PCR method. The frequency of *lasI* and *rhlR* genes was observed in 2 (3.33%) and 8 (13.33%) isolates, respectively. Also, 2 isolates (3.33%) harbored both *lasI* and *rhlR* genes simultaneously. In this research, the frequency of Quorum sensing genes was less than in previous studies on samples isolated from human cases, which geographical differences and ecological origin of bacterial isolates can play a significant role in justifying its cause.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, Quorum sensing genes, Bovine mastitis.

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

\*Corresponding author: S.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir

DOI: [10.22075/jvml.2024.35220.1128](https://doi.org/10.22075/jvml.2024.35220.1128)

Received: 10.04.2024

Accepted: 24.08.2024

### How to Cite this Article:

Mahdavi, S. (2024). Study of frequency of Quorum sensing genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from bovine mastitis. Journal of Veterinary Medicine & Laboratory, 16(1), 47-54  
doi:10.22075/jvml.2024.35220.1128



## مقاله پژوهشی

## بررسی فراوانی ژن - های حدنصاب احساس (Quorum Sensing) در باکتریهای پseudomonas آئروژینوزا جدا شده از موارد ورم پستان گاوی

سامان مهدوی<sup>۱\*</sup>

## خلاصه

باکتری پseudomonas آئروژینوزا از مهمترین پاتوژن‌های فرصت‌طلب بوده که موجب بروز ورم پستان‌های مقاوم به درمان در گاوهای شیری می‌شود. این باکتری یک پاتوژن بیمارستانی بوده و می‌تواند از طریق مواد غذایی نیز به انسان منتقل شود. مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تولید بیوفیلیم دو عامل مهم در بیماری‌زایی و تداوم طولانی مدت عفونت‌های پseudomonas آئروژینوزا می‌باشد. این باکتری، دو سیستم کامل حد نصاب احساس (Quorum Sensing) دارد که سبب فعال‌سازی ژن‌های بیماری‌زا می‌شود. هدف از انجام این تحقیق، بررسی فراوانی ژن‌های حدنصاب احساس در باکتری‌های پseudomonas آئروژینوزا جدا شده از موارد ورم پستان گاوی در شهر مراغه در سال ۱۴۰۲ بود. در این مطالعه مقطعی توصیفی، از ۲۰۰ راس گاو مبتلا به ورم پستان بالینی نمونه‌گیری شد و ۶۰ جدایه پseudomonas آئروژینوزا پس از رنگ‌آمیزی و تست‌های بیوشیمیایی، تعیین هویت شدند. سپس نمونه‌های جداسازی شده، جهت حضور ژن‌های *lasI* و *rhlR* به روش PCR بررسی شدند. بر اساس نتایج بدست آمده، ژن *lasI* در دو جدایه (۳/۳۳ درصد) و ژن *rhlR* در هشت جدایه (۱۳/۳۳ درصد) مشاهده شد. همچنین دو جدایه (۳/۳۳ درصد) هر دو ژن *lasI* و *rhlR* را بطور همزمان داشتند. در این تحقیق، فراوانی ژن‌های حدنصاب احساس نسبت به مطالعات قبلی بر روی نمونه‌های جدا شده از موارد انسانی کمتر بود که تفاوت‌های جغرافیایی و منشاء اکولوژیکی جدایه‌های باکتریایی می‌توانند در توجیه علت آن نقش بسزایی داشته باشند.

**واژه‌های کلیدی:** پseudomonas آئروژینوزا، ژن‌های حدنصاب احساس، ورم پستان گاوی.

۱. گروه میکروبیولوژی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران.

\* نویسنده مسئول: S.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir

DOI: [10.22075/jvlr.2024.35220.1128](https://doi.org/10.22075/jvlr.2024.35220.1128)

دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۲

پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۳

## مقدمه

پسودوموناس آئروژینوزا یک بیماریزای فرصت طلب انسانی و یکی از چهار بیماریزای بیمارستانی است که مسئول بروز ۱۰/۱ درصد از تمام عفونت‌های اکتسابی بیمارستانی می‌باشد (Jaffe et al., 2001). مقاوم‌ترین و شایع‌ترین عامل عفونت‌های بیمارستانی موجود تا به امروز که در غالب عفونت‌های ثانویه از علل مهم مرگ و میر در سراسر دنیا معرفی گردیده، باکتری پسودوموناس آئروژینوزا می‌باشد (Schulert et al., 2003). پسودوموناس آئروژینوزا بعنوان یکی از عوامل ایجاد کننده ورم پستان کلینیکی با شیوع ناگهانی در گاوهای شیری مطرح می‌باشد. این باکتری کمتر از یک درصد و یا بیشتر از سه درصد گله را درگیر نموده و موجب ورم پستان مزمن تحت بالینی می‌شود. پسودوموناس آئروژینوزا در آمریکا بیش از دو میلیارد دلار، انگلستان ۹۳ میلیون یورو و در استرالیا ۱۰۰ میلیون دلار سالانه ضرر اقتصادی را به دامداران تحمیل می‌کند (Daly et al., 1999). بیماری ورم پستان ناشی از پسودوموناس آئروژینوزا در اثر عواملی مانند آب آلوده، ضدعفونی نامناسب کارتیه‌ها و درمان نامناسب در دوران خشکی ایجاد می‌گردد و کارتیه‌های گاو به عنوان مخزن انتقال این باکتری عمل می‌نمایند (Kong et al., 2005). سطح بالای مقاومت پسودوموناس آئروژینوزا به آنتی-بیوتیک‌ها و گریز از سیستم ایمنی باعث انتشار این باکتری می‌گردد. از مکانیسم‌های گریز از سیستم ایمنی میزبان در پسودوموناس می‌توان به آنتی‌فاگوسیتیک بودن پسودوموناس آئروژینوزا اشاره نمود که به دلیل وجود لیپوپلی‌ساکارید، کپسول، لایه چسبنده و تشکیل بیوفیلم می‌باشد. سیگنالینگ حدنصاب احساس در مراحل اولیه گسترش بیوفیلم موثر است، که با تشکیل میکروکلنی‌ها مشخص می‌شود (Chowdhury and Bagchi, 2016; Sabharwal et al., 2014). در تنظیم بیان ژن به واسطه حدنصاب احساس (QS)، انتقال پیام و ارتباط سلول به سلول از طریق سیگنال‌هایی که خود باکتری تولید می‌کند صورت می‌گیرد و در نتیجه نسخه‌برداری ژن‌های کنترل کننده QS را القاء می‌کنند (Deep et al., 2011). در این باکتری، دو سیستم کامل QS وجود دارد: *las* و *rhl* سیستم شامل ژن‌های فعال کننده رونویسی *lasR* و *lasI* و سیستم *rhl* شامل ژن‌های *rhlR* و *rhlI* می‌باشد. ژن *lasI* تولید الاستاز،

اگزوتوکسین A و آلكالین پروتئاز را تنظیم می‌کند. در حالی که ژن *rhlI* مسئول تنظیم تولید رامنولپید، آلكالین پروتئاز، الاستاز، سیانید و پیوسیانین می‌باشد (Kumar et al., 2012; Senturk et al., 2011). ژن‌های *las* و *rhlR* تولیدکننده پروتئین‌های تنظیم کننده رونویسی می‌باشند که با اتصال به سیگنال اختصاصی خود سبب فعال سازی ژن‌های بیماریزا می‌شوند (Kumar et al., 2011). سیستم *Las*، سبب نسخه‌برداری و بیان سایر ژن‌های بیماری‌زا و رنگدانه پیوسیانین و تولید بیوفیلم که در تهاجم باکتری به میزبان و همچنین مقاومت به سیستم ایمنی میزبان نقش دارند، می‌گردد. بنابراین تعدادی از ژن‌ها و محصولات ژنی را که عامل بیماریزایی پسودوموناس آئروژینوزا هستند را تنظیم می‌کند (Chang et al., 2014). ژن‌های QS از ژن‌های مهم بیماریزایی و حداثت در این باکتری محسوب می‌شود (Bradbury et al., 2010; Rodrigues et al., 2020). هدف از انجام این تحقیق، بررسی فراوانی ژن‌های حدنصاب احساس در باکتری‌های پسودوموناس آئروژینوزا جدا شده از موارد ورم پستان گاوی در شهر مراغه در سال ۱۴۰۲ بود.

