Archive of SID

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیستم / آذر و دی 1394/60-52

ارتباط ژن‌های *qnr* در القای مقاومت به سیپروفلوکساسین در اشریشیا کلای

ستاره یوسفی[1]، علی مجتهدی[2]، محمد شناگری[3]، زهرا عطرکار روشن[4]

1.دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبشناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران.

2.استادیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران (مولف مسوول)، تلفن ثابت:33690884

alimojtahedi@yahoo.com

3.استادیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

4.استادیار، گروه آمار حیاتی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: عفونت‌های دستگاه ادراری (UTI) ناشی از اشریشیا کلای یکی از شایع‌ترین انواع عفونت‌ها است. فلوروکینولون‌ها اغلب برای درمان این نوع از عفونت‌ها بکار می‌روند و استفاده‌ی وسیع و نادرست از این آنتی‌بیوتیک‌ها باعث ایجاد مقاومت شده است. سیپروفلوکساسین بعنوان یکی از آنتی بیوتیک‌های رایج در گروه فلوروکینولون‌ها در بحث درمان مطرح می‌باشد.

روش بررسی: در یک مطالعه مقطعی در 6 ماه نخست سال 1393، تعداد 1723 نمونه‌ی ادراری از چهار بیمارستان رشت جمع-آوری گردید. بعد از کشت و تعیین هویت سویه‌ها به عنوان اشریشیا کلای، تست آنتی بیوگرام برای آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین انجام شد. سپس به منظور تکثیر ژن‌های (*qnrA*،*qnrB* و*qnrS*)، DNA پلاسمیدی استخراج گردید. محصول PCR بر روی ژل آگارز 2 درصد حاوی syber safe الکتروفورز شد.آنالیز داده ها با استفاده از آزمون آماری کای اسکوئر و به کمک نرم افزار SPSS version 18 انجام گردید.

نتایج: از 309 نمونه‌ی بررسی شده 139 نمونه مقاوم به سیپروفلوکساسین بودند، که از بین آنها، 96 نمونه (69/1 درصد) حامل ژن *qnrS*، 103 نمونه (74/1 درصد)، حامل ژن *qnrB* و 8 نمونه (5/8 درصد) حامل ژن *qnrA* گزارش گردید. همچنین تعداد 9 نمونه، حامل 3 ژن *qnrA*، *qnrB* و*qnrS* بصورت همزمان بودند. مقایسه وجود ژن‌های *qnr* در سویه‌های حساس و مقاوم به کینولون‌ها نشان داد که ژن *qnrS* باعث اعطای مقاومت به سیپروفلوکساسین گردید.

نتیجه‌گیری: جلوگیری از مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها با توجه به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی ضروری می‌نماید. از آنجایی که ژن‌های مذکور در سویه‌های حساس به سیپروفلوکساسین نیز مشاهده شدند، احتمال می‌رود مکانیسم‌های دیگری از جمله ایجاد موتاسیون در ایجاد مقاومت دخیل باشند.

کلیدواژه‌ها: ادرار، ژن‌های *qnr*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، PCR، *Escherchia coli*.

وصول مقاله:94/4/3 اصلاحیه نهایی:94/5/4 پذیرش:94/5/5

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

اشریشیا کلای به عنوان یکی از مهم‌ترین اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسه از عوامل شایع ایجاد کننده‌ی عفونت های ادراری (UTI) می‌باشد (1). در واقع این باکتری، عامل حدود 90 درصد عفونت‌های ادراری در خانم‌های جوان (سیستست) است و تنها عضوی از این خانواده است که هم به عنوان پاتوژن واقعی و هم به عنوان پاتوژن فرصت طلب مطرح می‌شود. در دهه‌های گذشته آنتی بیوتیک‌هایی از قبیل آمپی‌سیلین و کوتریموکسازول برای درمان عفونت‌های ادراری ناشی از اشریشیا کلای استفاده می‌گردید ولی امروزه فلوروکینولون‌هایی از قبیل سیپروفلوکساسین جایگزین آن‌ها شده‌اند. بدلیل مصرف بیش از حد و بی رویه آنتی‌بیوتیک‌ها، مقاومت‌های دارویی چندگانه و شکست درمان در این ارگانیسم‌ها افزایش یافته و شایعترین مقاومت‌ها، تحت کنترل پلاسمیدهای قابل انتقال است (2).

