



بررسی فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت نسبت به فلورکینولون‌ها در جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه از موارد عفونت‌های ادراری در شهرستان بجنورد

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۸/۲۰ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۵/۰۱

خلاصه

مقدمه

عفونت مجاری ادراری یکی از معمول‌ترین و رایج‌ترین عفونت‌های باکتریایی می‌باشد به طوری که نسبت قابل توجهی از مراجعه کنندگان به بیمارستان‌ها (حدود ۳۰-۴۰ درصد) را به خود اختصاص می‌دهد. ظهور مقاومت در برابر سفالوسپورین‌ها، فلوروکینولون‌ها و تری متوپریم-سولفامتو کسازول، که اغلب جهت درمان عفونت‌های عمومی و بیمارستانی استفاده می‌شود، درمان موثر این بیماری‌ها را به تأخیر انداخت و متعاقباً منجر به افزایش واگیری و مرگ و میر بیماران در اثر این عفونت‌ها گردید.

روش کار

در این مطالعه ۳۰ نمونه از کشت‌های مثبت دارای عفونت ادراری ارجاع شده به آزمایشگاه بیمارستان امام رضا شهرستان بجنورد، مورد بررسی قرار گرفت. بررسی مقاومت و حساسیت جدایه‌ها با روش دیسک دیفیوژن انجام گردید. همچنین حضور ژن *qnrA* به روش مولکولی با پرایمرهای اختصاصی بررسی گردید.

نتایج

نتایج حاصله از این پژوهش نشان می‌دهد که میزان مقاومت فنوتیپی جدایه‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید، لووفلوکساسین و سپیروفلوکساسین به ترتیب ۴۳/۳۳٪، ۲۶/۶۶٪ و ۴۰٪ بود. همچنین در بررسی ژنوتیپی جدایه‌ها نسبت به ژن مورد مطالعه ۶/۶۶٪ مشاهده شد.

نتیجه گیری

براساس نتایج مطالعه‌ی حاضر می‌توان گفت که میزان مقاومت بر علیه آنتی بیوتیک‌های متعلق به خانواده‌ی فلورکینولون‌ها هنوز به طور گسترده‌ای بالا نمی‌باشد.

کلمات کلیدی

عفونت ادراری، کلبسیلا پنومونیه، مقاومت آنتی بیوتیکی، فلوروکینولون
پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

محدثه امیری^۱

مجید جمشیدیان مجاور^۲

حمیدرضا فرزین^{۳*}

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته باکتری شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران.

^{۲،۳} استادیار موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شعبه مشهد، ایران.

^{۱،۲،۳} مشهد- خیابان احمدآباد - مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی.

* موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شعبه مشهد، ایران.

Email: hrfarzin@yahoo.com

مقدمه

عفونت دستگاه ادراری یکی از شایع‌ترین و مهم‌ترین عفونت‌هایی است که در تمامی سنین نیز مشاهده می‌شود و سالانه صد و پنجاه میلیون نفر به این عفونت مبتلا می‌شوند؛ همچنین دارای گسترش قابل ملاحظه‌ای در جوامع و بیمارستان‌ها می‌باشد. عفونت ادراری توسط بسیاری از عوامل بیماری‌زای باکتریایی (گرم منفی و گرم مثبت) و قارچی در دستگاه ادراری ایجاد می‌گردد. باکتری‌های گرم منفی خصوصاً *اشریشیاکلی*، *کلبسیلا پنومونیه*، *سراسیا* و *پروتئوس میرابیلیس* مهم‌ترین منابع ایجاد این عفونت در بسیاری از قسمت‌های مختلف جهان می‌باشند (۱).

