

## بررسی فراوانی ژن‌های مقاومت به کینولون به واسطه‌ی پلاسمید *oqxA* و *oqxB* در *Escherichia coli* جدا شده از ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری در بیمارستان‌های شهر یزد

سعیده‌السادات حسینی<sup>۱</sup>، گیلدا اسلامی<sup>۲</sup>، هنگامه زندی<sup>۳</sup>، محمود وکیلی<sup>۴</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** افزایش مقاومت *Escherichia coli* عامل عفونت ادراری، به آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به افزایش نگرانی در جهان شده است. با توجه به استفاده‌ی گسترده از کینولون‌ها در درمان این عفونت و محدود بودن مطالعات مقاومت به کینولون‌ها به واسطه‌ی پلاسمید، هدف از انجام پژوهش حاضر، تعیین فراوانی ژن‌های مقاومت به کینولون به واسطه‌ی پلاسمید *oqxA* و *oqxB* کدکننده‌ی افلاکس پمپ در *Escherichia coli* جدا شده از نمونه‌های ادرار بیماران بستری در بیمارستان‌های شهر یزد بود.

**روش‌ها:** در این مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی، در سال ۱۳۹۳، تعداد ۹۴ جدایه‌ی *Escherichia coli* از ادرار بیماران عفونت ادراری بستری در بیمارستان‌های شهر یزد جدا شد. سنجش حساسیت جدایه‌ها نسبت به کینولون‌ها به روش دیسک دیفیوژن بر اساس Clinical and Laboratory Standards Institute 2013 (CLSI 2013) انجام گردید. واکنش Polymerase chain reaction (PCR) جهت بررسی حضور ژن‌های *oqxA* و *oqxB* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS واکاوی گردید.

**یافته‌ها:** از بین ۹۴ جدایه‌ی *Escherichia coli*، کمترین و بیشترین مقاومت به کینولون‌ها به ترتیب نسبت به نورفلوکساسین (۵۱/۰ درصد) و نالیدیکسیک اسید (۷۳/۴ درصد) بود. ژن‌های *oqxA* و *oqxB* به ترتیب در ۴ (۴/۲ درصد) و ۳ (۳/۲ درصد) جدایه‌ی *Escherichia coli* مشاهده گردید.

**نتیجه‌گیری:** مقاومت به کینولون‌ها نسبت به برخی مطالعات دیگر، بیشتر است. فراوانی کم ژن‌های *oqxA* و *oqxB* در مطالعه‌ی حاضر، با نتایج سایر مطالعات مشابه بود. پیشنهاد می‌شود سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی قبل از آغاز درمان عفونت ادراری به طور معمول انجام و مقاومت به کینولون‌ها با واسطه‌ی پلاسمید به طور مستمر بررسی شود.

**واژگان کلیدی:** *Escherichia coli*، مقاومت به کینولون به واسطه‌ی پلاسمید، OqxAB

**ارجاع:** حسینی سعیده‌السادات، اسلامی گیلدا، زندی هنگامه، وکیلی محمود. بررسی فراوانی ژن‌های مقاومت به کینولون به واسطه‌ی پلاسمید *oqxA* و *oqxB* در *Escherichia coli* جدا شده از ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری در بیمارستان‌های شهر یزد. مجله دانشکده پزشکی اصفهان

۱۳۹۵؛ ۳۴ (۴۰۲): ۱۲۱۷-۱۲۱۱

افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *Escherichia coli* منجر به افزایش نگرانی در کشورهای جهان شده است (۲). فلوروکینولون‌ها، آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیفی هستند که به طور گسترده در درمان عفونت‌های ادراری به کار گرفته می‌شوند، اما در سال‌های اخیر، استفاده‌ی بی‌رویه از این آنتی‌بیوتیک‌ها، منجر به افزایش مقاومت در

### مقدمه

*Escherichia coli* یکی از شایع‌ترین عوامل باکتریایی عفونت‌های فرصت طلب، بیمارستانی و عفونت‌های اکتسابی از جامعه می‌باشد (۱). این باکتری، عامل حدود ۹۰-۷۵ درصد از عفونت‌های مجاری ادراری به شمار می‌آید (۳-۲).

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

۲- استادیار، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات سلامت و ایمنی غذا، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

۳- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات سلامت و ایمنی غذا، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

۴- دانشیار، گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

Email: hengamehzandi1602@gmail.com

نویسنده‌ی مسؤؤل: هنگامه زندی

(EMB) و نگهداری در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، پرگنه‌های لاکتوز مثبت با استفاده از محیط‌های افتراقی (TSI) Triple sugar iron (Conda, Canada)، سیمون سیترات، اوره آگار و (MR-VP) Methyl red- voges proskauer تعیین هویت شدند. از تکثیر ژن *rRNA* 16S به عنوان شاهد داخلی استفاده شد که در بخش مولکولی به آن اشاره می‌گردد.

