

دیسانتتری ایجادشده توسط کمپیلوباکتر کولی مقاوم به ماکرولید و فلوروکوینولون در مرکز ایران

چکیده

دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۰۹ ویرایش: ۱۳۹۷/۰۵/۱۶ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۲۰ آنلاین: ۱۳۹۷/۱۱/۳۰

زمینه و هدف: جنس کمپیلوباکتر یکی از علل اصلی گاستروانتریت حاد است. این مطالعه به منظور بررسی فراوانی کمپیلوباکتر کولی و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی کمپیلوباکتر کولی جدا شده از نمونه‌های اسهال عفونی بیماران می‌باشد. **روش بررسی:** در یک مطالعه مقطعی-توصیفی بین اردیبهشت تا آبان ۱۳۹۴ تعداد ۲۰۰ نمونه اسهالی بیمارانی که در فاصله زمانی اردیبهشت تا آبان ۱۳۹۴ به مراکز آموزشی درمانی دانشگاه علوم پزشکی اراک (ولی عصر (عج) و کودکان امیرکبیر) مراجعه کرده بودند، وارد مطالعه شدند. رنگ‌آمیزی گرم تغییر یافته و کشت بر روی محیط‌های Modified charcoal- Polymerase chain reaction (PCR) از ژن *CeuE* جهت شناسایی استفاده گردید. مقاومت آنتی‌بیوتیکی به صورت فنوتیپی و ژنوتیپی به آنتی‌بیوتیک‌های تراسایکلین، اریترومایسین، سیپروفلوکساسین، آمپی‌سیلین، جنتامایسین مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: از ۲۰۰ نمونه اسهال عفونی با روش رنگ‌آمیزی گرم تغییر یافته دو مورد (۱٪)، با استفاده از روش کشت پنج مورد ایزوله گردید که دو ایزوله (۱٪) از کشت بر روی محیط mCCDA و سه ایزوله (۱/۵٪) از محیط بروسلا آگار همراه با فیلتر و با تکنیک PCR نیز پنج مورد (۲/۵٪) کمپیلوباکتر کولی تشخیص داده شد. میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به تراسایکلین، اریترومایسین، سیپروفلوکساسین پنج مورد (۱/۰۰٪)، آمپی‌سیلین چهار مورد (۱/۸۰٪)، جنتامایسین دو مورد (۰/۴۰٪) و فراوانی ژن‌های *CmeB*، *qnrS*، *tet(o)* وجود موتاسیون در *23srRNA* پنج مورد (۱/۰۰٪)، *gyrA4* چهار مورد (۱/۸۰٪)، *gyrA5* سه مورد (۰/۶۰٪)، *gyrA6* پنج مورد (۱/۰۰٪)، *Oxa61* چهار مورد (۰/۶۰٪)، *aphA-3-1* یک مورد (۰/۲۰٪) دیده شد. **نتیجه‌گیری:** در این مطالعه کمپیلوباکتر کولی دارای مقاومت صد درصدی نسبت به سیپروفلوکساسین و اریترومایسین به‌عنوان عامل باکتریال ایجادکننده دیسانتتری البته با شیوع کم در منطقه مرکزی ایران معرفی می‌گردد.

کلمات کلیدی: مقاومت آنتی‌بیوتیکی، کمپیلوباکتر کولی، اسهال، ایران.

النازعباسی^۱

بهراد خوانساری نژاد^۳

احسان‌اله غزنوی-راد^{۳*}

- ۱- گروه میکروبی‌شناسی و ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.
- ۲- گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی خمین، خمین، ایران.
- ۳- مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، گروه میکروبی‌شناسی و ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

* نویسنده مسئول: اراک، میدان بسیج، مجتمع دانشگاه علوم پزشکی اراک، گروه میکروبی‌شناسی و ایمنی‌شناسی.