## مواد و روش کار

### جمع‌آوری و جداسازی نمونه‌ها

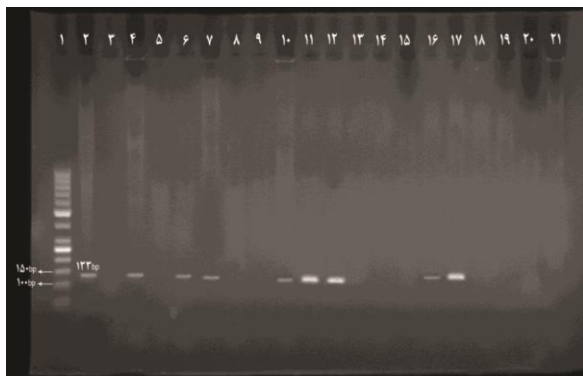
در این مطالعه توصیفی مقطعی، ۶۰ جدایه باکتری پسودوموناس آئروژینوزا (از ۲۰۰ راس گاو مورد آزمایش در گاو‌داریهای سنتی) جدا شده از موارد ورم پستان بالینی حاد گاوها در شهر مراغه (استان آذربایجان شرقی) (از اردیبهشت تا دی‌ماه سال ۱۴۰۲) مورد بررسی قرار گرفتند. پس از شناسایی کارتیه درگیر (وجود دلمه یا لخته‌های زرد رنگ و یا ترشحات اگزوداتیو آبکی پایدار پس از دوشش سوم، وجود گرمی، قرمزی و درد در پستان)، برای جلوگیری از عفونت ثانویه، سه دوشش اول کارتیه مورد نظر دور ریخته و با پنبه الکلی ۷۰ درصد ضدعفونی گردید. سپس نمونه‌های شیر در ظروف استریل ریخته شده و در کنار یخ بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌ها بر روی محیط کشت مکانیکی آگار و آئوزین متیلن بلو آگار (EMB) (شرکت Germany, Merck) کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. سپس کلونی‌های ظاهر شده، رنگ‌آمیزی گرم شدند و آزمایشات بیوشیمیایی زیر جهت تشخیص باکتری پسودوموناس آئروژینوزا انجام شد: اکسیداز، کاتالاز، تولید

جدول ۱- توالی پرایمرهای اختصاصی مورد استفاده جهت شناسایی ژن های *lasI* و *rhlR* پseudomonas آئروژینوزا

منبع	اندازه محصول (bp)	توالی (۳'→۵')	ژن
Sabharwal et al., 2014	۱۳۳	F: TGCATTTTATCGATCAGGGC R: CACTTCCTTTCCAGGACG	<i>rhlR</i>
Aghamolla et al., 2015	۶۰۰	F: ATGATCGTACAAATTGGTCGG R: GTCATGAAACCGCCAGTC	<i>lasI</i>

جدول ۲- شرایط انجام PCR نمونه‌های پseudomonas آئروژینوزا برای تکثیر ژن های مورد آزمایش

مرحله	تعداد چرخه	ژن مورد آزمایش زمان (دقیقه/ثانیه)	دما (سلسیوس)
<i>lasI/rhlR</i>			
واسرشت	۱	۴'/۴'	۹۴/۹۴
واسرشت	۳۵	۳۰"/۳۰"	۹۴/۹۴
اتصال		۴۵"/۴۵"	۵۹/۵۵
گسترش		۶۰"/۶۰"	۷۲/۷۲
گسترش	۱	۵'/۵'	۷۲/۷۲



شکل ۱- الکتروفورز محصول PCR ژن *rhlR* بر روی آگارز ۱/۵ درصد و لدر 50bp. شماره ۲: کنترل مثبت (پseudomonas آئروژینوزا ATCC 27853); شماره ۳: کنترل منفی (آب دو بار تقطیر)، شماره‌های ۴، ۶، ۷، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۶ و ۱۷: نمونه های مثبت از لحاظ حضور ژن *rhlR*; بقیه شماره‌ها: نمونه‌های منفی از لحاظ حضور ژن *rhlR*.