سنجش حساسیت جدایه‌ها نسبت به کینولون‌ها به روش دیسک دیفیوژن (Kirby-Bauer) و مطابق با طرح Clinical and Laboratory Standards Institute 2013 (CLSI 2013) انجام شد (۱۱). در این روش، از محیط کشت Muller- Hinton و سوسپانسیون باکتریایی معادل کدورت ۰/۵ مک‌فارلند و دیسک‌های آنتی‌بیوتیک افلوکسازین، نورفلوکسازین، لووفلوکسازین، سیپروفلوکسازین و نالیدیکسیک اسید (MAST, England) استفاده شد. از سویه‌ی استاندارد *Escherichia coli* ATCC25922 به عنوان شاهد استفاده شد.

جهت استخراج Genomic DNA جدایه‌ها، از روش Salting out استفاده شد (۱۲). سنجش کمی و کیفی DNA استخراج شده با استفاده از اسپکتروفتومتری (BioTek instruments, USA) و ژل آگارز الکتروفورز (ژل آگارز ۰/۷ درصد) (پدیده‌ی نوژن پارس، ایران) انجام شد.

از پرایمرهای یونیورسسال 5'-UNI-OL-F و 3'-GTGTAGCGGTGAAATGCG-5'-UNI-OL-R جهت تکثیر ژن *rRNA* 16S (۷۰۹ bp) استفاده شد (۱۳). تکثیر ژن‌های *oqxA* و *oqxB* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و به روش Polymerase chain reaction (PCR) انجام شد.

جهت تکثیر ژن *oqxA* از پرایمرهای 5'-CTCGGCGCGATGATGCT-3'-*oqxA-F* و 5'-CCACTCTTCACGGGAGACGA-3'-*oqxA-R* (۳۹۲ bp) و جهت تکثیر ژن *oqxB* از پرایمرهای 5'-TTCTCCCCCGGCGGAAGTAC-3'-*oqxB-F* و 5'-CTCGGCCATTTTGGCGGTA-3'-*oqxB-R* (۵۱۲ bp) استفاده شد (۸).

غلظت نهایی برای هر یک از مواد در واکنش PCR برای ژن *rRNA* 16S عبارت از ۵ میکرولیتر آب مقطر تزریقی استریل، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای UNI-OL-R و UNI-OL-F با غلظت ۴ پیکومول، ۱۰ میکرولیتر از Mastermix (Amplicon, Denmark) و ۳ میکرولیتر از DNA استخراج شده بود.

برابر کینولون‌ها شده است (۴). سالیان طولانی موتاسیون‌های کروموزومی تنها عامل مقاومت به کینولون‌ها در نظر گرفته می‌شد، اما با شناسایی مقاومت به کینولون‌ها با واسطه‌ی پلاسمید (PMQR) یا (Plasmid-mediated quinolone resistance)، این نوع مقاومت توجه زیادی را به خود معطوف کرده است (۵).

در مجموع، چهار نوع PMQR شامل *QepA*، *Ib-cr* (6) *aac* و *Qnr* و *OqxAB* شناسایی شده است (۶). *OqxAB* یک پمپ افلاکس چند دارویی از خانواده‌ی RND (Resistance nodulation division) می‌باشد. ژن‌های *oqxA* و *oqxB* روی یک پلاسمید کانژوگنیو ۵۲ کیلوپازی به نام *pOLA52* قرار دارند و مقاومت به اتیدیم بروماید، کلرامفنیکل و کینولون‌ها را کد می‌کنند (۶-۷).

اولین بار، Kim و همکاران، در سال ۲۰۰۹ وجود این ژن‌ها را در نمونه‌های انسانی گزارش کردند (۸). مطالعات اندکی در مورد این ژن‌ها انجام شده است و در آن‌ها، شیوع ژن *oqxAB* در نمونه‌های انسانی *Escherichia coli* ۶۶-۵/۲ درصد گزارش گردیده است (۹، ۶).