کدپستی: ۳۸۴۸۱۷۶۹۴ | تلفن: ۰۸۶۳-۴۱۷۳۵۲۶
E-mail: e.ghaznavirad@arakmu.ac.ir

مقدمه

و کشورهای در حال توسعه ناقص هستند.^۱ اگرچه در برخی از مواقع عفونت‌های کمپیلوباکتر می‌توانند به صورت خودمحدودشونده بهبود یابند ولی با توجه به اینکه اسهال در کودکان می‌تواند سبب عوارض بسیار جدی شود، پس لزوم بررسی میکروبیولوژیک نمونه‌های مدفوع کودکان از نظر کمپیلوباکتر می‌تواند با اهمیت و ضروری باشد.^{۲،۳} شواهد موجود نشان می‌دهد که عفونت با کمپیلوباکترهای مقاوم به آنتی‌بیوتیک، بیماری طولانی‌مدت‌تر و شدیدتری ایجاد می‌کند. در

براساس اعلام سازمان بهداشت جهانی، اسهال سبب حدود ۵۲۵،۰۰۰ مرگ در کودکان زیر پنج سال در هر سال می‌گردد.^۱ عفونت‌های جنس کمپیلوباکتر یکی از شایع‌ترین عوامل اسهال حاد به‌ویژه در کودکان زیر سه سال و در افراد مسن ثبت شده است.^۲ داده‌های اپیدمیولوژیکی کمپیلوباکتریوزیز از آفریقا و آسیا و خاورمیانه

روی فیلتر کاغذی استات سلولزی ۴۵ nm (Sartorius, Germany) که بر روی محیط بروسلا آگار (Merck, Germany) که به آن ۱۰٪ خون لیز شده گوسفندی اضافه شده بود گذاشته و پلیت را در جار با گاز پک کلاس C به مدت ۴۵ دقیقه در دمای محیط قرار داده و سپس فیلتر را برداشته و پلیت در جار با گاز پک کلاس C جدید در دمای ۳۷ °C به مدت حداقل ۷۲ ساعت انکوبه گردید.^{۱۰} سپس بر روی کلنی های مشکوک رنگ آمیزی گرم تغییر یافته (فوشین قلبایی ۱٪) به مدت پنج دقیقه همراه با حرارت، تست های اکسیداز، کاتالاز، هیپورات (Merck, Germany) انجام گرفت.

از نمونه کلینیکی موجود در کلکسیون میکروبی بخش میکروبی شناسی دانشکده علوم پزشکی در دانشگاه علوم پزشکی اراک به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. تعیین مقاومت ایزوله های کمپیلوباکتر به روش دیسک دیفیوژن و بر اساس دستورکار Clinical laboratory standard institute (CLSI) ۲۰۱۶ صورت گرفت. دیسک های استفاده شده شامل آنتی بیوتیک های تراسایکلین (۳۰ μg)، اریترومیسین (۱۵ μg)، سپیروفلوکساسین (۵ μg)، آمپی سیلین (۱۰ μg)، جنتامیسین (۱۰ μg) (Mast Diagnostics, UK) بودند.

استخراج DNA به طور مستقیم از نمونه مدفوع با کیت QIAamp DNA Stool Minikit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany) بر اساس پروتکل انجام شد. مقدار و خلوص DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه NanoDrop Spectrophotometer (Thermo Scientific, Wilmington, Delaware, USA) اندازه گیری شد و سپس با استفاده از پرایمرهای 16srRNA Universal باکتریایی تایید گردید. ژن CeuE به عنوان مارکر ژنتیکی جهت تایید ایزوله ها به عنوان کمپیلوباکتر کولی در PCR به کار گرفته شد (جدول ۱). از ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی *gyrA6*, *gyrA5*, *gyrA4*, *Mutation in 23srRNA*, *CmeB*, *tet(O)*, *aphA-3-1*, *qnrS*, *Oxa61* برای بررسی ژنوتیپی مقاومت آنتی بیوتیکی استفاده گردید. از این پرایمرها بر اساس روش های توصیف شده در مقالات بیان شده استفاده شد.^{۱۱-۱۸} ۲۵ μl حجم نهایی PCR شامل ۱۲/۵ μl مسترمیکس (1X)، ۰/۵ μl Taq DNA polymerase (۲/۵ واحد)، ۱ μl پرایمرهای forward و reverse (10 Pm)، ۲ μl DNA الگو (۵ ng) و ۸ μl آب مقطر دو بار تقطیر (Yekta Tajhiz Azma, Tehran, Iran) بوده است. از هر ژن مثبت، یک نمونه جهت Sequencing با استفاده از تعیین توالی از محصول PCR ایزوله ها توسط شرکت ژن فناوران

حال حاضر در سطح جهانی مقاومت آنتی بیوتیکی به ویژه به آنتی بیوتیک های فلوروکویینولونی و ماکرولیدی در کمپیلوباکتر کولی پدید آمده است.^۶ استاندارد طلایی برای تشخیص کمپیلوباکتر، کشت مدفوع می باشد ولی با روش واکنش زنجیره ای پلیمرز (Polymerase chain reaction, PCR) هم می توان آن را شناسایی نمود.^{۸،۹} هدف از این مطالعه بررسی فراوانی و مقاومت آنتی بیوتیکی کمپیلوباکتر کولی از نمونه های مدفوع اسهال عفونی بیماران بود.