باکتری *کلبسیلا پنومونیه* گرم منفی، متعلق به خانواده انتروباکتریاسه، غیر متحرک و دارای کپسول پلی ساکاریدی می‌باشد. *کلبسیلا پنومونیه* عامل ایجاد عفونت‌های مجاری ادراری، آرتریت نوزادان، مننژیت، عفونت زخم‌ها، پنومونی بیمارستانی، باکتریمی، سپتی سمی و عفونت‌های بافت نرم می‌باشد (۲). مهم‌ترین امکانات این باکتری‌ها مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به آنتی بیوتیک‌های گوناگون می‌باشد که ژن‌های آنها معمولاً بر روی پلاسمیدهایی با وزن مولکولی بالا حمل می‌گردد (۳). امروزه مقاومت آنتی بیوتیک یک چالش مهم در پیشگیری، درمان و کنترل بیماری‌های عفونی است. از مهم‌ترین علل مقاومت آنتی بیوتیکی می‌توان به استفاده بیش از حد آنتی بیوتیک توسط انسان‌ها و همچنین استفاده بیش از اندازه آنتی بیوتیک‌ها در چرخه تولید مواد غذایی می‌باشد (۴).

مقاومت آنتی بیوتیکی معمولاً از طریق موتاسیون و یا کسب ژن‌های مقاومت از باکتری‌های دیگر، به وجود می‌آید. یکی از رایج‌ترین گزینه‌ها در درمان عفونت ادراری استفاده از آنتی بیوتیک‌های خانواده‌ی کینولون‌ها می‌باشد. این دسته از آنتی بیوتیک‌ها در برابر طیف گسترده‌ای از باکتری‌ها موثر می‌باشند و مانع تولید و سنتز DNA، توسط مهار آنزیم ژیراز می‌گردند (۵ و ۴). فلوروکینولون‌ها معمولاً برای عفونت‌های تناسلی ادراری استفاده می‌شوند (۶). ژن‌های *qnr A* یکی از اجزای عوامل مقاومت کینولونی وابسته به پلاسمید (PMQR) می‌باشند که به دلیل قرار گرفتن بر روی اینترگون‌های

گوناگون سبب افزایش بسیار سریع مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری‌های خانواده‌ی انتروباکتریاسه می‌گردد (۷). مقاومت کینولونی وابسته به پلاسمید (PMQR) به دلیل گستردگی وسیع در بین خانواده‌ی انتروباکتریاسه نقش بسیار مهمی را در ایجاد مقاومت در بین این داروها ایفا می‌کند (۸). سه نوع مقاومت کینولونی وابسته به پلاسمید (PMQR) کشف شده است که شامل پروتئین *aac(6)-Ib-cr*، پمپ پروتئینی *qepA* و پروتئین‌های *qnr* می‌باشند؛ که بارزترین آن‌ها در ایجاد مقاومت ژن‌های *qnr* می‌باشند (۹). ژن *qnrA* یک پروتئین دارای ۲۱۸ اسید آمینه‌ای می‌باشد که خانواده‌ی پنتاپتیدی را کد می‌کند که با مهار اتصال کینولون‌ها به DNA ژیراز و توپوایزومراز ۴، از DNA محافظت می‌نماید و یا اینکه این پروتئین‌ها به DNA ژیراز و توپوایزومراز ۴ اتصال می‌یابند و از ورود کینولون‌ها به قسمت‌های شکسته شده توسط آنزیم ممانعت می‌کنند (۱۰).

در موارد حاد پیلونفریت یا پروستاتیت باکتریال به عنوان خط اول درمان توصیه می‌شوند. علی‌رغم سرطان‌زا بودن، نالیدیکسیک اسید به عنوان پروفیلاکسی در درمان عفونت‌های برگشت‌پذیر ادراری کودکان استفاده می‌شود این گروه آنتی بیوتیکی دارای چهار نسل است که شامل: نسل اول نالیدیکسیک اسید، نسل دوم سیپروفلوکساسین و افلوکساسین، نسل سوم لوفلوکساسین، نسل چهارم جمی‌فلوکساسین و موکسی‌فلوکساسین می‌باشد (۱۱).