با توجه به این که کینولون‌ها به طور گسترده در درمان عفونت‌های ادراری استفاده می‌شوند و با وجود مطالعات بسیار بر روی مقاومت‌های کروموزومی کینولون‌ها، عوامل مقاومت به کینولون‌ها با واسطه‌ی پلاسمید به خصوص *OqxAB* بسیار کم مورد بررسی قرار گرفته و در ایران نیز در مورد این ژن‌ها در باکتری *Escherichia coli* تحقیقی صورت نگرفته بود. از آن جایی که شناسایی این عوامل از طریق فنوتیپی قابل انجام نیست، بررسی فراوانی این عوامل با استفاده از روش‌های مولکولی می‌تواند جهت کنترل مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها کمک کننده باشد (۱۰).

از این رو، هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، بررسی میزان فراوانی ژن‌های مقاومت به کینولون با واسطه‌ی پلاسمید *oqxA* و *oqxB* در جدایه‌های *Escherichia coli* در ادار بیماراران مبتلا به عفونت ادراری بستری در بیمارستان‌های شهر یزد بود.

## روش‌ها

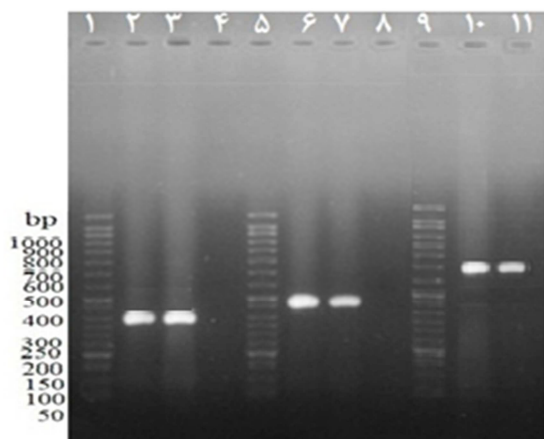
در این مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی، در سال ۱۳۹۳، به مدت ۶ ماه در مجموع ۹۴ جدایه‌ی *Escherichia coli* از کشت ادار بیماراران مبتلا به عفونت ادراری بستری در دو بیمارستان شهر یزد جدا شد. باسیل‌های گرم منفی جدا شده از نمونه‌های ادار بیماراران، به همراه اطلاعات دموگرافیک بیماراران جمع‌آوری و به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه شهید صدوقی منتقل شد.

بعد از کشت پرگنه‌ها در محیط Eosin methylene blue

## یافته‌ها

با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی و مولکولی، تعداد ۹۴ جدایه‌ی *Escherichia coli* شناسایی شد. شکل ۱، الکتروفورز محصول PCR برای ژن *rRNA 16S* را نشان می‌دهد. تعداد ۶۹ جدایه (۷۳/۴ درصد) متعلق به نمونه‌ی ادرار زنان و تعداد ۲۵ جدایه (۲۶/۶ درصد) متعلق به مردان بود. بیشترین و کمترین میزان مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید (۷۳/۴ درصد) و نورفلوکساسین (۵۱/۰ درصد) بود (جدول ۱).

بر اساس نتایج، ژن‌های *oqxA* و *oqxB* به ترتیب در ۴ (۴/۲ درصد) و ۳ (۳/۲ درصد) جدایه‌ی *Escherichia coli* یافت شد (شکل ۱). از کل نمونه‌ها، تنها ۱ نمونه حامل هر دو ژن *oqxA* و *oqxB* بود. جدول ۲، فراوانی ژن‌های *oqxA* و *oqxB* در جدایه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها را نشان می‌دهد.



شکل ۱. بررسی محصول تکثیر ژن‌های *oqxA*، *oqxB* و *rRNA 16S* توسط آگارز ژل الکتروفورز

۱: 50bp DNA Ladder، ۲ و ۳: نمونه‌های مثبت *oqxA*، ۴: کنترل منفی،  
۵: 50bp DNA Ladder، ۶ و ۷: نمونه‌های مثبت *oqxB*، ۸: کنترل منفی،  
۹: 50bp DNA Ladder، ۱۰ و ۱۱: نمونه‌های *rRNA 16S*

غلظت نهایی ترکیبات واکنش PCR برای ژن‌های *oqxA* و *oqxB* در حجم ۲۰ میکرولیتر عبارت از ۶ میکرولیتر آب مقطر تزریقی استریل، ۰/۵ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای *oqxA-F*، *oqxA-R* و *oqxB-F* یا *oqxB-R* با غلظت ۴ پیکومول، ۱۰ میکرولیتر از Mastermix و ۳ میکرولیتر از DNA استخراج شده بود.