روش بررسی

در یک مطالعه مقطعی-توصیفی، ۲۰۰ نمونه اسهال بیمارانی که در فاصله زمانی اردیبهشت تا آبان ۱۳۹۴ به مراکز آموزشی-درمانی دانشگاه علوم پزشکی اراک (بیمارستان جنرال ولی عصر (عج) و بیمارستان کودکان امیرکبیر) مراجعه کرده بودند، وارد مطالعه شدند. فرم پرسشنامه و رضایت نامه به بیماران و والدین و سرپرستان بیماران داده شد و افرادی وارد مطالعه شدند که در بررسی مستقیم، نمونه مدفوعی آن ها حاوی بالاتر از پنج گلبول سفید در هر میدان میکروسکوپی High-power field (HPF) بوده و فرم رضایت نامه را پر می نمودند.^۹ هیچ کدام از مراجعین از یک هفته پیش از مراجعه به بیمارستان آنتی بیوتیک مصرف نکرده بودند. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اراک با شماره های ۲۱۳۷ و ۲۵۷۱ به تصویب رسیده است.

از نمونه های مدفوع اسهالی در کمتر از ۱۰ دقیقه پس از دریافت نمونه از محل دارای موکوس و بلغم و یا خون احتمالی، لام مناسبی تهیه و با روش رنگ آمیزی گرم تغییر یافته (فوشین قلبایی ۱٪) به مدت پنج دقیقه همراه با حرارت) رنگ آمیزی شدند و با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. جهت غنی سازی ۲ ml از نمونه مدفوع به طور مستقیم در محیط Preston (Ibresco, Iran) تلقیح شده و در جار با گاز پک کلاس C (Merck, Germany) در دمای ۴۲ °C به مدت ۷۲ ساعت انکوبه گردید. سپس از این محیط بر روی محیط Modified charcoal-cefoperazone-deoxycholate agar (Ibresco, Iran) به صورت ایزوله کشت داده شد و در جار با گاز پک کلاس C به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۴۲ °C قرار داده شد.^{۱۰} از محیط غنی سازی شده Preston، ۲۰۰ μl شیرابه میکروبی بر

دیده شد. به صورت ژنوتیپی میزان مقاومت در کمپیلوباکتر کولی نسبت به ژن‌های CmeB، Mutation in 23srRNA، qnrS، tet(o) پنج مورد (۱۰۰٪)، gyrA4 چهار مورد (۸۰٪)، gyrA5 سه مورد (۶۰٪)، gyrA6 پنج مورد (۱۰۰٪)، Oxa61 چهار مورد (۶۰٪)، aphA-3-1 یک مورد (۲۰٪) حاصل گردید.

بحث

در مطالعات مشابه در ایران با استفاده از روش PCR میزان کمپیلوباکتر کولی در اطفال مبتلا به اسهال در تهران در مطالعه Feizabadi و همکاران حدود ۱٪، در مطالعه Hamidian و همکاران در تهران ۲/۱٪، در همدان ۲/۵٪ و در کرج در مطالعه Harzandi و همکاران ۱/۲٪ از نمونه‌های مراجعه‌کننده به مراکز درمانی به دست آمده است.^{۱۹-۲۲}

از مقایسه نتایج این مطالعه و مطالعات نامبرده می‌توان این گونه نتیجه‌گیری نمود که فراوانی کمپیلوباکتر کولی در ایران در محدوده ۲-۱٪ می‌باشد. البته از آنجایی که در ایران بررسی کمپیلوباکتر جزو برنامه روتین کشوری نیست به‌طور معمول در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی جستجو برای این باکتری صورت نمی‌گیرد، بنابراین دلیل کافی وجود دارد که ادعا نمود کمپیلوباکتر کولی به‌عنوان یکی از پاتوژن‌های مهم ایجادکننده اسهال به‌ویژه در کودکان این منطقه جغرافیایی می‌باشد و ضرورت دارد که بررسی میکروبیولوژیک برای جداسازی آن در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی و بیمارستان‌ها اجباری گردد. در آمریکای جنوبی ۱/۴-۰٪ و در کانادا ۵/۴٪ و در لهستان ۵/۶٪ بوده است.^{۲۳} این تفاوت می‌تواند به علت تفاوت در حساسیت روش تشخیصی و دامنه جمعیت و منطقه مورد مطالعه و همچنین تفاوت در شیوه غذا و در معرض قرارگرفتن با مخازن طبیعی گونه‌های کمپیلوباکتر در این مناطق، میزان سطح ایمنی جمعیت مورد مطالعه، شرایط زندگی مختلف، آب آشامیدنی و عادات تغذیه‌ای گوناگون به‌ویژه مصرف مرغ و طیور و حتی ارتباط با حیوانات و محیط زندگی باشد.^{۲۳}