هدف از انجام این پژوهش بررسی میزان مقاومت فنوتیپی جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه* نسبت به آنتی بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید و لوفلوکساسین و بررسی شیوع ژن پلاسمیدی *qnrA* در سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده از بیماران دارای عفونت ادراری در شهرستان بجنورد می‌باشد.

روش کار

در مطالعه حاضر ۳۰ نمونه از کشت‌های مثبت دارای عفونت ادراری ارجاع شده به آزمایشگاه مستقر در بیمارستان امام رضا شهرستان بجنورد مورد بررسی قرار گرفت. پلیت‌های دارای

انکوباسیون برای استخراج DNA از تک کلنی های بدست آمده استفاده گردید.

ابتدا به میزان ۳۵۰ ماکرولیت آب مقطر استریل به درون میکروتیوب های استریل انتقال داده شد و سپس یک کلنی در آن حل گردید. میکروتیوب ها در دستگاه هیتینگ بلاک (اپندورف-آلمان) در دمای ۹۸ درجه سانتی گراد به مدت زمان ۱۱ دقیقه قرار داده شدند. سپس به مدت ۵ دقیقه در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد میکروتیوب ها سرد گردید و به مدت ۱۰ ثانیه میکروتیوب ها ورتکس شدند و در نهایت میکروتیوب ها به مدت ۲ دقیقه با دور، با سرعت ۱۲ هزار دور در دقیقه سانترفیوژ (اپندورف-آلمان) شدند. میکروتیوب ها به آرامی از دستگاه خارج شدند و ۲۵۰ ماکرو لیتر از مایع رویی آن ها به داخل میکروتیوب های استریل جدیدی منتقل گردید (۱۳).

روش PCR جهت ردیابی ژن *qnrA*

برای انجام PCR به منظور ردیابی ژن ها، از پرایمر اختصاصی معرفی شده در مطالعات جدول ۱ استفاده شد. از کنترل مثبت مطالعه ی نادری و همکاران جهت کنترل مثبت استفاده گردید و همچنین از آب دیونیزه به عنوان کنترل منفی استفاده شد (۱۴). جهت انجام PCR از مستر میکس آماده (BIOFACT- کره) به میزان ۱۲/۵ میکرولیتر، ۰/۱ از هر کدام از پرایمرها (ژن فن آوران-ایران)، DNA نمونه های مورد نظر به میزان ۵ میکرولیتر و آب مقطر استریل تا حجم واکنش (۲۵ میکرو لیتر) استفاده شد.

برنامه دمایی مورد استفاده جهت ردیابی ژن های مذکور در دستگاه ترموسایکلر (اپندورف-آلمان) در جدول شماره ۱ آورده شده است. برای شناسایی سویه هایی که از نظر ژن مورد نظر، تمامی محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۰/۸٪ واجد رنگ گرین ویور، الکتروفورز گردید. بدین منظور ابتدا بافر TBE تهیه شد، و پس از ساخت ژل آگارز، نمونه ها در آن به مدت ۳۵ دقیقه با ولتاژ ۱۰۰ ولت الکتروفورز شدند. پس از انجام الکتروفورز ژل مورد نظر توسط ژل داک (Optigo) ISOGENE مشاهده شد.

باکتری هایی که در محیط کشت محیط مک کانکی آگار (مرک-آلمان) دارای کلنی های صورتی رنگ و موکوئیدی بودند به عنوان جدایه های مشکوک به کلبسیلا انتخاب شدند و پس از تأیید به وسیله ی، آزمایش های بیوشیمیایی نظیر تست های (تست اوره، سیمون سترات، TSI و SIM) (مرک-آلمان) جهت تأیید جدایه ها صورت پذیرفت.