اندول و حرکت در محیط SIM، متیل رد (Methyl red)، وژ پروسکائر (Vogesproskauer)، توانایی مصرف قند لاکتوز و تولید گاز Co2 در محیط کشت (Triple TSI sugar Iron agar)، مصرف سیترات در محیط کشت سیمون سیترات آگار، آرژنین دهیدروژناز، اورنیتین دکربوکسیلاز، OF با قند گلوکز و توانایی رشد در ۴۲ درجه سلسیوس (شرکت Merck، Germany) (Winn ) (Washington et al., 2006).

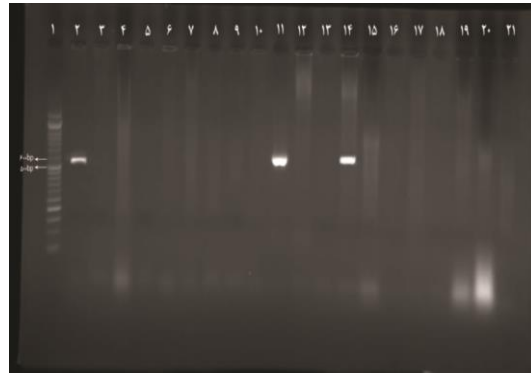
### شناسایی مولکولی ژن های مورد مطالعه

استخراج DNA از ایزوله‌های پseudomonas آئروژینوزا مورد بررسی با استفاده از روش جوشاندن انجام شد و کیفیت و کمیت آن به ترتیب با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل آگارز یک درصد (پایا پژوهش، ایران) و نانودراپ (Eppendorf, Germany) مورد بررسی قرار گرفت. مشخصات و توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده است. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در حجم ۲۰ میکرولیتر شامل ۱۱/۶ میکرولیتر آب دیونیزه استریل، ۲ میکرولیتر بافر PCR (10X) (سیناژن، ایران)، ۰/۶ میکرولیتر MgCl2، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs، ۰/۵ میکرو لیتر پرایمر میکرولیتر پرایمر جلورونده، ۰/۵ میکرولیتر پرایمر عقب‌رونده (سیناژن، ایران)، ۰/۳ میکرولیتر (5U/μl) DNA پلیمرز Taq (سیناژن، ایران) و ۴ میکرولیتر DNA الگو انجام شد. برنامه دمایی و زمانی دستگاه ترمال سایکلر (Biometra, Germany) برای تکثیر ژن های

*lasI* و *rhlR* در جدول ۲ آورده شده است (لازم به ذکر است که نتایج بلاست سایت NCBI، نشان داده است که پرایمر ژن *rhlR* در دو منطقه ۱۳۳bp و ۷۸۰bp قادر به تشکیل باندها است). محصول PCR به مدت ۱ ساعت بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد و سپس با اتیدیوم بروماید (سیناژن، ایران) مشاهده شد.

### نتایج

نتایج بدست آمده نشان داد که در میان ۶۰ جدایه پseudomonas آئروژینوزا جدا شده از موارد ورم پستان گاو، تعداد هشت جدایه (۱۳/۳۳ درصد) دارای ژن *rhlR* میباشند (شکل ۱). همچنین از میان ۶۰ جدایه پseudomonas آئروژینوزا، تعداد دو جدایه (۳/۳۳ درصد) دارای ژن *lasI* بودند (شکل ۲). همچنین دو جدایه (۳/۳۳ درصد) هر دو ژن *lasI* و *rhlR* را بطور همزمان داشتند.



شکل ۲- الکتروفورز محصول PCR ژن *lasI* بر روی آگارز ۱/۵ درصد و لدر 50bp. شماره ۲: کنترل مثبت (پسودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853)؛ شماره ۳: کنترل منفی (آب دو بار تقطیر)، شماره‌های ۱۱ و ۱۴: نمونه های مثبت از لحاظ حضور ژن *lasI*؛ بقیه شماره‌ها: نمونه‌های منفی از لحاظ حضور ژن *lasI*.