در پژوهش کنونی شایع‌ترین علائم بالینی بیماران مبتلا به کمپیلوباکتر به ترتیب موکوس در مدفوع، دل درد، خون در مدفوع، تب، استفراغ بوده است درحالی‌که در مطالعات مشابهی که در ایران و پاکستان صورت گرفته موارد فوق حدود ۳۰٪ کمتر بوده است.^{۲۳} این

صورت گرفته و با استفاده از آنالیز NCBI Primer-Blast Tool (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) مورد تایید قرار گرفت.

یافته‌ها

میانگین سنی افراد مبتلا به کمپیلوباکتر ۱۵ سال و سه ماه و کوچک‌ترین فرد مبتلا یک پسر شش ماهه و بزرگ‌ترین فرد مبتلا یک مرد ۶۱ ساله بوده است. بیشترین عفونت‌های کمپیلوباکتر در کودکان گروه سنی $\geq 10-5$ سال سه مورد (۶۰٪) وجود داشت. از تعداد کلی ۲۰۰ نمونه بیمار مبتلا به اسهال عفونی، تمامی بیماران مبتلا به عفونت‌های کمپیلوباکتر کولی پنج مورد (۱۰۰٪) مذکر بودند. علائم بالینی کودکان مبتلا به کمپیلوباکتر ۱۰۰٪ موکوس در مدفوع، ۸۰٪ دل درد، ۸۰٪ خون، ۶۰٪ تب، ۲۰٪ استفراغ وجود داشته است. از تعداد ۲۰۰ نمونه مورد بررسی قرار گرفته، تعداد دو مورد (۱٪) کمپیلوباکتر به‌وسیله رنگ‌آمیزی گرم تغییر یافته با فوشین قلیایی ۱٪ به مدت پنج دقیقه همراه با حرارت و مشاهده مستقیم مثبت بودند.

از ۲۰۰ نمونه وارد شده در این مطالعه پنج مورد (۲/۵٪) ایزوله با یکی از روش‌های کشت (mCCDA و بروسلا آگار همراه با فیلتر) و تست‌های افتراقی کاتالاز (+) و اکسیداز (+) و هیپورات سدیم (-) جهت شناسایی کمپیلوباکتر کولی مثبت گردید.

از ۲۰۰ نمونه بررسی شده تعداد دو مورد (۱٪) ایزوله کمپیلوباکتر به‌وسیله کشت بر روی محیط اختصاصی mCCDA حاصل گردید. از ۲۰۰ نمونه بررسی شده تعداد سه مورد (۱/۵٪) ایزوله کمپیلوباکتر به‌وسیله فیلتر بر روی محیط بروسلا آگار ایزوله گردید. پنج مورد (۲/۵٪) نمونه‌های مثبت شده به روش کشت با روش Polymerase chain reaction (PCR) و استفاده از پرایمرهای اختصاصی تایید گردیدند. با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای تشخیص کمپیلوباکتر کولی در نمونه‌های DNA استخراج شده از مدفوع پنج مورد (۲/۵٪) از نمونه‌ها مثبت بودند. تمامی بیماران مبتلا از جنس مذکر بودند. براساس دستورکار Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) میزان مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در کمپیلوباکتر کولی در تتراسایکلین، اریترومایسین، سیپروفلوکساسین پنج مورد (۱۰۰٪)، آمپی‌سیلین چهار مورد (۸۰٪)، جنتامایسین دو مورد (۴۰٪)

در حال حاضر ماکرولیدها (اریترومایسین) به‌عنوان داروی انتخابی در درمان بالینی کمپیلوباکتریوزیز در نظر گرفته می‌شود اما فلوروکویینولون‌ها (سپیروفلوکساسین) نیز غالباً استفاده می‌شود و تتراسایکلین و جنتامایسین به‌عنوان داروهای جایگزین در موارد عفونت‌های سیستمیک کمپیلوباکتر مورد استفاده قرار می‌گیرد.^۴ افزایش فراوانی مقاومت ضد میکروبی در کمپیلوباکترکولی یک مشکل جدی بهداشت عمومی جهانی است.^{۳۶}