تعیین میزان حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های مورد مطالعه نسبت به آنتی بیوتیک های نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین به منظور شناسایی مقاومت جدایه های فوق به کینولون ها از ۳ آنتی بیوتیک نالیدیکسیک اسید (پادتن طب - کرج)، سیپروفلوکساسین (پادتن طب-کرج) و لووفلوکساسین (پادتن طب - کرج) مربوط به این گروه استفاده گردید و از طریق روش دیسک دیفیوژن (کربی-باثر) این تست انجام شد. در این روش که روش معمولی و رایج است باکتری مورد نظر را بر روی محیط کشت اختصاصی کشت داده و پس از طی مدت زمان انکوباسیون یک کلنی از هر جدایه را انتخاب نموده و به محیط مایع مولر هیتون پراث (مرک-آلمان) انتقال داده و پس از رسیدن به کدورت نیم مک فارلند با استفاده از سوآب استریل از محیط مایع برداشته و به صورت چمنی بر روی محیط مولر هیتون آگار (مرک-آلمان) کشت داده شدند و سپس دیسک های آنتی بیوتیک مورد مطالعه را با فاصله ی مناسب با کمک پنس استریل بر روی محیط قرار داده شدند و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه مقاومت یا حساسیت را بر اساس اندازه گیری منطقه عدم رشد بررسی نموده و نتایج آن با کمک جدول CLSI مورد بررسی قرار گرفت (۱۲).

استخراج DNA

برای استخراج DNA در این مطالعه از روش جوشاندن استفاده شد. در این روش ابتدا باکتری را روی محیط لوریا برتانی آگار (مرک-آلمان) کشت داده و به مدت ۱۸-۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از اتمام زمان

جدول ۱ - توالی پرایمرهای مورد استفاده برای ردیابی ژن مورد مطالعه

منبع	اندازه‌ی محصول (bp)	ژن‌های مورد مطالعه
(۱۵)	۵۸۰	<i>qnrA</i>

نتایج

نالیدیکسیک اسید (۱۳ جدایه؛ ۴۳/۳۳٪) بود، و آنتی بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین (۱۲ جدایه؛ ۴۰٪) و لووفلوکساسین (۸ جدایه؛ ۲۶/۶۶٪) بعد از آن قرار گرفتند.

نتیجه‌ی مقاومت فنوتیپی در برابر آنتی بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین در میان جدایه‌های کلبسیلا مورد مطالعه، بیشترین مقاومت متعلق به آنتی بیوتیک

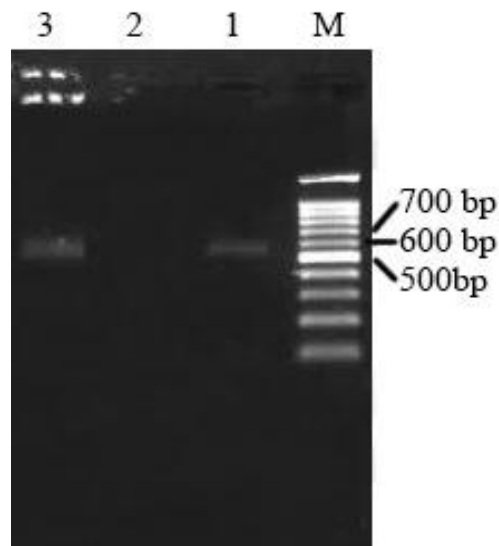
جدول ۲ - فراوانی مقاومت و حساسیت جدایه‌های مورد مطالعه در برابر آنتی بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین و

لووفلوکساسین

آنتی بیوتیک	S	I	R
NA	۳۶/۶۶٪	۲۰٪	۴۳/۳۳٪
CP	۴۰٪	۲۰٪	۴۰٪
LOM	۶۰٪	۱۳/۳۳٪	۲۶/۶۶٪

مقاومت بود.

نتیجه‌ی آزمایش PCR جهت شناسایی ژن *qnrA*، مجموعاً از میان ۳۰ جدایه‌ی مورد مطالعه ۲ جدایه (۶/۶۶٪) دارای ژن



شکل ۱- نتیجه‌ی آزمایش PCR جهت شناسایی ژن *qnrA*

M: lad 100bp (BIOFACT-Korea)

ستون شماره ۱ ژن *qnrA* (580 bp)؛ ستون شماره ۲ کنترل منفی؛ ستون شماره ۳ کنترل مثبت

بحث

عفونت مجاری ادراری یکی از شایع ترین و مهم ترین عفونت های باکتریایی می باشد به طوری که نسبت قابل توجهی از مراجعه کنندگان به بیمارستان ها (حدود ۳۰-۴۰٪) و بیماران بستری در بخش های مختلف بیمارستان را به خود اختصاص می دهد (۱۶).