برنامه‌ی تکثیر برای ژن *rRNA 16S* در دستگاه ترموسایکلر (Quanta biotech, England) شامل واسرشت اولیه در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و به دنبال آن ۲۰ چرخه شامل واسرشتگی در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، اتصال در دمای ۵۳ درجه‌ی سانتی‌گراد و گسترش در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه برای هر مرحله و یک مرحله‌ی ۵ دقیقه‌ای به عنوان گسترش نهایی در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد بود.

برنامه‌ی تکثیر برای ژن‌های *oqxA* و *oqxB* شامل واسرشت اولیه در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و به دنبال آن ۲۸ چرخه (جهت ژن *oqxA*) و یا ۳۰ چرخه (جهت ژن *oqxB*) شامل واسرشتگی در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، اتصال در دمای ۶۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و گسترش در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه‌ای برای هر مرحله و یک مرحله‌ی ۵ دقیقه‌ای به عنوان گسترش نهایی در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد بود. سوپه‌ی استاندارد *Escherichia coli* ATCC25922 جهت شاهد استفاده شد.

بررسی قطعات تکثیر شده: وجود ژن‌های مورد بررسی با استفاده از ژل آگارز الکتروفورز (ژل آگارز ۱/۵ درصد) و در کنار Ladder ۵۰ bp ارزیابی شد. برای تأیید قطعات تکثیر شده از نظر وجود ژن‌های مورد نظر، از ژن‌های تکثیر یافته نمونه‌هایی جهت تعیین توالی ارسال شد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) و با استفاده از آزمون آماری  $\chi^2$  بررسی گردید.

جدول ۱. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *Escherichia coli* نسبت به کینولون‌ها (n = ۹۴)

آنتی‌بیوتیک	حساس (S)	نیمة حساس (I)	مقاوم (R)
نورفلوکساسین	۴۲ (۴۴/۶)	۴ (۴/۲)	۴۸ (۵۱/۰)
اوفلوکساسین	۳۸ (۴۰/۴)	۶ (۶/۳)	۵۰ (۵۳/۲)
نالیدیکسیک اسید	۲۱ (۲۲/۳)	۴ (۴/۲)	۶۹ (۷۳/۴)
لوفلوکساسین	۳۴ (۳۶/۱)	۴ (۴/۲)	۵۶ (۵۹/۵)
سیپروفلوکساسین	۳۸ (۴۰/۴)	۶ (۶/۳)	۵۰ (۵۳/۲)

\* غلظت مهار کننده‌ی رشد آنتی‌بیوتیک‌ها بر حسب میلی‌متر نورفلوکساسین ( $R \geq 12, I = 13-16, S \leq 17$ )، اوفلوکساسین ( $R \geq 12, I = 13-16, S \leq 17$ )، نالیدیکسیک اسید ( $R \geq 13.18, I = 13-14, S \leq 19$ )، لوفلوکساسین ( $R \geq 16, I = 13-14, S \leq 17$ )، سیپروفلوکساسین ( $R \geq 20, I = 16-16, S \leq 21$ ) می‌باشد.

جدول ۲. فراوانی ژن‌های *oqxA* و *oqxB* در جدایه‌های مقاوم به

آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه

نام آنتی‌بیوتیک	<i>oqxA</i>	<i>oqxB</i>
نالدیکسیک اسید	۳ (۴/۳)	۲ (۲/۸)
نورفلوکساسین	۳ (۶/۲)	۲ (۴/۲)
افلوکساسین	۳ (۶/۰)	۲ (۴/۰)
سیپروفلوکساسین	۳ (۶/۰)	۳ (۶/۰)
لووفلوکساسین	۴ (۷/۱)	۳ (۵/۳)

بحث

موتاسیون‌های کروموزومی تا سال ۱۹۹۸، تنها عامل مقاومت به کینولون‌ها به شمار می‌رفتند، اما با شناسایی عوامل مقاومت به کینولون‌های وابسته به پلاسمید، این نوع مقاومت نیز مورد توجه قرار گرفت (۵). *OqxAB* یکی از انواع PMQRهای شناسایی شده است (۶).

*OqxAB*، یک پمپ افلاکس چند دارویی از خانواده‌ی Resistance nodulation division (RND) می‌باشد که در مقاومت به فلوروکینولون‌ها و کینولون‌ها نقش دارد (۸-۶).

در این مطالعه، ۹۴ جدایه‌ی *Escherichia coli* از بیماران بستری مبتلا به عفونت ادراری شناسایی شد. کمترین میزان مقاومت جدایه‌های *Escherichia coli* نسبت به فلوروکینولون‌ها و کینولون‌ها، به ترتیب نسبت به نورفلوکساسین (۵۱/۰ درصد)، افلوکساسین (۵۳/۲ درصد)، سیپروفلوکساسین (۵۳/۲ درصد)، لووفلوکساسین (۵۹/۵ درصد) و نالدیکسیک اسید (۷۳/۴ درصد) گزارش شد.