در پژوهش کنونی میزان مقاومت به ماکرولیدها در کمپیلوباکتر کولی پنج مورد (۱۰۰٪) حاصل شد و در آسیا ۶۲-۱۴٪ از کمپیلوباکتر کولی‌های جدا شده از انسان‌ها، مرغ گوشتی و خوکی به ماکرولیدها مقاوم بودند. پس می‌توان با توجه به میزان بالای مقاومت این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که در این منطقه جغرافیایی ماکرولیدها در درمان عفونت‌های کمپیلوباکتر موثر نیستند.

در پژوهش کنونی میزان مقاومت به فلوروکویینولون‌ها در کمپیلوباکتر کولی به‌روش دیسک دیفیوژن پنج مورد (۱۰۰٪) و در CmeB و qnrS پنج مورد (۱۰۰٪) و gyrA4 چهار مورد (۸۰٪)، gyrA5 سه مورد (۶۰٪) و gyrA6 پنج مورد (۱۰۰٪) حاصل شد. به‌طور کلی در تمام نقاط دنیا افزایش مقاومت به سپیروفلوکساسین در طی دو دهه اخیر نسبت به کمپیلوباکترکولی دیده شده است. میزان مقاومت ماکرولیدی، فلوروکویینولونی و تتراسایکلینی در این مطالعه با توجه به استفاده از این آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان محرک رشد در مواد غذایی طیور و استفاده از آن‌ها در درمان و پیشگیری از عفونت باکتریایی در دامپزشکی در قسمت مرکزی کشور ما نیز مشابه با سایر نقاط جهان افزایش داشته است.^{۳۸،۳۷}

نتایج این طرح برای اولین بار کمپیلوباکتر کولی دارای مقاومت صد درصدی نسبت به اریترومایسین و سپیروفلوکسازین را به‌عنوان عامل ایجادکننده دیسانتیری مطرح می‌نماید. اگرچه فراوانی چشمگیری یافت نشده ولی مقاومت بالای آنتی‌بیوتیکی از دیدگاه عفونی و بهداشت عمومی بسیار بااهمیت است.

سپاسگزاری: این مقاله بخشی از طرح تحقیقاتی با عنوان "بررسی فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت سویه‌های جدا شده از نمونه‌های اسهالی شهرستان اراک" مصوب مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی در سال ۱۳۹۵ با کد ۲۵۷۱ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی اراک اجرا شده است.

اختلاف در علائم می‌تواند به ویروالانس باکتری و همچنین به دوز باکتری وارد شده و توانمندی سیستم ایمنی بیمار مرتبط باشد.^{۲۵،۲۴} شیوع کمپیلوباکتر در فصل تابستان کمابیش دو برابر بیشتر است^{۳۶} که مطالعه کنونی فصل تابستان را نیز در بر گرفته است و همخوانی با سایر مطالعات دارد.^{۲۷-۲۹}

در مطالعه کنونی دو مورد (۱٪) کمپیلوباکتر به‌وسیله رنگ‌آمیزی گرم تغییر یافته و با روش کشت پنج ایزوله (۲/۵٪) کمپیلوباکتر به‌دست آمد، که از این میزان، تعداد سه ایزوله (۱/۵٪) به‌وسیله فیلتر بر روی محیط بروسلا آگار و تعداد دو ایزوله (۱٪) با کشت بر روی محیط اختصاصی mCCDA و به‌وسیله روش PCR، پنج مورد (۲/۵٪) کمپیلوباکترکولی به‌دست آمد. در مطالعات مشابهی که در فرانسه و مصر صورت گرفته، میزان کمپیلوباکتر به‌ترتیب با روش کشت چهار مورد (۲۵٪) و شش مورد (۳۷/۵٪) و با روش PCR، شش مورد (۳۳/۳٪) و هشت مورد (۳۴/۸٪) به‌دست آمده است.^{۳۱،۳۰} از آنجایی که حساسیت روش PCR بالاتر از روش کشت است و این باکتری پرنیاز می‌باشد و به‌سختی رشد می‌کند و ممکن است در نمونه‌هایی که این باکتری وجود داشته در روی محیط کشت‌ها رشد نکرده باشد و در مطالعاتی که در زاهدان و شیراز انجام گردیده تنها از روش کشت استفاده نموده‌اند و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز انجام نگرفته است و نیز مطالعاتی که در همدان و تهران صورت گرفته تنها از نمونه‌هایی که کشت مثبت شده‌اند PCR صورت گرفته است که نمی‌تواند نتایج این تحقیقات برآیند مناسبی از میزان فراوانی و یا شیوع کمپیلوباکتر را مشخص نماید.^{۳۳،۳۲،۳۱،۲۹} روش‌های سنتی برای شناسایی جنس کمپیلوباکتر شامل استفاده مناسب از محیط کشت و به‌دنبال آن تست‌های بیوشیمیایی است که نیاز به حدود ۷۲-۹۶ ساعت شناسایی فنوتیپی عفونت‌ها دارد، ابزار مولکولی می‌تواند برای بررسی پاتوژن‌های سخت رشد مفید باشد.^{۳۴}

