

فعالیت آزمایشگاهی جمی فلوکسازین بر علیه اشرشیا کولی مقاوم به لووفلوکسازین و سیپروفلوکسازین دارای DNA gyrase جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت های ویژه

لیلا فزونی*¹، مهدی خسروی²، حمیدرضا پردلی¹، رضا مکرّم³

1- PhD استادیار میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران
2- MSc، کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران
3- PhD، استادیار آمار، گروه زیست شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

*نشانی برای مکاتبه: 00989111518674، دورنگار: 00981133301220، lili_kia@yahoo.com

پذیرش برای چاپ: آذر نود و هفت

دریافت مقاله: مهر نود و هفت

چکیده

زمینه و هدف: اورتریت عفونی شایع در بیمارستان می باشد که امروزه درمان آن به واسطه افزایش شیوع باکتری های مقاوم به دارو با مشکل مواجه شده است. هدف از این مطالعه تعیین الگوی مقاومت به جمی فلوکسازین در سویه های اشرشیا کولی مقاوم به فلوروکینولون ها و اجاد DNA ژیراز جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت های ویژه بود.

روش کار: در این مطالعه توصیفی - مقطعی بیماران مبتلا به عفونت ادراری با یا بدون علامت در بخش مراقبت های ویژه مورد بررسی قرار گرفتند. پس از شناسایی ایزوله های ای.کولای، به منظور تعیین حداقل غلظت مهار سیپروفلوکسازین، لووفلوکسازین و جمی فلوکسازین از روش میکرودایلوشن برات استفاده شد. با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) با پرایمرهای اختصاصی، ژن مقاومت فلوروکینولونی (gyrA) شناسایی گردید.

یافته ها: فراوانی جدایه های ای.کولای مقاوم به سیپروفلوکسازین 35/2٪ بود. 87/3٪ سویه ها به جمی فلوکسازین حساس بودند در حالیکه 53/5٪ و 46/5٪ جدایه ها به ترتیب در طبقه بندی حساس به سیپروفلوکسازین و لووفلوکسازین قرار گرفتند. حداقل غلظت مهار جمی فلوکسازین که رشد 90٪ جدایه ها را مهار کرد 0/5 میکروگرم در میلی لیتر بود که هشت برابر کمتر از لووفلوکسازین و سیپروفلوکسازین بود. بررسی واکنش زنجیره ای پلیمرز بر روی جدایه های مقاوم به جمی فلوکسازین، موتاسیون در کدن سرین 83 ژن gyrA را تایید کرد.

نتیجه گیری: ما نتیجه گرفتیم نه تنها مقاومت به فلوروکینولون ها، بلکه فراوانی ژن gyrA در سویه های ای.کولای جدا شده از بیماران بستری رو به افزایش است.

واژگان کلیدی: اشرشیا کولی، عفونت ادراری، جمی فلوکسازین، DNA gyrase

مقدمه

عفونت های بیمارستانی به عفونت هایی اطلاق میگردد که افراد پس از بستری شدن در بیمارستان عفونت را کسب نمایند، تظاهرات بیماری ممکن است در حین بستری بودن و یا بعد از مرخص شدن بیمار بروز کند. باکتری اشرشیا کولی از عوامل مهم عفونت های بیمارستانی است که در ایجاد عفونت در قسمت های مختلف بدن مثل آپاندیس، دستگاه ادراری تناسلی، پرده صفاق، کیسه صفرا، جراحات و زخم ها نقش دارد. شایع ترین عفونت بیمارستانی، عفونت دستگاه ادراری

است که توسط پاتوژنهایی ایجاد میشود که از پرینه یا دستگاه گوارش و یا از طریق مجرای سوند ادراری به فضای اطراف پیشابراه گسترش می یابد. رشد بیش از 10^5 میکروارگانیسم در هر میلی لیتر نمونه وسط ادرار که به صورت استاندارد جمع آوری شده باشد، عفونت مثبت تلقی می شود(1).