در مطالعه حاضر از میان ۳۰ کشت مثبت کلبسیلا جدا شده از نمونه های بالینی بیمارستان امام رضا بجنورد، میزان مقاومت و حساسیت ایزوله ها نسبت به آنتی بیوتیک های سیروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید و لووفلوکسازین مورد بررسی قرار گرفت؛ نتایج حاصله نشان داد بیشترین مقاومت مربوط به آنتی بیوتیک نالیدیکسیک اسید بوده ۴۳/۳۳٪ و آنتی بیوتیک های سیروفلوکسازین (۴۰٪) و لووفلوکسازین (۲۶/۶۶٪) بعد از آن قرار گرفتند. در بررسی میزان مقاومت به روش ژنوتیپی نسبت به ژن *qnrA* دو جدایه (۶/۶۶٪) مشاهده گردید.

در مطالعه ای توسط توکل و همکاران در سال ۹۳ در تهران صورت پذیرفت، از میان ۵۰ ایزوله جدا شده کلبسیلا از موارد عفونت ادراری (۲۰٪) ایزوله دارای ژن *qnrA* مقاومت بودند (۱۷).

در مطالعه ای که در کشور کره توسط جئونگ هوان شین و همکاران در سال ۲۰۰۸ به بررسی شیوع ژن های *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* در باکتری های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه با کمک تجزیه و تحلیل توالی PCR پرداخته بودند مشاهده شد که از میان ۵۹ جدایه متعلق به کلبسیلا تمامی این جدایه ها دارای ژن *qnrB* بودند و هیچ کدام از جدایه های کلبسیلا دارای ژن های *qnrA* و *qnrS* نبودند (۱۸).

در تحقیقی که در ایالات متحده در طی سال های ۱۹۹۹، ۲۰۰۰، ۲۰۰۱ و ۲۰۰۴ توسط Robicsek و همکاران بر روی ۱۰۶ جدایه شامل انترباکتریاسه، اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه جمع آوری شده از سراسر ایالات متحده انجام شده بود، جدایه ها توسط مولتی پلکس PCR برای ژن *qnr* غربالگری شدند. در طی این سه سال باکتری کلبسیلا پنومونیه دارای هر سه ژن بود. در طی سال های ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۴ فراوانی ژن های مورد بررسی

عبارت بودند از: *qnrA* ۴/۲۱٪، *qnrB* ۲/۲۱٪ و *qnrS* ۰/۲۱٪ در سال ۱۹۹۹؛ *qnrA* ۴/۳۳٪، *qnrB* ۲/۳۳٪ و *qnrS* ۰/۳۳٪ در سال ۲۰۰۰؛ *qnrA* ۲/۲۰٪، *qnrB* ۱/۲۰٪ و *qnrS* ۰/۲۰٪ در سال ۲۰۰۱؛ *qnrA* ۵/۳۲٪، *qnrB* ۱/۳۲٪، *qnrS* ۰/۳۲٪ در سال ۲۰۰۴ گزارش گردید (۱۹).

نتایج حاصل در بررسی فنوتیپی جدایه ها نسبت به آنتی بیوتیک های نالیدیکسیک اسید، سیروفلوکسازین و لووفلوکسازین نشان داد که بیشترین مقاومت مربوط به آنتی بیوتیک نالیدیکسیک اسید بوده (۴۳/۳۳٪) و آنتی بیوتیک های سیروفلوکسازین (۴۰٪) و لووفلوکسازین (۲۶/۶۶٪) بعد از آن قرار گرفتند.