### بحث

ورم پستان ناشی از پسودوموناس آئروژینوزا با آلودگی ناشی از خاک یا محیط در ارتباط است (Schauer et al., 2021). ورم پستان حاد ناشی از پسودوموناس آئروژینوزا معمولاً به عفونت مزمن تبدیل شده و حتی گانگرونوز حاد در ۱۰ درصد موارد ابتلا به ورم پستان گزارش شده است (Carmeli et al., 1999). تحقیقات نشان داده‌اند که تعداد  $10^4$  باکتری پسودوموناس آئروژینوزا در هر میلی-لیتر باعث ایجاد عفونت‌های چشمی در موش می‌شود. بنابراین تشخیص فوری این باکتری بسیار مهم می‌باشد (Ohman et al., 1980). روش PCR از نظر حساسیت و ویژگی یکی از بهترین روش‌های تشخیص سریع باکتری‌ها محسوب می‌شود. در این تحقیق، فراوانی ژن‌های *lasI* و *rhlR* در باکتری‌های پسودوموناس آئروژینوزا جدا شده از موارد ورم پستان گاو بترتیب ۳/۳۳ درصد و ۱۳/۳۳ درصد بود. این تحقیق برای اولین بار در ایران بر روی فراوانی ژن‌های حدنصاب احساس (Quorum Sensing) در باکتری پسودوموناس آئروژینوزا جدا شده از موارد ورم پستان گاو انجام شده است. آقامولایی و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که ۱۰۰ درصد نمونه‌های پسودوموناس آئروژینوزا جدا شده از موارد بالینی بیمارستانی در شهر تهران دارای ژن *lasI* بودند. سیاسی و قاضی (۲۰۱۷) نشان دادند که ۴۷/۸۲ درصد از نمونه‌های پسودوموناس آئروژینوزا جدا شده از عفونت‌های ادراری بیماران در شهر تهران دارای ژن

*rhlR* بودند. امینی بزنجانی و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که فراوانی ژن‌های *lasI* و *rhlR* در نمونه‌های پسودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه‌های گوارشی انسانی در شهر تهران بترتیب پنج درصد و ۶۰ درصد بود. دری و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که فراوانی ژن *rhlR* در نمونه‌های پسودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیماران بستری شده در جنوب استان فارس ۹۶ درصد بود. افزایش ظهور پسودوموناس‌های چند مقاومتی با عوامل انتقال دهنده ژنی یا پالستیسیته ژنی و توانایی تشکیل بیوفیلم ارتباط مستقیم دارد و ۱۰ درصد ژنوم پسودوموناس آئروژینوزا با سیستم QS کنترل می‌شود (Kiran et al., 2011). تحقیقات نشان داده‌اند که سیستم QS با حساسیت ضد میکروبی ارتباط دارد (Kiran et al., 2011). نقص در سیستم QS سبب کاهش مقاومت در برابر عوامل ضد میکروبی می‌شود، که این می‌تواند دلیلی بر تأثیر سیستم QS روی حساسیت ضد میکروبی باشد (Siasi and Ghazi, 2017; Kiran et al., 2011). مطالعات سیستماتیک روی پسودوموناس آئروژینوزا نشان داده‌اند که QS یک شبکه تنظیم‌کننده عمومی است که بیان بیش از ۳۰۰ ژن را توسط الفاکتنده‌های QS کنترل می‌کند (Smith and Iglewski, 2003). در بسیاری از تحقیقات انجام گرفته جهت شناسایی اختصاصی پسودوموناس آئروژینوزا به روش PCR ردیابی ژن‌های بیماریزا و ژن‌های کد کننده پروتئین‌های سطحی که عامل تهاجم می‌باشند، مورد توجه قرار گرفته است. زیرا ژن‌های اختصاصی بوده و در شروع و ایجاد بیماری به وسیله این باکتری نقش موثری دارند. با توجه به نکات مذکور و فاکتورهای بیماریزای خارج سلولی ترشح شده بوسیله پسودوموناس آئروژینوزا ژن‌های سیستم حدنصاب احساس *las* و *rhl* که در بیماریزایی این باکتری نقش کلیدی و کنترل کننده دارند به عنوان یک کاندید دارای حساسیت اختصاصیت مطرح هستند (Siasi and Ghazi, 2017). در مطالعه اپیدمیک در سال ۲۰۱۱ در هندوستان تحقیقاتی درباره ژن‌های QS و ژن‌های بیماریزای باکتری پسودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه‌های عفونت مجاری ادراری انجام شد و نتایج حاکی از توزیع متغیر این ژن‌ها بود که برای شناسایی مارکرهای تشخیصی در نمونه‌های کلینیکی این ارگانیسم مفید هستند. با توجه به سرعت بالا و مزایای روش‌های مولکولی در تشخیص پسودوموناس