در حال حاضر، یکی از اساسی ترین مشکلات قابل توجه سازمان بهداشت جهانی افزایش شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی در عوامل بیماری زا می باشد. کینولون ها از داروهای

دارد. شایع ترین عفونت بیمارستانی، عفونت دستگاه ادراری

از طریق استراحت دو رشته و بسته شدن دو رشته با هیدرولیز ATP است. این فعالیت در DNA برای تکرار ، رونویسی و نوترکیبی ضروری است. جهش در هر دو بخش *gyrA* و *gyrB* باعث مقاومت کینولون می شود در حالی که جهش *gyrA* در ایزوله های بالینی ای.کولای مقاوم در برابر کینولون شایع تر است (5,6).

هدف ما در این مطالعه تعیین الگوی ژنی مقاومت سویه های ای.کولای مولد عفونت ادراری نسبت به نسل جدید فلوروکینولون ها در بیماران بستری در شرایط آزمایشگاهی بود چون بررسی و کنترل چنین عفونت هایی می تواند دستورالعمل های جدیدی در پزشکی ارائه کند.

روش کار

این پژوهش بصورت توصیفی - مقطعی انجام گرفت. جامعه مورد مطالعه شامل کلیه بیماران مبتلا به عفونت ادراری به یا بدون علامت عفونت ادراری بستری در بخش مراقبت های ویژه چهار بیمارستان در گنبد و حومه بود. معیار تشخیص عفونت ادراری بر اساس کشت ادرار مثبت یعنی وجود 10^5 کولونی میکروب در بیماران بدون علامت و 10^4 کولونی میکروب در بیماران علامت دار بود (7). برای تهیه نمونه های ادرار بیماران بستری جهت انجام کشت و آنتی بیوگرام از اولین کیسه ادرار صبح گاهی استفاده شد. به منظور کشت نمونه های ادراری از محیط های بلاد آگار ، اتوزین متیلن بلو و مک گانگی آگار استفاده گردید. نمونه های کشت شده به مدت 18-24 ساعت در دمای 37 درجه انکوبه گردید. سویه های ای.کولای بر اساس روشهای میکروبیولوژیک از جمله رنگ آمیزی گرم و انجام تست های بیوشیمیایی تخمیر گلوکز، لاکتوز ، تولید گاز ، تولید اندول از تریپتوفان ، واکنش وکس پروسکوئر بر روی محیط های تریپل شوگر آیرون آگار (TSI) ، Sulfid Indole Motility و متیل رد - وژوسپروسکار تشخیص داده شده و تایید شدند.

به منظور تعیین حداقل غلظت مهار (MIC) باکتری ها نسبت به سه فلوروکینولون از روش میکرودایلوشن براث نیز استفاده شد.

جهت تهیه سوسپانسیون از فلوروکینولون ها مقادیر لازم از پودر آنتی بیوتیک های سیپروفلوکسازین و جمی فلوکسازین (سیگما-الدريج، امریکا) به حلال آب و پودر لووفلوکسازین (سیگما-الدريج، امریکا) به حلال آب و سود 0.1 مول/لیتر اضافه گردید.

ضدباکتریایی مهمی هستند که برای درمان عفونت های مختلف بالینی استفاده می شوند. این آنتی بیوتیک ها ابتدا توسط جورج لشرو همکاران معرفی شدند ولی به علت استفاده بیش از حد، میزان مقاومت های باکتریایی نسبت به این داروها از دهه 1990 روندی رو به افزایش داشته است (2). اوایل دهه 1980 هم زمان با معرفی نسل دوم کینولون ها، نقش مهم آن ها جهت فعالیت مؤثر علیه آنزیم DNA gyrase ، نفوذ بهتر به درون باکتری ها و خصوصیات دارویی بهتر آشکارتر شد. مهم ترین تغییرات ، تغییر در اسکلت اصلی کینولون بود. در واقع جایگزین کردن فلورین در موقعیت شماره 6 کینولون منجر به تولید فلوروکینولون ها شد که با معرفی نورفلوکسازین در سال 1986 و سیپروفلوکسازین در سال 1987 همراه بود. این آنتی بیوتیک ها بیشتر بر روی باکتری های گرم منفی موثر بودند و پس از آن فلوروکینولون های دیگری مانند لووفلوکسازین و موكسی فلوکسازین با فعالیت بیش تری علیه باکتری ها معرفی شدند (3).