کینولون‌ها، محصولات سنتتیک هستند که از نظر ساختاری مشابه بوده و مکانیسم عمل واحدی دارند. فلوروکینولون-های جدیدتر به طور انتخابی و برگشت پذیر تکثیر DNA را در باکتری‌های حساس مهار می‌نمایند ولی موتاسیون زایی قابل مشاهده‌ای نشان نمی‌دهند. این داروها، زیر واحد Aآنزیم DNA gyrase و توپوایزومراز IV را مهار نموده و تشکیل آنالوگ کمپلکس باز شدن پیچ های اضافی (Relaxation) را القاءمی‌نمایند (3).

مقاومت به کینولون ها به طور عمده به واسطه موتاسیون در زیر واحد A آنزیم DNA جیراز وابسته به کروموزوم می-باشد (4). در باکتری‌های گرم منفی، توپوایزومراز IV، یک هدف ثانویه برای کینولون‌ها است. ژن‌های *qnr* مسئول مقاومت پلاسمیدی به کینولون‌ها بوده و از اثر مهاری این آنتی بیوتیک‌ها بر آنزیم‌های DNA جیراز و توپوایزومراز IV جلوگیری می کنند (5).

از آنجایی که مقاومت پلاسمیدی به کینولون‌ها در انتروباکتریاسه بطور افزاینده‌ای گزارش شده است و شکست درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها هزینه‌های سنگینی را برای سیستم بهداشتی فراهم می‌آورد، با تعیین میزان مقاومت سویه‌های اشریشیا کلای به این آنتی‌بیوتیک از نظر اپیدمیولوژی می‌توان ضمن تجویز منطقی آنتی بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری باعث کاهش گسترش مقاومت در باکتری‌ها گردیده و در نتیجه در کاهش بار اقتصادی مؤثر واقع شد. Mandal و همکاران در سال 2010 در هندوستان، مطالعه‌ای بر روی 2761 نمونه اشریشیا کلای انجام دادند و در نهایت 73 درصد مقاوم به سیپروفلوکساسین گزارش گردید (6). فیروزه ف در سال 2012 در خرم‌آباد روی 140 نمونه‌ی جدا شده از عفونت-های دستگاه ادراری کار کردند و از 140 نمونه‌ی جدا شده-ی *E.coli* ، 63 نمونه مقاوم به سیپروفلوکساسین، جدا شده بود (7). مکانیسم‌های مقاومت متعددی از جمله جهش در ژن کد کننده آنزیم DNA gyrase و وجود ژن‌های *qnr* نیز به عنوان حفاظتی در این زمینه مؤثر هستند. با توجه به اینکه میزان مقاومت در مناطق مختلف جغرافیایی متفاوت است، هدف از این مطالعه شناخت وضعیت مقاومت به سیپروفلوکساسین در سویه‌های *E.coli* جدا شده از بیماران مراجعه کننده به 4 بیمارستان رشت و بررسی فراوانی ژن‌های *qnr*، همچنین ارتباط بین یافته‌های مولکولی و نتایج آنتی‌بیوگرام سویه‌های *E.coli* مقاوم به سیپروفلوکساسین است. به همین منظور در این تحقیق علاوه بر سویه‌های مقاوم، روی سویه‌های حساس نیز بررسی فراوانی ژن‌های *qnrS*، *qnrA* و *qnrB* صورت گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه مقطعی، حجم نمونه بر اساس مطالعات قبلی و ضریب اطمینان 95 درصد به تعداد 309 نمونه تعیین گردید. از فروردین تا شهریور سال 1393 نمونه‌های ادرار بیماران مراجعه کننده به چهار بیمارستان رشت (گلسار، رازی، رسول اکرم و پورسینا) که مبتلا به عفونت ادراری بودند در ظروف استریل جمع‌آوری گردید. کلیه اطلاعات بیماران

www.SID.ir

Archive of SID

بصورت محرمانه ثبت و نگهداری گردیده است. در این فاصله زمانی 1723 نمونه ادراری جمع‌آوری گردید.