در مطالعه‌ی علیشاهی و همکاران، میزان مقاومت ۲۲۴ جدایه‌ی *Escherichia coli* عامل عفونت ادراری به آنتی‌بیوتیک‌های نالدیکسیک اسید، افلوکساسین، نورفلوکساسین، سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین به ترتیب ۴۸/۷، ۲۹/۰، ۲۷/۷، ۳۹/۲ و ۲۳/۷ درصد (۱۴) و در مطالعه‌ی در آمریکا، میزان مقاومت جدایه‌های *Escherichia coli* به کینولون‌ها ۲۱ درصد و به فلوروکینولون‌ها ۱۲ درصد گزارش گردید (۱۵).

در مطالعه‌ی فیروزه و همکاران در خرم‌آباد، ۱۴۰ جدایه‌ی *Escherichia coli* به ترتیب به نالدیکسیک اسید (۸۲/۸ درصد)، سیپروفلوکساسین (۴۵/۰ درصد)، نورفلوکساسین (۴۷/۱ درصد)، افلوکساسین (۴۵/۰ درصد) و لووفلوکساسین (۴۲/۹ درصد) مقاوم بودند (۱۶).

میزان مقاومت جدایه‌های *Escherichia coli* در پاکستان نسبت به نالدیکسیک اسید و سیپروفلوکساسین به ترتیب ۸۴/۲ و ۳۶/۵ درصد (۱۷)، در چین مقاومت به سیپروفلوکساسین ۵۹/۴ درصد (۱۸) و در کره‌ی جنوبی، مقاومت به سیپروفلوکساسین ۷۴/۶ درصد (۱۹) و در مطالعه‌ی Gagliotti و همکاران مقاومت به نورفلوکساسین،

سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین به ترتیب ۲۴، ۵۷ و ۱۲ درصد گزارش شد (۲۰).

در مطالعات پیش‌گفته و همچنین در مطالعه‌ی حاضر، میزان مقاومت نسبت به کینولون‌هایی مانند نالدیکسیک اسید که مدت طولانی است در درمان عفونت ادراری مورد استفاده قرار می‌گیرد، در مقایسه با فلوروکینولون‌ها بیشتر است. همچنین، در اغلب مطالعات، مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین بیش از سایر فلوروکینولون‌ها می‌باشد که می‌تواند به دلیل تجویز زیاد و گاهی استفاده‌ی بی‌رویه از این آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت‌های مختلف باشد. تفاوت مقاومت نسبت به کینولون‌ها در مطالعه‌ی حاضر با برخی مطالعات دیگر، به این دلیل است که در مطالعه‌ی حاضر تنها ادرار بیماران بستری مورد ارزیابی قرار گرفت و از سویی، تفاوت در مناطق، کشورها، شهرها و حتی بیمارستان‌ها نیز در مقاومت آنتی‌بیوتیکی متفاوت مؤثر می‌باشد.

در این مطالعه، ژن‌های *oqxA* و *oqxB* به ترتیب در ۴ (۲/۴ درصد) و ۳ (۳/۲ درصد) جدایه‌ی *Escherichia coli* مشاهده شد. از بین ۴ جدایه‌ی مثبت از نظر ژن *oqxA*، ۳ جدایه (۷۵ درصد) مربوط به بیماران زن، همچنین ۲ جدایه (۶۶/۶ درصد) از ۳ جدایه‌ی حاوی ژن *oqxB* مربوط به زنان بود. از ۹۴ نمونه‌ی مورد بررسی، تنها ۱ نمونه حامل هر دو ژن *oqxA* و *oqxB* بود که از بیمار مرد ۸۰ ساله‌ی بستری در بخش مراقبت‌های ویژه جدا شده بود.

در این مطالعه، ژن‌های *oqxA* و *oqxB* به ترتیب در ۴/۳ و ۲/۸ درصد جدایه‌ی مقاوم به نالدیکسیک اسید، در ۶/۲ و ۴/۲ درصد جدایه‌ی مقاوم به نورفلوکساسین، در ۶/۰ و ۴/۰ درصد جدایه‌ی مقاوم به افلوکساسین، در ۶/۰ و ۵/۳ درصد جدایه‌ی مقاوم به سیپروفلوکساسین و در ۷/۱ و ۵/۳ درصد جدایه‌ی مقاوم به لووفلوکساسین مشاهده گردید. با توجه به نتایج، ژن‌های پمپ‌های افلاکس بیشتر در ایجاد مقاومت به فلوروکینولون‌ها نقش داشتند؛ اما به طور کلی، میزان فراوانی کم آن‌ها نشان می‌دهد که مقاومت به کینولون‌ها اغلب از راه‌های دیگر مقاومت به واسطه‌ی پلاسمید و کروموزومی انجام می‌شود.