در مطالعه ای که توسط مقدسی و همکاران در سال ۲۰۱۶ در بروجرد صورت پذیرفت ۹۴ ایزوله کلبسیلا پنومونیه مربوط به عفونت ادراری جمع آوری گشت و میزان مقاومت جدایه ها نسبت به آنتی بیوتیک های سیروفلوکسازین، نالیدیکسیک اسید، نروفلوکسازین و افلوفلوکسازین بررسی شد. میزان مقاومت باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیک سیروفلوکسازین ۲۷/۶۵٪ و نسبت به آنتی بیوتیک نالیدیکسیک اسید ۲۹/۷۸٪ گزارش شد (۲۰).

در مطالعه ای که توسط Manikandan و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام شد، بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی به صورت فنوتیپی بر روی ۱۶ آنتی بیوتیک صورت پذیرفت. در این میان ۸۸٪ جدایه ها به آموکسی سیلین مقاوم بودند همچین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های نالیدیکسیک اسید و سیروفلوکسازین به ترتیب ۵۰/۶٪ و ۲۳/۶٪ بوده است (۲۱).

نتیجه گیری

براساس نتایج مطالعه ای حاضر می توان گفت که اگرچه میزان مقاومت علیه آنتی بیوتیک های (نالیدیکسیک اسید، سیروفلوکسازین و لووفلوکسازین) و ژن *qnrA* که متعلق به خانواده ی فلورکینولون ها هستند هنوز به طور گسترده ای بالا نمی باشد اما چنانچه سیاست های درست و مناسب جهت افزایش آگاهی به منظور جلوگیری از مصرف نا صحیح و خود سرانه ی آنتی بیوتیکی و همچنین روش های صحیح تجویز اتخاذ نگردد

تقدیر و تشکر

باید شاهد افزایش روز افزون مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک‌ها باشیم.

بدینوسیله نویسندگان از کارکنان آزمایشگاه تحقیقات مؤسسه "تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی" شعبه شمال شرق کشور که از هیچ کوششی در راستای انجام این مطالعه دریغ نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

1. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature Reviews Microbiology*. 2015;13(5):269-84.
2. Lin JC, Chang FY, Fung CP, Xu JZ, Cheng HP, Wang JJ, et al. High prevalence of phagocytic-resistant capsular serotypes of *Klebsiella pneumoniae* in liver abscess. *Microbes Infect*. 2004;6(13):1191-8.
3. shikh-bardsiri H, shakibaie MR. Antibiotic resistance pattern among biofilm producing and non producing *Proteus* strains isolated from hospitalized patients; matter of hospital hygiene and antimicrobial stewardshi, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2013;16(22):1496-1502.
4. Amiri M, Jajarmi M, Ghanbarpour R. Prevalence of Resistance to Quinolone and Fluoroquinolone Antibiotics and Screening of qnr Genes Among *Escherichia coli* Isolates From Urinary Tract Infection. *Int J Enteric Pathog*. 2017, 5(4):100-105.
5. Kim HB, Park CH, Kim CJ, Kim EC, Jacoby GA, Hooper DC. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants over a 9-year period. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(2):639-645
6. Sahm DF, Thomsberry C, Mayfield DC, Jones ME, Karlowsky JA. Multidrug-resistant urinary tract isolates of *Escherichia coli*: prevalence and patient demographics in the United State in 2000. *Antimicrob Agent and chemother* 2001; 45(5):1402-6.
7. Ito CA, Gales AC, Tognim MC, Munerato P, Dalla Costa LM. Quinolone-resistant *Escherichia coli*. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2008;12(1):5-9.
8. 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 Journal of Kashan University of Medical Sciences*. 2013 1;17(5).
9. Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *The Lancet infectious diseases*. 2006 1;6(10):629-40.
10. Vakili B, Khorvash F, Fazeli H, Khaleghi M. Detection of quinolone-resistance mutations of parC gene in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in Iran. *J Res Med Sci* 2014; 19(6): 567-70.
11. Ghanbarpour R, Daneshdoost S. Identification of shiga toxin and intimin coding genes in *Escherichia coli* isolates from pigeons (*Columba livia*) in relation to phylotypes and antibiotic resistance patterns. *Trop Anim Health Prod*. 2012;44(2):307-12.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (2016) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-second informational supplement. CLSI document M100-S22. Wayne, PA, USA.
13. Askari Badouei M, Jajarmi M, Mirsalehian A. Virulence profiling and genetic relatedness of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from humans and ruminants. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2015;3(8):15-20.
14. Naderi Z, Ghanbarpour R, Sami M. Antimicrobial resistance characteristics and phylogenetic groups of *Escherichia coli* isolated from diarrheic calves in southeast of Iran. *Int J Enteric Pathog*. 2016; 4(4):537-548
15. Cattoir V, Poirel L, Rotimi V, Soussy C-J, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated quinolone resistance qnr genes in ESBL-producing enterobacterial isolates. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2007;60(2):394-7.
16. Adib, N., Ghanbarpour, R., Solatzadeh, H., & Alizade, H. Antibiotic resistance profile and virulence genes of uropathogenic *Escherichia coli* isolates in relation to phylogeny. *Trop Biomed*. 2014;31(1): 17-25.
17. Tavakol M, Momtaz H. Determination of antibiotic resistance profile in *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from urinary tract infections of patients hospitalized in Peyambaran hospital (Tehran-Iran). *Feyz Journal*. 2017; 21 (1) :74-82
18. Shin JH, Jung HJ, Lee JY, Kim HR, Lee JN, Chang CL. High rates of plasmid-mediated quinolone resistance QnrB variants among ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from urinary tract infections in Korea. *Microbial Drug Resistance*. 2008;14(3):221-6.