آنروژینوزا، PCR راهی مناسب در شناسایی آن می‌باشد که می‌تواند مانع از ایجاد عوارض بیشتر عفونت در بیماران شود (Flores-Mireles et al., 2015). فراوانی ژن-های *lasI* و *rhIR* در نمونه‌های جدا شده از موارد ورم پستان گاو در این مطالعه نسبت به دیگر مطالعات با منشاء انسانی بسیار کمتر است که نشان دهنده اختلاف در پراکندگی ژن‌های حدت مذکور در بین سویه‌های مختلف پseudomonas آنروژینوزا می‌باشد که این امر احتمالاً از تفاوت‌های جغرافیایی و نیز اختلاف در منشاء اکولوژیکی سویه‌های جدا شده (مواد غذایی، انسان و دام) ناشی می‌شود. علت تفاوت در میزان فراوانی پseudomonas آنروژینوزا در مطالعات مختلف می‌تواند ناشی از منطقه جغرافیایی مورد مطالعه، نوع سیستم پرورش دام، ضعف مدیریت مزارع، وجود آب‌های آلوده یا مخازن آلوده به این باکتری، تفاوت روش‌های جداسازی و شناسایی باکتری و احتمال بروز خطا در روش‌های شناسایی باشد. بارعایت بهداشت پستان گاو و دست کارگران در حین شیردوشی و مداوای به موقع و مناسب ورم پستان بخصوص در گاوداریهای سنتی، میزان آلودگی بالای پستان گاوها با باکتری پseudomonas آنروژینوزا کاهش خواهد یافت.

### نتیجه‌گیری کلی

مطالعه حاضر نشان داد که فراوانی ژنهای *lasI* و *rhIR* در باکتریهای پseudomonas آنروژینوزا جدا شده از موارد ورم پستان گاو در شهر مراغه کمتر از نمونه‌های مطالعه شده در تحقیقات قبلی بود که تفاوت‌های جغرافیایی و منشاء اکولوژیکی جدایه‌های باکتریایی می‌توانند در تغییر نتایج تحقیقات، نقش بسزایی داشته باشند. علاوه بر آن، جدایه‌هایی که حضور هیچ یک از ژن‌های مورد نظر را نشان ندادند، نیاز به بررسی بیشتر برای حضور سایر ژن‌های حدت و نقش احتمالی آنها در عفونت دارند.

### سپاسگزاری

از کلیه کسانی که در انجام این تحقیق، مساعدت نمودند کمال تشکر و قدردانی را دارم. کار پژوهشی صورت گرفته، طرح مستقل با مجوز دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه بوده و کلیه هزینه‌های مربوط به انجام این تحقیق، توسط نویسنده مقاله تامین شده است.

### تعارض منافع

نویسنده اعلام می‌نماید که در این پژوهش هیچگونه تعارض منافی ندارد.