کشت و تعیین هویت سویه ها : تمام نمونه‌های ادراری در محیط‌های بلاد آگار و EMB کشت داده شده و در 37°C به مدت 24 تا 48 ساعت انکوبه شدند. روی کلنی‌های ظاهر شده، تست‌های اکسیداز، کاتالاز و رنگ‌آمیزی گرم انجام شده و در محیط‌هایTSI ،SIM ، MRVP ، Urea، Simmon's Citrate، LIA و PAD کشت داده شدند و به مدت 24 ساعت در 37°C انکوبه گردیدند.

تست ضد میکروب کشت: خالص از باکتری‌های جدا شده که به عنوان اشریشیا کلای تعیین هویت گردیدند، بطور جداگانه روی محیط مولر هینتون آگار بصورت پر کشت داده شد و دیسک آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین (ساخت شرکت Mast انگلستان) روی پلیت با فاصله 24 میلی متر از هم و 10 میلی متر از لبه پلیت قرار داده شد و در 37°C به مدت 24 ساعت انکوبه گردید. پس از این مدت، قطر هاله عدم رشد، با خط کش اندازه‌گیری شده و نتایج بر اساس جدول استاندارد CLSI ثبت گردید.

استخراج DNAپلاسمیدی: ژن‌های *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* بر روی پلاسمید قرار دارند. برای بررسی فراوانی این ژن‌ها، کلیه پلاسمیدهای سویه‌های اشریشیا کلای با استفاده از کیت استخراج پلاسمید gene JET plasmid miniprepl Kit ساخت شرکت Fermentas استخراج گردید. بدین منظور ابتدا باکتری مورد نظر در محیط LB broth (Luria Bertani Broth) کشت داده شد و به مدت 16 ساعت در دستگاه شیکر بن ماری (دمای 37°C و تکان 130 دور در دقیقه) انکوبه گردید. سپس محتویات لوله سانتریفیوژ شد و از رسوب برای استخراج پلاسمید بر اساس پروتکل شرکت سازنده کیت استفاده گردید.

تکثیر ژنهای *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* به روش PCR: با استفاده از توالی ژن‌های *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* که از NCBI به دست آمد، پرایمرهای اختصاصی برای ژن‌های مذکور با استفاده از نرم افزار7 Oligo به منظور تکثیر آنها بصورت Multiplex طراحی و سپس Blast گردید. پرایمرهای طراحی شده در چند نرم افزار دیگر از قبیل Allele ID نیز چک گردید. توالی پرایمرهای طراحی شده جهت سنتز به شرکت Bioneer کره جنوبی سفارش داده شد (جدول 1). واکنش در حجم نهایی 25 میکرولیتر در ویال‌های Master Mix حاوی دزوکسی نوکلئوزید تری فسفات (dNTP mix)، Taq DNA Polymerase، 10X Buffer و $MgCl_2$ ساخت شرکت Bioneer کره جنوبی جهت تکثیر ژن‌های *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* به روش Multiplex PCR توسط دستگاه ترموسایکلر مدل Eppendorf Personal 5332 انجام پذیرفت (جدول 2). پرایمرهای اختصاصی، DNA استخراج شده به عنوان الگو و آب مقطر دو بار تقطیر استریل به ویال اضافه گردید. پس ازSet up نمودن واکنش، 5 نمونه از پلاسمیدهای استخراج شده به عنوان الگو جهت تکثیر سه ژن مذکور توسط PCR بکار رفتند و برای تأیید، به شرکت Bioneer کره جنوبی جهت تعیین توالی فرستاده شدند. پس از اطمینان از صحت محصولات PCR، بقیه نمونه‌ها نیز برای تکثیر مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور بررسی وجود ژن‌های *qnr*، از ژنوم *E.coli* واجد ژن *qnrB* و *qnrS* که از دپارتمان میکروبیولوژی دانشگاه پالرمو ایتالیا تهیه شده بود، استفاده گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول 1: توالی پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر ژن‌های *qnrA*، *qnrB* و *qnrS*