روش PCR سرعت بالا، حساسیت بالاتر تشخیص نسبت به روش کشت، کاهش مدت زمان تشخیص، شناسایی در سطح گونه، کاهش میزان زیاده‌های آزمایشگاهی و افزون‌براین مصرف آنتی‌بیوتیک فرد و دوز پایین باکتری در محیط کشت ممکن است جلوی رشد باکتری را بگیرد.^{۳۴،۳۷} شناسایی سریع کمپیلوباکتر برای تجویز دارو و درمان مناسب و جلوگیری از ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ارایه داده‌های اپیدمیولوژیک برای کنترل بیماری لازم و ضروری می‌باشد.^{۳۵}

References

- Kain G, Hunt R, Noto J, Prine J, Brown C, Compere M, editors. Off-grid solar powered water purification and community development in Haiti's Artibonite valley, the heart of Haiti's cholera epidemic. Global Humanitarian Technology Conference (GHTC), 2017 IEEE; 2017: IEEE.
- Grzybowska-Chlebowczyk U, Kalita B, Flak-Wanczer A, Jasielska M, Więcek S, Wojcieszyn M, et al. Clinical course of Campylobacter infections in children. *Pediatr Pol* 2013;88(4):329-34.
- Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N, Mitchell HM, Man SM. Global epidemiology of Campylobacter infection. *Clin Microbiol Rev* 2015;28(3):687-720.
- Luangtongkum T, Jeon B, Han J, Plummer P, Logue CM, Zhang Q. Antibiotic resistance in Campylobacter: emergence, transmission and persistence. *Future Microbiol* 2009;4(2):189-200.
- Koletzko S, Osterrieder S. Acute infectious diarrhea in children. *Dtsch Arztebl Int* 2009;106(33):539-47; quiz 548.
- Moore JE, Barton MD, Blair IS, Corcoran D, Dooley JS, Fanning S, et al. The epidemiology of antibiotic resistance in Campylobacter. *Microbes Infect* 2006;8(7):1955-66.
- O'Leary J, Corcoran D, Lucey B. Comparison of the EntericBio multiplex PCR system with routine culture for detection of bacterial enteric pathogens. *J Clin Microbiol* 2009;47(11):3449-53.
- Nogva HK, Bergh A, Holck A, Rudi K. Application of the 5'-Nuclease PCR Assay in Evaluation and Development of Methods for Quantitative Detection of Campylobacter jejuni. *Appl Environ Microbiol* 2000;66(9):4029-36.
- Mazaheri M, Rezaei MH, Aalinezhad M, Sharif MR, Akhavan T. Clinical and laboratory characteristics of pediatric Campylobacter spp. acute gastroenteritis. *Arch Pediatr Infect Dis* 2016;4(4): e35730.
- Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedure Handbook. Washington, DC: ASM Press; 2010.
- Tsang RS, Figueroa G, Bryden L, Ng L. Flagella as a potential marker for Campylobacter jejuni strains associated with Guillain-Barré syndrome. *J Clin Microbiol* 2001;39(2):762-4.
- Hopkins KL, Wootton L, Day MR, Threlfall EJ. Plasmid-mediated quinolone resistance determinant qnrS1 found in Salmonella enterica strains isolated in the UK. *J Antimicrob Chemother* 2007;59(6):1071-5.
- Obeng AS, Rickard H, Sexton M, Pang Y, Peng H, Barton M. Antimicrobial susceptibilities and resistance genes in Campylobacter strains isolated from poultry and pigs in Australia. *J Appl Microbiol* 2012;113(2):294-307.
- Zeng X, Brown S, Gillespie B, Lin J. A single nucleotide in the promoter region modulates the expression of the β -lactamase OXA-61 in Campylobacter jejuni. *J Antimicrob Chemother* 2014;69(5):1215-23.
- Olah PA, Doetkott C, Fakhr MK, Logue CM. Prevalence of the Campylobacter multi-drug efflux pump (CmeABC) in Campylobacter spp. Isolated from freshly processed Turkeys. *Food Microbiol* 2006;23(5):453-60.
- Sahin O, Plummer PJ, Jordan DM, Sulaj K, Pereira S, Robbe-Austerman S, et al. Emergence of a tetracycline-resistant Campylobacter jejuni clone associated with outbreaks of ovine abortion in the United States. *J Clin Microbiol* 2008;46(5):1663-71.
- Kong R, Lee S, Law T, Law S, Wu R. Rapid detection of six types of bacterial pathogens in marine waters by multiplex PCR. *Water Res* 2002;36(11):2802-12.
- Sippy R, Sandoval-Green CM, Sahin O, Plummer P, Fairbanks WS, Zhang Q, et al. Occurrence and molecular analysis of Campylobacter in wildlife on livestock farms. *Vet Microbiol* 2012;157(3-4):369-75.