در مورد حضور ژن‌های مقاومت به کینولون به واسطه‌ی پلاسمید *oqxAB*، مطالعات اندکی در جهان انجام شده است. برای اولین بار در سال ۲۰۰۹ Kim و همکاران، ژن‌های *oqxAB* را در *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* جدا شده از نمونه‌های انسانی بررسی کردند که ۰/۴ درصد از جدایه‌های *Escherichia coli* و ۷۴/۱ درصد از جدایه‌های *Klebsiella pneumoniae* حاوی این ژن‌ها بودند و منشأ این ژن‌ها در *Escherichia coli* پلاسمیدی و در *Klebsiella pneumoniae* کروموزومی گزارش گردید (۸).

در مطالعه‌ی Chen و همکاران، فراوانی ژن‌های *oqxAB* در *Escherichia coli* ۱۰۲۲ جدا شده از نمونه‌های انسانی، محیطی و حیوانی، ۲۰/۲ درصد گزارش شد که فراوانی این ژن در نمونه‌های انسانی و حیوانی به ترتیب ۵/۲ و ۲۷/۰ درصد از نمونه‌های مثبت را شامل می‌شد (۵). طاهرپور و هاشمی، فراوانی این ژن‌ها را در ۸۳ نمونه‌ی بالینی *Klebsiella pneumoniae* ۶۰/۲ درصد گزارش نمودند (۲۱). در مطالعه‌ی Park و همکاران از ۶۳ جدایه‌ی *Escherichia coli* و ۴۱ جدایه‌ی *Klebsiella pneumoniae* فقط ۲۴/۴ درصد از جدایه‌های *Klebsiella pneumoniae* دارای ژن *oqxAB* بودند و در جدایه‌های *Escherichia coli* این ژن‌ها گزارش نگردید (۶).

در مطالعه‌ی Yuan و همکاران در چین، ۶/۶ درصد از جدایه‌های *Escherichia coli* و تمامی جدایه‌های *Klebsiella pneumoniae* حاوی ژن‌های *oqxAB* گزارش گردیدند (۹). در مطالعه‌ی Rodriguez- Martinez و همکاران در اسپانیا، شیوع ژن‌های *oqxA* و *oqxB* به ترتیب ۷۶ و ۷۵ درصد در بین جدایه‌های *Klebsiella pneumoniae* گزارش گردید (۲۲).

مطالعات نشان داده است که عوامل مقاومت به کینولون‌ها با واسطه‌ی پلاسمید، منجر به مقاومت در سطح پایین نسبت به فلوروکینولون‌ها می‌شوند (۱۰). به طور کلی، بر اساس مطالعات پیش‌گفته، شیوع ژن‌های مقاومت به کینولون *oqxA* و *oqxB* در باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های انسانی پایین است و بیشتر در جدایه‌های *Klebsiella pneumoniae* دیده می‌شود که اغلب مطالعات نیز در مورد این باکتری می‌باشد و در مورد

در مطالعه‌ی Escherichia coli چندانی وجود ندارد و میزان حضور ژن‌های مورد نظر حداکثر ۷ درصد گزارش شده است. نتایج مطالعه‌ی حاضر در خصوص فراوانی ژن‌های *oqxA* و *oqxB* با مطالعات Chen و همکاران (۵) و نیز Yuan و همکاران (۹) هم‌خوانی دارد. جهت پی بردن به راه‌های مقاومت به کینولون‌ها در کشورمان لازم است مطالعاتی با حجم نمونه‌ی بیشتر و تعیین کلیه‌ی روش‌های مقاومت به کینولون‌ها با واسطه‌ی پلاسمید و کروموزوم انجام شود و ارتباط آن‌ها با مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های دیگر بررسی گردد.

نتیجه‌گیری نهایی این که مقاومت به کینولون‌ها نسبت به برخی مطالعات دیگر بیشتر است. همچنین، فراوانی ژن‌های مقاومت به کینولون‌ها به واسطه‌ی پلاسمید *oqxA* و *oqxB* در نمونه‌های *Escherichia coli* در سطح پایین و به ترتیب ۴/۲ و ۳/۲ درصد بود که مشابه نتایج مطالعات دیگر می‌باشد. بنابراین، پیشنهاد می‌گردد راه‌های دیگر مقاومت به کینولون‌ها با واسطه‌ی پلاسمید نیز مورد بررسی قرار و استفاده از این آنتی‌بیوتیک‌ها تحت کنترل قرار گیرد و سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها به طور معمول قبل از آغاز درمان عفونت‌های ادراری انجام شود.