منطقه شناسایی	نشانه گذاری پرایمر	توالی پرایمر	اندازه محصول (جفت باز)
qnrA	*qnrA* –F	5' CCA GGA TTT GAG TGA CAG CCG TTT 3'	319
	qnrA–R	5' ACC TGA GAT NATA AGC CGA GCA GAA G 3'	
qnrB	*qnrB* -F	5' GGC GAG CAG CGA ACT TCA CA 3'	134
	qnrB–R	5' GAT GCC AAG CCG CTC CAT GA 3'	
qnrS	*qnrS*-F	5' TCA CCT TCA CCG CTT GCA CAT T 3'	219
	qnrS-R	5' AAT CAC ACG CAC GGA ACT CTA TAC C 3'	

برنامه تکثیر هر یک از ژن‌های مذکور نیز در جدول شماره 2 آورده شده است.

جدول 2: برنامه دستگاه ترموسایکلر برای تکثیر ژن‌های *qnrA*، *qnrB* و *qnrS*

سیکل	دما	مدت زمان
قبل از جدا شدن دو رشته	94°C	4 دقیقه
جدا شدن دو رشته DNA	94°C	15 ثانیه
جفت شدن پرایمرها	60°C	10 ثانیه
گسترش رشته‌های در حال ساخت	72°C	15 ثانیه
گسترش نهایی	72°C	10 دقیقه

الکتروفورز محصولات PCR: محصول PCR بر روی 2 درصد ژل آگارز حاوی DNA safe stain و در حضور DNA Ladder الکتروفورز گردید و باندها در زیر نور U.V. مشاهده شد و سایز باندها بر اساس Size marker اندازه‌گیری گردید.

Sequencing: برای تأیید اینکه باندهای مشاهده شده مربوط به ژن‌های مورد نظر می‌باشند، در ابتدا 5 نمونه از محصولات PCR جهت تعیین توالی به شرکت Bioneer کره جنوبی ارسال گردیدند و زمانی که صحت واکنش تأیید شد بقیه واکنش‌های PCR انجام گردید و پس از پایان واکنش‌های PCR، نمونه‌های باقی مانده جهت تعیین توالی به شرکت مذکور ارسال شدند.

آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS version 18 صورت گرفت.

نتایج

الگوی مقاومت به سیپروفلوکساسین سویه‌های اشریشیا کلای مورد مطالعه در جدول 3 ارائه شده است.

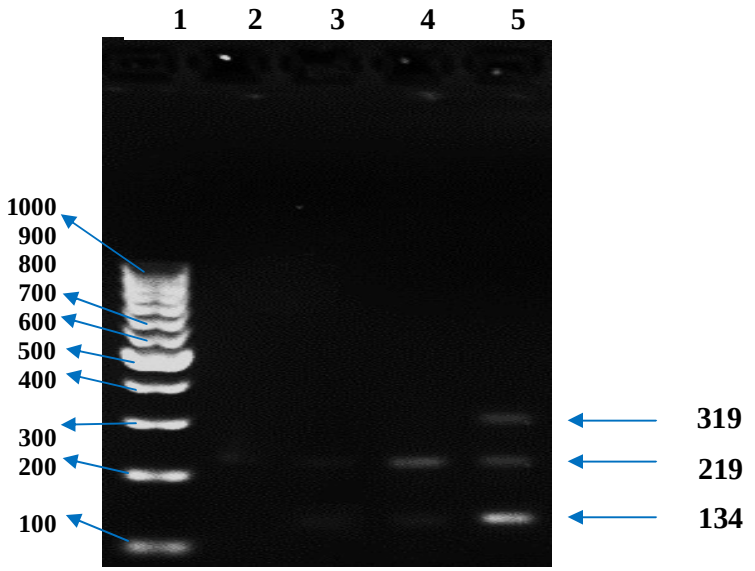
جدول 3: نتایج آنتی بیوگرام چهار آنتی بیوتیک بر روی سویه‌های اشریشیا کلای