19. Robicsek A, Strahilevitz J, Sahn D, Jacoby G, Hooper D. qnr prevalence in ceftazidime-resistant Enterobacteriaceae isolates from the United States. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2006;50(8):2872-4.
20. Moghadasi M, Mirzaee M, Mehrabi M. Frequency of Quinolone Resistance and qnrB and qnrC Genes in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *J Med Bacteriol*.2016;5(6):39-45.
21. C.Manikandan and A.Amsath. Antibiotic susceptibility pattern of *Klebsiella pneumoniae* isolated from urine samples.2013;12(5):255-262.

*Original Article***Phenotypic and genotypic evaluation of fluoroquinolones resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolates from urinary tract infections in Bojnourd city**

Received: 11/11/2019 - Accepted: 22/07/2020

Mohadese Amiri¹
Majid Jamshidian-Mojaver²
Hamidreza Farzin^{3*}

¹ MSc of Bacteriology, School of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

^{2,3} Assistant professor, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad Branch, Iran.

* Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad Branch, Iran.

Email: hrfarzin@yahoo.com

Abstract

Introduction: Urinary tract infection (UTI) is one of the most common bacterial infections, accounting for a significant proportion of hospital clients (about 30-40%). The emergence of resistance to cephalosporins, fluoroquinolones and trimethoprim-sulfamethoxazole which were often used to treat general and nosocomial infections, delayed effective treatment of these diseases and subsequently resulted in increased infections and mortality of patients.

Methods: In this study, 30 specimens of positive cultures of urinary tract infection which were referred to Imam Reza Hospital laboratory in Bojnourd were studied. The resistance and susceptibility of the isolates were determined by disc diffusion method. The presence of QnrA gen was assessed by molecular methods with specific primers.

Results: The phenotypic resistance of isolates to nalidixic acid, levofloxacin and ciprofloxacin were 43.33%, 26.66% and 40%, respectively. Also, genotypic analysis of the isolates showed 6.66% of the studied genes.

Conclusion: Based on the results of the present study, it can be said that resistance to antibiotics belonging to the fluoroquinolones is not yet widely high.

Key words: UTI, *Klebsiella pneumoniae*, Antibiotic resistance, Fluoroquinolones

Acknowledgement: There is no conflict of interest.