سیپروفلوکسازین به عنوان یکی از داروهای مؤثر در درمان عفونت های متنوع ناشی از باکتری های گرم منفی و به میزان کم تری در باکتری های گرم مثبت استفاده می شود. موفقیت عملکرد این دارو در درمان بیماران سبب ایجاد مجموعه ای از کینولون های نسل جدید شد. لووفلوکسازین به عنوان نسل سوم و جمی فلوکسازین به عنوان نسل های چهارم فعلی فلوروکینولون ها بخش گسترده ای از درمان عفونت های ناشی از باکتری های گرم مثبت ، گرم منفی ، میکروارگانسیم های هوازی و غیر هوازی را در بر می گیرند (4) لیکن استفاده ی مکرر از فلوروکینولون ها سبب ایجاد مقاومت دارویی می شود. یکی از مکانیسم های مقاومت ناشی از جهش در ژن های کدکننده یک یا هر دو آنزیم هدف دارو یعنی DNA gyrase و Topoisomerase IV است که در فرایند همانندسازی و رونویسی در باکتری ها نقش دارند.

در گرم منفی هایی چون ای.کولای هدف اصلی برای کینولون ها DNA gyrase است. این ماده یک آنزیم ترکیبی متشکل از دو زیرواحد B و A که به ترتیب *gyrA* و *gyrB* نام دارند است. این آنزیم متعلق به نوع 2 خانواده ی توپوایزومراز است که قادر به پیچیدن و باز شدن مارپیچ DNA توسط شکستن هر دو رشته ی مارپیچ ، عبور بخش دیگری از مارپیچ

طبق دستورالعمل این کمیته سویه های ای.کولای با MIC ≤ 1 µg/ml حساس، MIC=2 µg/ml نیمه حساس و MIC ≥ 4 µg/ml مقاوم به سیپروفلوکساسین ، سویه های ای.کولای با MIC ≤ 0.25 µg/ml حساس، MIC= 0.5 µg/ml نیمه حساس و MIC ≥ 1 µg/ml مقاوم به جمی فلوکساسین و سویه های اشرشیا کولی با MIC ≤ 2 µg/ml حساس، MIC=4 µg/ml نیمه حساس و MIC ≥ 8 µg/ml مقاوم به لووفلوکساسین در نظر گرفته شدند(8). در این مطالعه از ای.کولای ATCC25922 به عنوان سویه استاندارد و کنترل استفاده شد.

بررسی ژنوتیپی ایزوله های ای.کولای مقاوم به جمی فلوکساسین به روش PCR و استخراج DNA ژنومی جدایه های ای.کولای از کیت استخراج شرکت سیناژن با شماره کاتالوگ DN8115C استفاده شد. برای بررسی کمی DNA استخراج شده از اسپکتروفتومتری در طول موج 260/280 نانومتر و نیز از الکتروفورز بر روی ژل آگارز 1٪ استفاده شد. برای بررسی حضور ژن *gyrA* در جدایه ها طراحی پرایمر با نرم افزار Gene Runner انجام شد و صحت آن با نرم افزار BLAST تایید شد. مشخصات پرایمرها ی طراحی شده در جدول 1 آمده است.