مطالعات نشان داده است که عوامل مقاومت به کینولون‌ها با واسطه‌ی پلاسمید، منجر به مقاومت در سطح پایین نسبت به فلوروکینولون‌ها می‌شوند (۱۰). به طور کلی، بر اساس مطالعات پیش‌گفته، شیوع ژن‌های مقاومت به کینولون *oqxA* و *oqxB* در باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های انسانی پایین است و بیشتر در جدایه‌های *Klebsiella pneumoniae* دیده می‌شود که اغلب مطالعات نیز در مورد این باکتری می‌باشد و در مورد

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دوره‌ی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی پزشکی در دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی می‌باشد. بدین وسیله از آقای امین دهقان و خانم‌ها آزاده عظیمی و آسیه ملاحسینی قدردانی می‌گردد.

### References

- Briales A, Rodriguez-Martinez JM, Velasco C, de Alba PD, Rodriguez-Bano J, Martinez-Martinez L, et al. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants *qnr* and *aac(6)-Ib-cr* in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum beta-lactamases in Spain. *Int J Antimicrob Agents* 2012; 39(5): 431-4.
- Dromigny JA, Nabeth P, Juergens-Behr A, Perrier-Gros-Claude JD. Risk factors for antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from community-acquired urinary tract infections in Dakar, Senegal. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56(1): 236-9.
- Soleimani-Asl Y, Zibaei M, Firoozeh F. Detection of *qnrA* gene among quinolone-resistant *Escherichia coli* isolated from Urinary tract infections in Khorram Abad during 2011-2012. *Feyz* 2013; 17 (5): 488-94. [In Persian].
- Sedighi I, Arabestani MR, Rahimbakhsh A, Karimitabar Z, Alikhani MY. Dissemination of extended-spectrum beta-lactamases and quinolone resistance genes among clinical isolates of uropathogenic *Escherichia coli* in children. *Jundishapur J Microbiol* 2015; 8(7): e19184.
- Chen X, Zhang W, Pan W, Yin J, Pan Z, Gao S, et al. Prevalence of *qnr*, *aac(6)-Ib-cr*, *qepA*, and *oqxAB* in *Escherichia coli* isolates from humans, animals, and the environment. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(6): 3423-7.
- Park KS, Kim MH, Park TS, Nam YS, Lee HJ, Suh JT. Prevalence of the plasmid-mediated quinolone resistance genes, *aac(6)-Ib-cr*, *qepA*, and *oqxAB* in clinical isolates of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Korea. *Ann Clin Lab Sci* 2012; 42(2): 191-7.
- Hansen LH, Jensen LB, Sorensen HI, Sorensen SJ. Substrate specificity of the *OqxAB* multidrug resistance pump in *Escherichia coli* and selected enteric bacteria. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60(1): 145-7.