الگوی مقاومت / آنتی بیوتیک	حساس		مقاوم		نیمه حساس	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
سیپروفلوکساسین	163	52/8	139	45	7	2/2

www.SID.ir

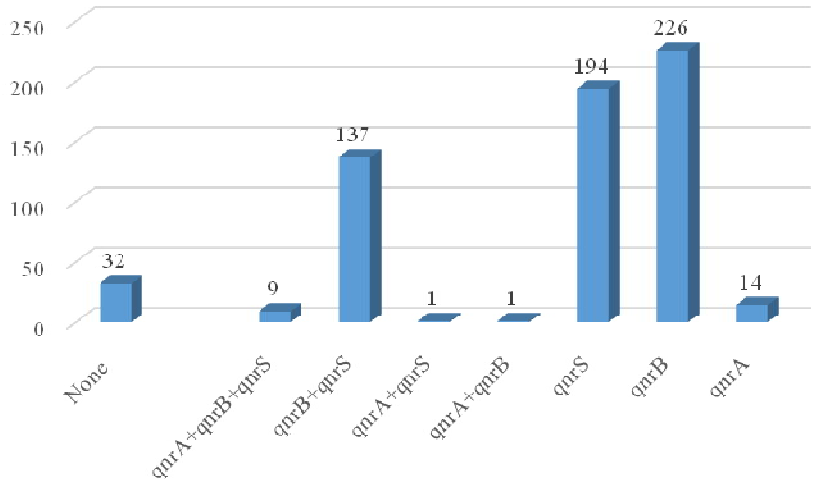
Archive of SID

تمام 309 نمونه بالینی جدا شده از نظر وجود ژن‌های *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* مورد بررسی قرار گرفتند (تصویر 1).



تصویر 1: الکتروفورز حاصل از تکثیر ژن‌های *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* در ژل آگارز به صورت Multiplex PCR: از سمت چپ به راست، ستون 1، DNA Ladder، ستون 2 و 3 مربوط به کنترل منفی، ستون 4 مربوط به ژن *qnrS*، ستون 5 مربوط به هر سه ژن

بیشترین فراوانی مربوط به ژن *qnrB* با 73/1 درصد بود. همچنین وجود بیش از یک ژن و یا عدم وجود ژن‌های مذکور نیز در سویه‌ها بررسی گردید که نتایج آنها در نمودار 1 آمده است.



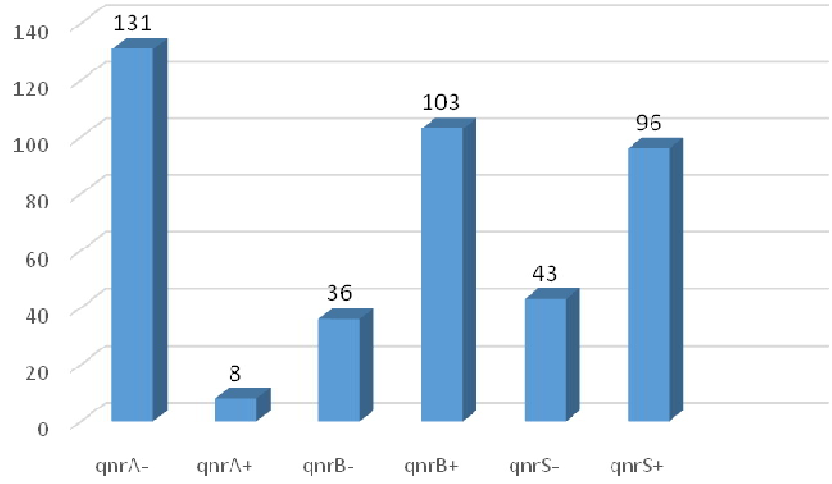
نمودار 1: فراوانی نسبی ژنهای *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* بصورت تکی و همزمان

www.SID.ir

Archive of SID

بر طبق نمودار 1، 32 سویه (10/4 درصد) از نمونه‌ها فاقد سه ژن *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* و 9 سویه (2/9 درصد) دارای هر سه ژن مذکور بودند.

در این تحقیق ارتباط بین وجود ژن‌های *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* و مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک مورد مطالعه نیز، بررسی گردید (نمودار 2).