غلظت اولیه هر انتی بیوتیک به میکروپلیت 96 خانه ای ال ایزا حاوی محیط کشت مولر هینتون برات (مرک ، المان) تلقیح شد. عمل رقت سازی استوک های دارویی از چاهک شماره 2 تا چاهک شماره 11 ادامه یافت تا رقت های 0.03-8 میکروگرم بر میلی لیتر (برای سیپروفلوکساسین و جمی فلوکساسین) و 0.125-64 میکروگرم بر میلی لیتر برای لووفلوکساسین حاصل شود. چاهک شماره 1 و 12 به ترتیب به عنوان کنترل منفی و کنترل مثبت در نظر گرفته شدند. چاهک کنترل منفی حاوی استوک دارو به همراه محیط کشت مولر هینتون برات بود و چاهک کنترل مثبت حاوی محیط کشت مولر هینتون برات به همراه سوسپانسیون باکتری بود. در ادامه به چاهک های 12-2، سوسپانسیون باکتری با غلظت $10^8 \times 1/5$ واحد تشکیل دهنده کلنی (غلظت نیم مک فارلند) اضافه گردید و میکروپلیت به مدت 24-20 ساعت در دمای 37 درجه سانتیگراد انکوبه گردید. حداقل غلظت دارویی ضد باکتریایی که به میزان 90٪ مانع از رشد باکتری درمقایسه با چاهک کنترل مثبت شده باشد به عنوان MIC₉₀ تلقی میگردد. در نحوه گزارش MIC علاوه بر متد کدورت سنجی چشمی از دستگاه ال ایزا ریدر هم برای تایید استفاده شد و با جداول استاندارد CLSI M100-S25 (2015) تطبیق داده شد .

جدول 1. مشخصات عمومی پرایمرهای *gyrA*

Primer Sequence	Sequence (5'-3')	Product (bp)
Forward primer	5'- TGCGAGAGAAATTACACC-3'	625
Reverse primer	5'- AATATGTTCCATCAGCCC-3'	

در این مطالعه پس از بررسی 113 نمونه ، 62/8% جدایه ها از بیماران به عنوان ای.کولای شناسایی و جداشدند . از این تعداد 46/5% مربوط به بخش مراقبتهای ویژه ICU و 53/5% مربوط به CCU بودند. بیشترین میزان فراوانی جدایه ها از بیماران برحسب جنس در مردان (83/3) دیده شد. محدوده سنی بیماران مورد مطالعه 8±47 بود که 84% کشت های مثبت را افراد بالای 60 سال تشکیل دادند.

بررسی اثرات غلظت مختلف داروی جمی فلوکسازین در محدوده 0/03 - 8 میکروگرم بر میلی لیتر بر رشد جدایه های ای.کولای نشان داد این دارو از طریق وابسته به غلظت قادر به مهار رشد 90 درصدبakterی هادر غلظت $MIC \geq 1$ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد. نتایج غلظت های مورد بررسی در محدوده فوق برای جمی فلوکسازین و سیپروفلوکسازین نشان داد بین حداقل غلظتی از دارو که از رشد 50% باکتری ها ممانعت میکند (MIC_{50}) با حداقل غلظتی از دارو که از رشد 90% باکتری ها ممانعت میکند (MIC_{90}) تفاوت معنی دار می باشد(جدول 2). حداقل غلظت مهاری جمی فلوکسازین که رشد 90% جدایه هارا مهار کرد برابر 0/5 میکروگرم بر میلی لیتر بود که هشت برابر کمتر از لووفلوکسازین و سیپروفلوکسازین (4 میکروگرم بر میلی لیتر) بود .

واکنش PCR در حجم نهایی 25 میکرولیتر انجام شد که شامل 1 میکرولیتر از نمونه DNA ، 1 میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای پیش رونده و پس رونده، 0/5 میکرولیتر از dNTP، 2/5 میکرولیتر از بافر PCR، 0/75 میکرولیتر از کلرید منیزیم، 0/2 میکرولیتر از آنزیم Taq پلیمرز (5U/μL) و 18/05 میکرولیتر آب مقطر می باشد . میکروتیوب حاوی مواد PCR و نمونه ژنومی داخل دستگاه ترموسایکلر Mastercycler gradien قرار داده شد.

ژن های هدف در ترموسایکلر با برنامه ای شامل denaturation اولیه در 94 درجه سانتی گراد به مدت 5 دقیقه، در ادامه 35 چرخه شامل Denaturation در 94 درجه سانتی گراد به مدت 1 دقیقه، Annealing پرایمرها در 63 درجه سانتی گراد به مدت 1 دقیقه، Extension در 72 درجه سانتی گراد به مدت 1 دقیقه و سپس Final extension در 72 درجه سانتی گراد به مدت 5 دقیقه صورت گرفت.