## References

- Aghamollaei, H., Moghaddam, M. M., Kooshki, H., Heiat, M., Mirnejad, R., & Barzi, N. S. (2015). Detection of *Pseudomonas aeruginosa* by a triplex polymerase chain reaction assay based on *lasI/R* and *gyrB* genes. *Journal of infection and public health*, 8(4), 314-322.
- Bradbury, R., Roddam, L., Merritt, A., Reid, D., & Champion, A. (2010). Virulence gene distribution in clinical, nosocomial and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of medical microbiology*, 59(8), 881-890.
- Carmeli, Y., Troillet, N., Karchmer, A. W., & Samore, M. H. (1999). Health and economic outcomes of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Archives of Internal Medicine*, 159(10), 1127-1132.
- Chang, C.-Y., Krishnan, T., Wang, H., Chen, Y., Yin, W.-F., Chong, Y.-M., Tan, L. Y., Chong, T. M., & Chan, K.-G. (2014). Non-antibiotic quorum sensing inhibitors acting against N-acyl homoserine lactone synthase as druggable target. *Scientific Reports*, 4(1), 7245.
- Chowdhury, N., & Bagchi, A. (2016). Molecular insight into the activity of LasR protein from *Pseudomonas aeruginosa* in the regulation of virulence gene expression by this organism. *Gene*, 580(1), 80-87.
- Daly, M., Power, E., Bjorkroth, J., Sheehan, P., O'Connell, A., Colgan, M., Korkeala, H., & Fanning, S. (1999). Molecular analysis of *Pseudomonas aeruginosa*: epidemiological investigation of mastitis outbreaks in Irish dairy herds. *Applied and environmental microbiology*, 65(6), 2723-2729.
- Deep, A., Chaudhary, U., & Gupta, V. (2011). Quorum sensing and bacterial pathogenicity: from molecules to disease. *Journal of laboratory physicians*, 3(01), 004-011.
- Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M., & Hultgren, S. J. (2015). Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature Reviews Microbiology*, 13(5), 269-284.
- Jaffe, R. I., Lane, J. D., & Bates, C. W. (2001). Real-time identification of *Pseudomonas aeruginosa* direct from clinical samples using a rapid extraction method and polymerase chain reaction (PCR). *Journal of clinical laboratory analysis*, 15(3), 131-137.
- Kiran, S., Sharma, P., Harjai, K., & Capalash, N. (2011). Enzymatic quorum quenching increases antibiotic susceptibility of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Iranian Journal of Microbiology*, 3(1), 1.
- Kong, K.-F., Jayawardena, S. R., Indulkar, S. D., Del Puerto, A., Koh, C.-L., Høiby, N., & Mathee, K. (2005). *Pseudomonas aeruginosa* AmpR is a global transcriptional factor that regulates expression of AmpC and PoxB  $\beta$ -lactamases, proteases, quorum sensing, and other virulence factors. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(11), 4567-4575.
- Kumar, R., Chhibber, S., Gupta, V., & Harjai, K. (2011). Screening & profiling of quorum sensing signal molecules in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from catheterized urinary tract infection patients. *Indian Journal of Medical Research*, 134(2), 208-213.
- Ohman, D. E., Burns, R. P., & Iglewski, B. H. (1980). Corneal infections in mice with toxin A and elastase mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Infectious Diseases*, 142(4), 547-555.
- Rodrigues, Y. C., Furlaneto, I. P., Maciel, A. H. P., Quaresma, A. J. P. G., de Matos, E. C. O., Conceição, M. L., Vieira, M. C. d. S., Brabo, G. L. d. C., Sarges, E. d. S. N. F., & Lima, L. N. G. C. (2020). High prevalence of atypical virulotype and genetically diverse background among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from a referral hospital in the Brazilian Amazon. *PLoS One*, 15(9), e0238741.
- Sabharwal, N., Dhall, S., Chhibber, S., & Harjai, K. (2014). Molecular detection of virulence genes as markers in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from urinary tract infections. *International journal of molecular epidemiology and genetics*, 5(3), 125.
- Schauer, B., Wald, R., Urbantke, V., Loncaric, I., & Baumgartner, M. (2021). Tracing mastitis pathogens—epidemiological investigations of a *Pseudomonas aeruginosa* mastitis outbreak in an Austrian dairy herd. *Animals*, 11(2), 279.
- Schulert, G. S., Feltman, H., Rabin, S. D., Martin, C. G., Battle, S. E., Rello, J., & Hauser, A. R. (2003). Secretion of the toxin ExoU is a marker for highly virulent *Pseudomonas aeruginosa* isolates

- obtained from patients with hospital-acquired pneumonia. *The Journal of infectious diseases*, 188(11), 1695-1706 .
- Senturk, S., Ulusoy, S., Bosgelmez-Tinaz, G., & Yagci, A. (2012). Quorum sensing and virulence of *Pseudomonas aeruginosa* during urinary tract infections. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 6(06), 501-507 .
- Smith, R. S., & Iglewski, B. H. (2003). *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing as a potential antimicrobial target. *The Journal of clinical investigation*, 112(10), 1460-1465 .
- Siasi, E., Ghazi, S.R. (2017). Frequency of *rhlR*, *rhlI* and *lasR* genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from urinary tract infections. Tehran, 2016. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*. 22(77), 39-49. (In Persian)
- Winn Washington, C., Allen, S. D., Janda, W. M., Koneman, E. W., Procop, G. W., Schreckenberger, P. C., & Woods, G. L. (2006). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Lippincott, Williams & Wilkins .