نمودار 2: ارتباط بین وجود و یا عدم وجود سه ژن و مقاومت به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین

بدین ترتیب، بین نمونه‌هایی که دارای ژن *qnrA* بودند 5/8 درصد سویه‌ها به سیپروفلوکساسین مقاوم و 3/5 درصد سویه‌ها حساس بودند. علیرغم اینکه فراوانی ژن *qnrA* در سویه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین نسبت به سویه‌های حساس حاوی ژن مذکور بیشتر بود ولی ارتباطی بین وجود ژن *qnrA* و مقاومت به سیپروفلوکساسین وجود نداشت P>0/05. در مورد حضور ژن *qnrB* و مقاومت به آنتی-بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین نیز بررسی در بین سویه‌های حساس و مقاوم به این آنتی‌بیوتیک‌ها انجام گرفت که بین وجود این ژن و مقاومت به سیپروفلوکساسین ارتباط معنی دار مشاهده نگردید P>0/05.

همچنین بین حضور ژن *qnrS* و مقاومت به آنتی‌بیوتیک مورد مطالعه در سویه‌های حساس و مقاوم بررسی انجام گرفت و بین حضور این ژن و مقاومت به سیپروفلوکساسین ارتباط معنی داری وجود داشت P<0/05. همچنین، در سویه‌هایی که به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند فقط 7 سویه (5 درصد) دارای هر سه ژن *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* بودند ضمن اینکه 63 سویه (45/3 درصد) نیز دارای دو ژن *qnrB* و *qnrS* بطور همزمان بودند که بیشترین حضور همزمان ژن‌ها بود.

بحث

امروزه برای درمان (UTI) معمولاً از کینولون‌ها و فلوروکینولون‌ها استفاده می‌شود. بدلیل مصرف نادرست از آنتی‌بیوتیک‌ها، مقاومت‌های دارویی چندگانه در این ارگانیسم‌ها افزایش یافته و شایعترین مقاومت‌ها، تحت کنترل پلاسمیدهای قابل انتقال است (=PMQR (Plasmid Mediated Quinolone Reistance (3).

www.SID.ir

Archive of SID

در بین کینولون‌ها، سیپروفلوکساسین بیشترین تأثیر را بعنوان آنتی‌بیوتیک نسل دوم در فلوروکینولون‌ها بر ضد باکتری-های گرم منفی و گرم مثبت‌دارد. مقاومت چند دارویی در انتروباکتریاسه مانند مقاومت کینولونی یک مشکل عمده در جهان محسوب می‌شود (3).

دراین مطالعه در بین سویه‌های جدا شده، 139 نمونه (45 درصد) مقاوم به سیپروفلوکساسین بود. نتایج این تحقیق تقریباً مشابه با تحقیق جمشیدی و همکاران در تهران (8) بوده ولی میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین در تحقیق اخیر بیشتر از نتایج مطالعات Also و همکاران (9)، Moreno E و همکاران در آمریکا (10) و Mohammad Alshara و همکاران در اردن (11) و محبوبه نخعی و همکاران در مشهد (12) بود. اختلاف نتایج مطالعه بدست آمده در آمریکا با مطالعه حاضر از نظر میزان مقاومت مشاهده شده می‌تواند به دلیل وجود برنامه‌های نظارتی دقیق‌تر در آن کشور و در دسترس نبودن داروهای با اهمیت فوق باشد. هر چند در آمریکا و کانادا اکثریت سویه‌های بالینی اشریشیا کلای به فلوروکینولون‌ها حساس هستند، با این حال سویه‌های مقاوم به این آنتی‌بیوتیک‌ها در حال افزایش می‌باشند (10).

با توجه به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی انتظار می‌رود که در حوزه‌ی مورد مطالعه‌ی نخعی و همکاران (12) نیز میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین در حال حاضر، افزایش یافته باشد، زیرا نتایج مطالعه‌ی آنها مربوط به سال 1388 می‌باشد.

میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین از آنجا می‌تواند با اهمیت باشد که از آن در درمان عفونت‌های حاصل از اشریشیا کلای به عنوان آنتی‌بیوتیک انتخابی استفاده می‌شود و از اینرو درمان با این آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند منجر به شکست درمان شود. یکی از مکانیسم‌های مقاومت به فلوروکینولون‌ها، مقاومت وابسته به پلاسمید یا همان مقاومت به واسطه حضور ژن‌های *qnr* می‌باشد. در این مطالعه همچنین فراوانی ژن‌های *qnr* نیز بررسی گردید و دلیل آن گزارش‌هایی بود که نشان از ارتباط وجود این ژن-ها و مقاومت به کینولون‌ها داشت. بر این اساس، از تعداد 309 نمونه بالینی مورد بررسی 14 نمونه (4/5 درصد) دارای ژن *qnrA*، 226 نمونه (73/1 درصد) دارای *qnrB* و 194 نمونه (62/8 درصد) دارای ژن *qnrS* بودند. همچنین 1 نمونه (0/3 درصد) حاوی ژن های *qnrA* و *qnrB*، 1 نمونه (0/3 درصد) حاوی ژن های *qnrA* و *qnrS*، 137 نمونه (44/3 درصد) حاوی ژن های *qnrB* و *qnrS* و نیز 9 نمونه (2/9 درصد) حاوی ژن‌های *qnrA* و *qnrB* و *qnrS* بودند. همچنین، در 32 نمونه (10/4 درصد) هیچکدام از ژن ها مشاهده نشد.

Mariana castanheria و همکاران در سال 2006 در آمریکای لاتین (برزیل) روی 144 نمونه ی *E.coli* جدا شده کار کردند. از میان 144 نمونه ی *E.coli* جدا شده، یک نمونه (0/69 درصد) تولید کننده‌ی ژن *qnrA* بود و این اولین گزارش از وجود این ژن در آمریکای لاتین بود که پایین تر از نتیجه مطالعه‌ی حاضر بود. ولی فراوانی ژن-های *qnrB* و *qnrS* بررسی نشده بود (13). Bouchakour و همکاران در سال 2010 در مراکش مطالعه‌ای به روش Multiplex PCR بر روی 39 نمونه کلینیکی انتروباکتریاسه مولد ESBL که 16 ایزوله مربوط به اشریشیا کلای بود، انجام دادند. فراوانی ژن های *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* به ترتیب 2/56 درصد، 10/25 درصد و 23/07 درصد گزارش نمودند که به وسیله ی روش sequencing مورد تأیید قرار گرفت. این ژن‌ها در میان سویه های حساس به نالیدیکسیک اسید و سیپروفلوکساسین بود که نسبت به نتایج ما پایین‌تر گزارش شد. از آنجایی که در سویه‌های حساس به کینولون‌ها وجود ژن *qnr* نشان داده شد، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت از آنجایی که طبق گزارش‌های قبلی، این ژن‌ها اثر حفاظتی برای جلوگیری از اثر مهاری کینولون‌ها بر روی آنزیم DNA جیراز دارند، احتمالاً عوامل دیگری نیز مؤثر می‌باشند (14).

جمشیدی و همکاران در تهران نیز مطالعه‌ای برای تعیین فراوانی ژن های *qnr* بر روی 150 نمونه باکتری *E.coli*

www.SID.ir

Archive of SID

انجام دادند. این مطالعه بر اساس روش دیسک دیفیوژن انجام شد و بوسیله PCR مورد بررسی اختصاصی قرار گرفت که فراوانی ژن‌های *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* به ترتیب 31/8، 56/5 و 28/9 درصد گزارش گردید که فقط فراوانی *qnrA* نسبت به مطالعه‌ی ما بیشتر بود. ضمن اینکه فقط در سویه‌های مقاوم بررسی انجام گردیده بود (8). نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده‌ی این است که از 309 نمونه‌ی بررسی شده 139 نمونه مقاوم به سیپروفلوکساسین بودند، که از بین آنها، 96 نمونه (69/1 درصد) حامل ژن *qnrS*، 103 نمونه (74/1 درصد)، حامل ژن *qnrB* و 8 نمونه (5/8 درصد) حامل ژن *qnrA* بودند.