نهایتا محصول به نسبت 5 به 1 با بافر نمونه گذاری مخلوط شده و هر مخلوط به یک چاهک در ژل وارد شدند و با استفاده از دستگاه نمایان گر ژل، باندها مشاهده گردیدند .

پس از جمع آوری داده ها، یافته ها در قالب جداول فراوانی و شاخص های عددی ارائه گردید. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS، آزمون های آماری انالیزواریانس یک طرفه انجام شد. سطح معنا دار $P < 0/001$ ر نظر گرفته شد.

یافته ها

جدول 2: مقایسه رشد و عدم رشد جدایه های اشرشیا کولی نسبت به فلوروکینولون ها .

غلظت $4\mu g/ml$	سویه $1.5 \times 10^8 cfu/ml$	عدم رشد		رشد	
		تعداد	درصد	تعداد	درصد
جمی فلوکسازین	ای.کولای	68	95/8	3	4/2
سیپروفلوکسازین	ای.کولای	46	64/8	25	35/2
لووفلوکسازین	ای.کولای	54	76/1	17	23/9

باکتری ها ممانعت میکند (MIC₅₀) با حداقل غلظتی از دارو که از رشد 90٪ باکتری ها ممانعت میکند (MIC₉₀) رابطه معنی داری دارد لیکن تفاوت معنی داری بین لووفلوکساسین و سیپروفلوکساسین دیده نشد (P < 0/001، جدول 3).

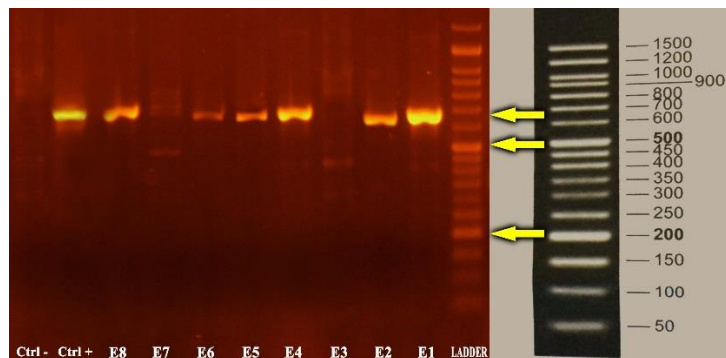
نتایج غلظت های مورد بررسی در محدوده 0/125 – 64 برای لووفلوکساسین در مقایسه با نتایج مربوط به جمی فلوکساسین نشان داد حداقل غلظتی از دارو که از رشد 50٪

جدول 3: بررسی تاثیر داروهای فلوروکینولونی بر روی جدایه های اشرشیا کولی .

MIC ₉₀	MIC ₅₀	محدوده غلظت (میکروگرم بر میلی لیتر)	دارو	ارگانسیم
4	1	8-0/03	سیپروفلوکساسین	ای.کولای
8	2	64-0/125	لووفلوکساسین	ای.کولای
2	0/5	8-0/03	جمی فلوکساسین	ای.کولای

با اتیدیوم بروماید رنگ امیزی شد و تصاویر با دستگاه UV DOC بررسی شد. حضور قطعات 625 جفت بازی در مقایسه با اندازه DNA مارکر مثبت تلقی شد (شکل 1).

جهت بررسی نتایج پس از تکثیر DNA، 10 میکرولیتر از محصولات بر روی ژل آگارز 1/5 درصد وبافر بدون افزودن بافر لودینگ قرار داده شد یک DNA مارکر در ارتباط با نمونه ها برای تعیین سایز باندها استفاده شد (فراورده ژنی ای.کولای ATCC25922 به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد) و



شکل 1: محصولات PCR ژن gyrA جدایه های اشرشیاکولی مقاوم به جمی فلوکساسین (E1,E2,E3,E4,E5,E6,E7,E8).