8. Kim HB, Wang M, Park CH, Kim EC, Jacoby GA, Hooper DC. *oqxAB* encoding a multidrug efflux pump in human clinical isolates of Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53(8): 3582-4.
9. Yuan J, Xu X, Guo Q, Zhao X, Ye X, Guo Y, et al. Prevalence of the *oqxAB* gene complex in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67(7): 1655-9.
10. Pasom W, Chanawong A, Lulitanond A, Wilailuckana C, Kenprom S, Puang-Ngern P. Plasmid-mediated quinolone resistance genes, *aac(6)-Ib-cr*, *qnrS*, *qnrB*, and *qnrA*, in urinary isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* at a teaching hospital, Thailand. *Jpn J Infect Dis* 2013; 66(5): 428-32.
11. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). Performance standard for antimicrobial susceptibility testing: Document M100-S23. Wayne, PA: CLSI; 2013.
12. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16(3): 1215.
13. Sauer P, Gallo J, Kesselova M, Kolar M, Koukalova D. Universal primers for detection of common bacterial pathogens causing prosthetic joint infection. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2005; 149(2): 285-8.
14. Alishahi H, Eslami G, Zandi H, Vakili M. Frequency of *qnrA* and *qnrB* ciprofloxacin-resistant genes in *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections in Estahban-hospitals in Fars province. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci* 2015; 23 (8): 736-46. [In Persian].
15. Moreno E, Prats G, Sabate M, Perez T, Johnson JR, Andreu A. Quinolone, fluoroquinolone and trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in relation to virulence determinants and phylogenetic background among uropathogenic *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57(2): 204-11.
16. Firoozeh F, Zibaei M, Soleimani-Asl Y. Detection of plasmid-mediated *qnr* genes among the quinolone-resistant *Escherichia coli* isolates in Iran. *J Infect Dev Ctries* 2014; 8(7): 818-22.
17. Muhammad I, Uzma M, Yasmin B, Mehmood Q, Habib B. Prevalence of antimicrobial resistance and integrons in *Escherichia coli* from Punjab, Pakistan. *Braz J Microbiol* 2011; 42(2): 462-6.
18. Wang A, Yang Y, Lu Q, Wang Y, Chen Y, Deng L, et al. Presence of *qnr* gene in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* resistant to ciprofloxacin isolated from pediatric patients in China. *BMC Infect Dis* 2008; 8: 68.
19. Jeong JY, Yoon HJ, Kim ES, Lee Y, Choi SH, Kim NJ, et al. Detection of *qnr* in clinical isolates of *Escherichia coli* from Korea. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(6): 2522-4.
20. Gagliotti C, Buttazzi R, Sforza S, Moro ML. Resistance to fluoroquinolones and treatment failure/short-term relapse of community-acquired urinary tract infections caused by *Escherichia coli*. *J Infect* 2008; 57(3): 179-84.
21. Taherpour A, Hashemi A. Detection of *OqxAB* efflux pumps, *OmpK35* and *OmpK36* porins in extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates from Iran. *Hippokratia* 2013; 17(4): 355-8.
22. Rodriguez-Martinez JM, Diaz de AP, Briales A, Machuca J, Lossa M, Fernandez-Cuenca F, et al. Contribution of *OqxAB* efflux pumps to quinolone resistance in extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68(1): 68-73.

## Frequency of *oqx*A and *oqx*B Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes in *Escherichia Coli* Isolated from Urine of Inpatients with Urinary Tract Infections in Yazd City, Iran

Saeedeh Sadat Hosseini<sup>1</sup>, Gilda Eslami<sup>2</sup>, Hengameh Zandi<sup>3</sup>, Mahmoud Vakili<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Increasing in resistance among *Escherichia coli* causing urinary tract infection led to increased concern in the world. Quinolones are widely used in the treatment of urinary tract infections and a few studies have been done about plasmid-mediated quinolone resistance determinants. The aim of this study was to determine the frequency of *oqx*A and *oqx*B plasmid-mediated quinolone resistance genes, which encodes efflux pumps, among *Escherichia coli* isolated from urine of hospitalized patients with urinary tract infection in Yazd City, Iran.

**Methods:** In this descriptive-analytical study, 94 *Escherichia coli* strains were isolated from urine specimens of inpatients with urinary tract infections in Yazd City, at first 6 months of 2014. The susceptibility testing for quinolones were performed using the disk diffusion method according to protocols of Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI-2013). Polymerase chain reaction (PCR) method and specific primers were used for detection of *oqx*A and *oqx*B genes. The results were analyzed using SPSS software.

**Findings:** Among 94 *Escherichia coli* isolates, the lowest and highest quinolone-resistance was observed for norfloxacin (51.0%) and nalidixic acid (73.4%), respectively. In this study, *oqx*A and *oqx*B genes were present in 4 (4.2%) and 3 (3.2%) *Escherichia coli* isolates, respectively.

**Conclusion:** According to the results, resistance to quinolones is higher than some other studies. The low frequency of *oqx*A and *oqx*B in this study was similar to other studies. It is recommended that antibiotic susceptibility test must be performed routinely before initiating treatment of urinary tract infections and studies about the plasmid-mediated quinolone resistance determinants should be done regularly.

**Keywords:** *Escherichia coli*, Plasmid-mediated resistance to quinolones, *Oqx*AB

**Citation:** Hosseini SS, Eslami G, Zandi H, Vakili M. Frequency of *oqx*A and *oqx*B Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes in *Escherichia Coli* Isolated from Urine of Inpatients with Urinary Tract Infections in Yazd City, Iran. J Isfahan Med Sch 2016; 34(402): 1211-7.

1- MSc Student, Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

2- Assistant Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine AND Research Center for Food Hygiene and Safety, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

3- Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Medicine AND Research Center for Food Hygiene and Safety, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

4- Associate Professor, Department of Community Medicine, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

**Corresponding Author:** Hengameh Zandi, Email: hengamehzandi1602@gmail.com