- Feizabadi MM, Dolatabadi S, Zali MR. Isolation and drug-resistant patterns of Campylobacter strains cultured from diarrheic children in Tehran. *Jpn J Infect Dis* 2007;60(4):217-9.
- Hamidian M, Sanaei M, Azimi-Rad M, Tajbakhsh M, Dabiri H, Zali M-R. fla-typing, RAPD analysis, isolation rate and antimicrobial resistance profile of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli of human origin collected from hospitals in Tehran, Iran. *Ann Microbiol* 2011;61(2):315-21.
- Rastyani S, Alikhani MY, Sedighi I, Kazemi S, Kohan HF, Arabestani MR. Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in children with acute diarrhea in health centers of Hamadan, Iran. *Avicenna J Clin Microbiol Infect* 2015;2(4).
- Harzandi N, Jamshidi S, Dezfulian M, Bahonar A, Bakhtiari A, Banihashemi K. Molecular detection and speciation of Campylobacter species in children with gastroenteritis using polymerase chain reaction in Bahonar Hospital of Karaj City. *Int J Enteric Pathog* 2015;3(2):1-4.
- Ali A, Qureshi A, Rafi S, Roshan E, Khan I, Malik A, et al. Frequency of Campylobacter jejuni in diarrhoea/dysentery in children in Rawalpindi and Islamabad. *J Pak Med Assoc* 2003;53(11):517-20.
- Albiger B, Dahlberg S, Henriques-Normark B, Normark S. Role of the innate immune system in host defence against bacterial infections: focus on the Toll-like receptors. *J Intern Med* 2007;261(6):511-28.
- Beceiro A, Tomás M, Bou G. Antimicrobial resistance and virulence: a successful or deleterious association in the bacterial world? *Clin Microbiol Rev* 2013;26(2):185-230.
- Butzler JP. Campylobacter, from obscurity to celebrity. *Clin Microbiol Infect* 2004;10(10):868-76.
- Schielke A, Rosner BM, Stark K. Epidemiology of campylobacteriosis in Germany- insights from 10 years of surveillance. *BMC Infect Dis* 2014;14:30.
- Nyati KK, Nyati R. Role of Campylobacter jejuni infection in the pathogenesis of Guillain-Barré syndrome: an update. *Biomed Res Int* 2013;2013:852195.
- Bless PJ, Schmutz C, Sartori K, Mäusezahl D. Time trends of positivity rates from foodborne pathogen testing in Switzerland, 2003 to 2012. *Swiss Med Wkly* 2017;147:w14569.
- Bessède E, Delcamp A, Sifré E, Buissonnière A, Mégraud F. New methods for detection of campylobacters in stool samples in comparison to culture. *J Clin Microbiol* 2011;49(3):941-4.
- Zaghloul MZ, Farouk N, Galal ZA. Detection of Campylobacter spp. in stool samples by new methods in comparison to culture. *Life Sci J* 2012;9(4):2566-71.
- Hassanzadeh P, Motamedifar M. Occurrence of Campylobacter jejuni in Shiraz, Southwest Iran. *Med Princ Pract* 2007;16(1):59-62.
- Salehi M, Shafaei E, Bameri Z, Bokaeian M, Mirzaee B, Mirfakhraee S, et al. Prevalence and antimicrobial resistance of Campylobacter jejuni. *Int J Infect* 2014;1(2): e19229.
- da Silva Quetz J, Lima IF, Havt A, de Carvalho EB, Lima NL, Soares AM, et al. Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in children from communities in Northeastern Brazil: molecular detection and relation to nutritional status. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010;67(3):220-7.
- Lin S, Wang X, Zheng H, Mao Z, Sun Y, Jiang B. Direct detection of Campylobacter jejuni in human stool samples by real-time PCR. *Can J Microbiol* 2008;54(9):742-7.
- Bae J, Oh E, Jeon B. Enhanced transmission of antibiotic resistance in Campylobacter jejuni biofilms by natural transformation. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58(12):7573-5.
- Smith JL, Fratamico PM. Fluoroquinolone resistance in Campylobacter. *J Food Prot* 2010;73(6):1141-52.
- Wieczorek K, Osek J. Antimicrobial resistance mechanisms among Campylobacter. *Biomed Res Int* 2013;2013:340605.