به دلیل کوتاه تر بودن پیشاب راه زنان نسبت به مردان و نزدیکی آن به مقعد، دسترسی میکروارگانیسم ها به مثانه آسان تر بوده و امکان بروز عفونت ادراری در زنان بیشتر است. اما علت مغایرت نتایج حاصل با نتایج سایر محققان می تواند با منشأ نمونه، اختلافات جغرافیایی ، سطح بهداشت مناطق مختلف و شرایط بیمار مرتبط باشد. در مطالعه حاضر بیشترین میزان فراوانی ایزوله های *ای.کولای* جدا شده (53.5٪) از بخش CCU بود. در مطالعه گودرزی و همکاران (2017) فراوانی باکتری *ای.کولای* یوروپاتوژنیک جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت های ادراری در بخش ICU (4.6٪) و در بخش اورولوژی (2٪) ذکر شد (16) که بسیار کمتر از مطالعات ما بود.

بر اساس نوع و نحوه مصرف آنتی بیوتیک در هر کشور تفاوت قابل توجهی در میزان مقاومت نسبت به عوامل ضد میکروبی در *ای.کولای* عامل عفونت ادراری مشاهده می شود. Colodner و همکاران (2008) مقاومت *ای.کولای* به سیپرو فلوکسازین را 50٪ (17) و Yosra (2015) این فراوانی را 72٪ گزارش کردند که از مطالعه حاضر (35٪) بیشتر می باشد (18). در مطالعه لرستانی و همکاران (2018) مقاومت ایزوله های *ای.کولای* در غرب ایران به سیپرو فلوکسازین و لووفلوکسازین 68٪ گزارش شد که از پژوهش ما فراوانی بالاتری داشت (19). فراوانی مقاومت به این دو آنتی بیوتیک در کانادا و سوریه نیز به ترتیب 79٪ و 68٪ گزارش شد (20 و 21) که این تفاوت با نتایج ما احتمالاً به دلیل متفاوت بودن در شرایط نمونه گیری و بیمار است.

در بین فلوروکینولون ها جمی فلوکسازین از نسل چهارم می باشد که طیف ضد میکروبی وسیع تری داشته و در درمان بیماران خاص بصورت تک دوز استفاده می شود.

در مطالعه آقای Todd و همکاران در آمریکا (2014) با بررسی مقاومت *ای.کولای* به جمی فلوکسازین دریافت که جدایه ها در $MIC > 0.5$ میکروگرم بر میلی لیتر قادر به رشد نیستند (22) در حالیکه در مطالعه حاضر 11.3 درصد جدایه ها $MIC > 1$ نسبت به جمی فلوکسازین نشان دادند که حاکی از مقاومت جدایه ها نسبت به این آنتی بیوتیک می باشد. علت اصلی مقاومت نسبت به فلوروکینولون ها بروز جهش در ژن *gyrA* است. جهش در ژن *gyrA* و *parC* موجب

در بررسی ما 75 درصد جدایه های مقاوم به جمی فلوکسازین حاوی ژن *gyrA* بودند. آنالیز توالی DNA نشان داد موتاسیون در نیمه ابتدایی ژن *gyrA* به نام ناحیه تعیین کننده مقاومت به کوئینولون ها (QRDR) رخ داده است که یک مورد (16/7٪) موتاسیون در کدن سرین 83 ژن *gyrA* تایید شد.

بحث

عفونت دستگاه ادراری یکی از شایعترین عفونتهای باکتریایی در سراسر جهان است. میزان شیوع عفونت مجاری ادراری بطور دقیق مشخص نیست و میزان آن با توجه به سن و جنس متغیر است. *ای.کولای* عامل بیش از 10 درصد موارد UTI در تمامی رده های سنی است. بیشتر سویه های جدا شده از موارد عفونت های ادراری ناشی از *ای.کولای* ، واجد ژن های ویروانس و مقاومت مختلفی می باشند که تعدادی از این ژن ها در مقاومت این نوع عفونت های ادراری نقش مهمی دارند. از این رو مطالعات اپیدمیولوژی مولکولی فراوانی در زمینه کشف و شناسایی این عوامل ویروانس صورت گرفته است (9 و 10).

در این مطالعه فراوانی جدایه های *ای.کولای* از بخش مراقبت های ویژه بیمارستان 62.8٪ گزارش شد که از این تعداد حدود 84٪ آنها را مردان بالای 60 سال تشکیل دادند.