در این مطالعه بین وجود ژن‌های *qnr* و مقاومت به سیپروفلوکساسین نیز بررسی صورت گرفت. بدین ترتیب، بین نمونه‌هایی که دارای ژن *qnrA* بودند 5/8 درصد سویه-ها به سیپروفلوکساسین مقاوم و 3/5 درصد سویه‌ها حساس بودند. علیرغم اینکه فراوانی ژن *qnrA* در سویه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین نسبت به سویه‌های حساس حاوی ژن مذکور بیشتر بود ولی ارتباطی بین وجود ژن *qnrA* و مقاومت به سیپروفلوکساسین وجود نداشت.

نتیجه گیری

در این مطالعه مشخص گردید در برخی از سویه‌های حساس به این آنتی‌بیوتیک، ژن‌های *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* وجود داشت و از سویی دیگر برخی از سویه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین، فاقد سه ژن مزبور بودند. مطالعات قبلی ذکر نموده‌اند که سه ژن فوق‌الذکر باعث جلوگیری از اثر مهاری فلوروکینولون‌ها بر آنزیم DNA gyrase می‌شوند و در سویه‌های مقاوم وجود دارند در حالیکه در مطالعه‌ی حاضر ژن‌های *qnr* در سویه‌های حساس هم مشاهده شد که نشان می‌دهد شاید مکانیسم‌های دیگری در ایجاد مقاومت نقش داشته باشند.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات سرکار خانم نیره حاجی پور که صمیمانه در انجام این طرح همکاری نمودند تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, Michael A. Pfaller. Medical Microbiology.Elsevier Mosby.6th ed. 2009.p. 303-307.
2. Geo F. Brooks, Karen C. Karroll, Janet S. Butel, Stephen A. Morse, Timothy A. Mietzner. Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology. 26th ed. 2013.p. 233-236.
3. Albert Balous, Henry D. Isenberg. Manual of clinical microbiology, 6th ed. 2011, pages: 1099-1103.
4. Heisig P. Genetic evidence for a role of parC mutations in development of high-level fluoroquinolone resistance in Escherichia coli. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1996; 40:879-85.
5. Fu Y, Zhang W, Wang H, Zhao S, Chen Y, Meng F, et al. Specific patterns of gyrA mutations determine the resistance difference to ciprofloxacin and levofloxacin in Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli. BMC infectious diseases 2013; 13: 8-15.
6. Mandal J, Acharya NS, Buddhapriya D, Parija SC. Antibiotic resistance pattern among common bacterial uropathogens with a special reference to ciprofloxacin resistant Escherichia coli. The Indian Journal of Medical Research 2012; 136 : 842-9.
7. 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. KAUMS Journal (FEYZ). 2013; 17: 488-494.

www.SID.ir

Archive of SID

8. Jamshidi Mansouri N. Survey of ciprofloxacin resistance genes in clinical isolates of Escherichia coli and Klebsiella isolated from hospitals of Ilam and Milad hospital of Tehran. Journal of Ilam University of Medical Sciences 2013; 21: 16-22.
9. Alós JI, Serrano MG, Gómez-Garcés JL, Perianes J. Antibiotic resistance of Escherichia coli from community-acquired urinary tract infections in relation to demographic and clinical data. Clinical Microbiology and Infection 2005; 11: 199-203.
10. 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: 204-11.
11. Alshara M. Antimicrobial resistant pattern of Escherichia coli strains isolated from pediatric patients in Jordan. Acta Medica Iranica 2011; 49: 293-5.
12. Nakhaee Moghaddam M, Moshrefi S. Determine the antibiotic resistance pattern of urinary isolates of Escherichia coli and prevalence of extended spectrum betalactamases (ESBLS) among them. 2010; 16: 228-233.
13. Mariana Castanheira, Andrea S Pereira, Adriana G Nicoletti. First report of plasmid-mediated qnra1 in a ciprofloxacin-resistant escherichia coli strain in Latin America. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2007; 51: 1527–1529.
14. Bouchakour M, Zerouali K, Claude G, Perrier JD, Amarouch H, Mdaghri NE, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance in expanded spectrum beta lactamase producing enterobacteriaceae in Morocco. Journal of Infection in Developing Countries 2010;4:779-803.

www.SID.ir