Dysentery caused by macrolide and fluoroquinolone resistant *Campylobacter coli* in central area of Iran

Elnaz Abbasi M.Sc.^{1,2}
Behzad Khansarinejad Ph.D.³
Ehsanollah Ghaznavi-Rad
Ph.D.^{3*}

1- Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

2- Department of Microbiology, Khomein University of Medical Sciences, Khomein, Iran.

3- Molecular and Medicine Research Center, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

* Corresponding author: Department of Microbiology and Immunology, Arak University of Medical Sciences Campus, Basij Sq., Arak, Iran.
Postal Code: 3848176941
Tel: +98 863 4173526
E-mail: e.ghaznavirad@arakmu.ac.ir

Abstract

Received: 31 Jul. 2018 Revised: 07 Aug. 2018 Accepted: 09 Feb. 2019 Available online: 19 Feb. 2019

Background: *Campylobacter* genus is considered some of the most important agents of bacterial gastroenteritis worldwide. *Campylobacter coli* (*C. coli*) is accounted to at least 25% of all *Campylobacter* related diarrheal diseases moreover, *C. coli* infections can result in severe complications, such as bacteremia, sepsis, meningitis and spontaneous abortion. Finally, there is evidence that the frequency of antimicrobial resistance is higher in *C. coli*, when compared to *C. jejuni*. There is no data regarding the frequency and antibiotic resistance profile of *C. jejuni* isolated from human gastroenteritis samples. The present study aimed to determine the frequency and antibiotic resistance patterns of *Campylobacter coli* isolated from infectious diarrhea samples.

Methods: In a descriptive cross-sectional study, 200 infectious diarrhea samples collected in Arak University of Medical Sciences Hospitals, Markazi Province, Iran, from May to November 2015 were subjected to the study. In order to identify *C. coli* modified Gram stain, modified charcoal-cefoperazone-deoxycholate agar (mCCDA) and Brucella agar media with filter and *CeuE* gene polymerase chain reaction (PCR) were accomplished. Antibiotic resistance against tetracycline, erythromycin, ciprofloxacin, ampicillin and gentamicin was evaluated phenotypically and genotypically.

Results: In total, out of 200 modified gram stained samples, 2 cases (1%) of *C. coli* were identified. Cultivating methods using mCCDA medium found 2 isolates (1%), 3 isolates (1.5%) were grown on Brucella agar with filter and 5 cases (2.5%) were determined as *C. coli* using PCR assay. Antibiotic resistance was observed in 5 cases against tetracycline, erythromycin and ciprofloxacin (100%), in 4 cases against ampicillin (80%), in 2 cases against gentamicin (40%), in 5 cases with *CmeB*, 23srRNA mutation in, *qnrS*, *tet* (o) (100%), in 4 cases with *gyrA4* (80%), in 3 cases with *gyrA5* (60%), in 5 cases with *gyrA6* (100%), in 4 cases with *Oxa61* (60%) and in 1 case with *aphA-3-1* (20%).

Conclusion: In this present study *C. coli* with low prevalence and entire resistance to ciprofloxacin and erythromycin which are the first line antibiotic for the treatment of campylobacter gastroenteritis is introduced as a causative agent of gastroenteritis in patients at central part of Iran.

Keywords: antibiotic resistance, *Campylobacter coli*, diarrhea, Iran.