جزایری مقدس (2000) نشان داد که عامل بیش از نیمی موارد عفونت ادراری *ای.کولای* می باشد. این محقق از 297 نمونه ادرار عفونی فراوانی *ای.کولای* را 70٪ اعلام کرد (11). امیددی و همکاران در سال 2013، از مجموع 1344 نمونه ادرار گرفته شده از بیمارستان شهید فقیهی شیراز 9/20٪ *ای.کولای* بدست آوردند (12).

در مطالعه دهبانی پور و همکاران، از میان 135 ایزوله *ای.کولای* جدا شده از نمونه های بالینی در بیمارستان الزهراء (س) اصفهان 92 مورد (68٪) مربوط به خانم ها بود (13). در مطالعه فرج نیا و همکاران 76/5٪ نمونه های کشت مثبت *ای.کولای* مربوط به خانم ها بود (14). در مطالعه ملاعباس زاده و همکاران شیوع عفونت ادراری ناشی از *ای.کولای* در زنان 53/23٪ گزارش شد (15) که مغایر مطالعات ما بود.

برروی جدایه های بالینی /ای.کولای اثر مناسبی دارد و بایستی با حفظ کنترل مصرف آن و روشهای صحیح درمانی از بروز افزایشی مقاومت این پاتوژ نسبت به این داروممانعت به عمل آوریم.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر خود را از تمام کسانی که در این پژوهش یاری کردند و همچنین پرسنل آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد گرگان اعلام می دارند.

مقاومت در سایر باکتری ها نیز می شود. در مطالعه Johnning همکاران در سال 2015 در خصوص بررسی مولکولی سویه های E.Coli مقاوم به فلوروکینولون ها، 86٪ جدایه ها دچار موتاسیون در ناحیه ابتدایی ژن *gyrA* شده بودند (23). که بیشتر از مطالعه حاضر (75٪) است. در این بررسی 16.7٪ موتاسیونها در ناحیه سرین 83 رخ داد که به مراتب بیشتر از مطالعه انجام شده در مصر (18) و ایران (19) می باشد.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان میدهد در حال حاضر ای.کولای مقاوم به دارو ، شیوع بالایی در بیمارستانها دارد که میتواند به عنوان خطر جدی در انتقال پدیده مقاومت به اجتماع کل ای.کولای و یا باکتری های نزدیک به آن تلقی شود. همچنین مشخص شد که داروی جمی فلوکساسین

REFERENCES

1. Azap Ö, Togan T, Yesilkaya A, Arslan H, Haberal M.. Antimicrobial susceptibilities of uropathogen *Escherichia coli* in renal transplant recipients: dramatic increase in ciprofloxacin resistance. *Transplant Proc.* 2013; 45(3):956-7.
2. Ghanbari R, Shahryari A, Asgari E, Hosseinpoor S, Yeganeh J, Salighehdar Iran N, et al. Environmental cycle of antibiotic resistance encoded genes: A systematic review. *J Qazvin Univ Med Sci.* 2017; 21(5): 71-5.
3. Yanat B, Rodríguez-Martínez JM, Touati A. Plasmid-mediated quinolone resistance in Enterobacteriaceae: a systematic review with a focus on Mediterranean countries. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017; 36(3): 421-35.
4. Cayci YT, Coban AY, Gunaydin M. Investigation of plasmid-mediated quinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Indian J Med Microbiol.* 2014; 32(3): 285-9.
5. Cattoir V, Nordmann P. Plasmidmediated quinolone resistance in gram negative bacterial species: an update. *Curr Med Chem.* 2009; 16(8): 1028-46
6. Pan XS, Yague G, Fisher LM. Quinolone resistance mutations in *Streptococcus pneumoniae* . *GyrA* and *ParC* proteins: mechanistic insights into quinolone action from enzymatic analysis, intracellular levels, and phenotypes of wild-type and mutant proteins. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45(11): 3140-7.
7. Manvselis M. Text book of diagnostic microbiology SAUNDERS, 2000

8. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial 324 susceptibility testing; Twenty-Fifth Informational Supplement M100-S25. 325. 2015: Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, PA
9. Schultsz C, Geerlings S. Plasmid-mediated resistance in Enterobacteriaceae: Changing landscape and implications for therapy. *Drugs*. 2012; 72(1): 1–16.
10. Sanchez GV, Master RN, Karlowky JA, Bordon JM. In vitro antimicrobial resistance of urinary *Escherichia coli* isolates among U.S. outpatients from 2000 to 2010. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(4):2181-3.
11. Jazayeri Moghadas A, Irajia G. Asymptomatic Urinary Tract Infection in Pregnant Women. *Iranian Journal of Pathology*. 2009;4(3):105-108.
12. Omidi S, Pournajaf A, Taghizadeh Armaki M, Gholami M, Karami M, Irajian G. Survey of antibiotic susceptibility pattern in microorganisms isolated from clinical samples in Shahid Faghihi hospital of Shiraz, Iran. *International Journal of Molecular and Clinical Microbiology*. 2013;3(2): 280-284.
13. Dehbanipour R, Rastaghi S, Sedighi M, Maleki N, Faghri J. High prevalence of multidrug-resistance uropathogenic *Escherichia coli* strains, Isfahan, Iran. *J Nat Sci Biol Med*. 2016;7(1):22-6.
14. Farajnia S, Alikhani MY, Ghotaslou R, Naghili B, Nakhband A. Causative agents and antimicrobial susceptibilities of urinary tract infections in the northwest of Iran. *Int J Infect Dis*. 2009; 13(2):140-4.
15. Molaabasazadeh H, Hajisheikhzadeh B, Mollazadeh M, Eslami K, Mohammadzadeh Gheshlaghi N. Study of sensibility and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from urinary tract infection in Tabriz city. *J Fasa Univ Med Sci*. 2013; 3(2):149-54.
16. Goudarzi V, Mirzaee M, Ranjbar R. O-serogrouping of *Escherichia coli* strains isolated from patients with Urinary tract infection by using PCR method. *Iran J Med Microbiol*. 2017; 10 (6): 01-08.
17. Colodner R, Kometiani I, Chazan B, Raz R. Risk factors for community-acquired urinary tract infection due to quinolone-resistant *E. coli*. *Infection*. 2008;36:41-5.
18. Yosra .T. O, Nahla.M.S . Detection Mutation of *gyrA* gene at “Quinolone Resistance Determining Regions” (QRDRs) in *E. coli* isolated from UTI patients in Khartoum state. *Journal of Biotechnology Science Research*. 2015;2(2):88-93.
19. Lorestani R, Akya A and Elahi A. The Mutations of Topoisomerase Genes and Their Effect on Resistance to Fluoroquinolones in Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli*. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* .2018;2:1-6.
20. Lagace-Wiens PR, Nichol KA, Nicolle LE, Decorby MR, McCracken M, Alfa MJ, et al. ESBL genotypes in fluoroquinolone-resistant and fluoroquinolone-susceptible ESBL-producing *Escherichia coli* urinary isolates in Manitoba. *Can J Infect Dis Med Microbiol* .2007;18(2):133–7.
21. Alheib O, Al Kayali R, Abajy MY. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) determinants among extended spectrum beta-lactamases (ESBL)-producing isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Aleppo, Syria. *Arch Clin Infect Dis*. 2015;10(3):1-5.
22. Todd A. Davies, Linda M. Kelly, Glenn A. Pankuch, Kim L. Credito, Michael R. Jacobs, Peter C. Appelbaum. Antipneumococcal Activities of Gemifloxacin Compared to Those of Nine Other Agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* .2000;44(2):304-10.
23. Anna Johnning, Erik Kristiansson, Jerker Fick , Birgitta Weijdegård and D. G. Joakim Larsson. Resistance Mutations in *gyrA* and *parC* are Common in *Escherichia* Communities of both Fluoroquinolone-Polluted and Uncontaminated Aquatic Environments. *Front. Microbiol*. 2015.6:1355.