Archive Of SID

فراوانی ژن‌های پلاسمیدی *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* و تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی در ایزوله‌های اشرشیاکلی مقاوم به کینولون و فلوروکینولون جدا شده از نمونه‌های بالینی کرمان

امین نوروزی: کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران. micro_arman@yahoo.com
حسین حسینی نوه: دانشجوی دکتری باکتری شناسی، گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.
microbiology.kerman@gmail.com
سمانه محبی: کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران. sama.mhb@gmail.com
محمدرضا کنده کار قهرمان: دانشجوی دکتری باکتری شناسی، گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.
mamad_s47@yahoo.com
* **مجید طاعتی مقدم:** کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران (* نویسنده مسئول).
majidtaati1367@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: پلاسمیدهای ایجاد کننده مقاومت به کینولون و فلوروکینولون یکی از مشکلات درمان می‌باشند که در ایزوله‌های اشرشیاکلی در سرتاسر جهان در حال افزایش هستند. هدف از این مطالعه فراوانی ژن‌های پلاسمیدی *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* ایجادکننده مقاومت به کینولون‌ها و تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی در ایزوله‌های اشرشیاکلی جدا شده از نمونه‌های بالینی کرمان بود.

روش کار: در این مطالعه، ۸۰ ایزوله اشرشیاکلی از ادرار، خون و زخم از بیمارستان‌های کرمان جدا سازی شد. سپس آنتی بیوگرام به روش دیسک دیفیوژن انجام شد. شناسایی ژن *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* توسط واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) صورت گرفت.، آنالیز اطلاعات توسط SPSS-22 ارزیابی شد.

یافته‌ها: موثرترین آنتی بیوتیک علیه ایزوله‌های اشرشیاکلی ایمی پنم بود که ۷۵ ایزوله (۹۳/۷٪) به آن حساس بودند. ۵۸ ایزوله (۷۲/۵٪) به آمپی سیلین مقاوم بودند که بیشتر از سایر آنتی بیوتیک‌ها بود. ۳۳ ایزوله (۴۱/۲٪) و ۱۵ ایزوله (۱۸/۷٪) از ۸۰ ایزوله اشرشیاکلی به ترتیب مقاوم به نالیدیکسیک اسید و سیپروفلوکساسین بودند. شناسایی ژن‌های *qnr* نشان داد که ۵ ایزوله (۶/۲٪) دارای *qnrS* و یک ایزوله (۱/۲٪) دارای *qnrB* بودند. در هیچکدام از ایزوله‌ها *qnrA* وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: به دلیل الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی که در نقاط مختلف جغرافیایی وجود وجود دارد، درمان آنتی بیوتیکی در نقاط مختلف براساس درمان تجربی می‌باشد؛ بنابراین، تجویز صحیح آنتی بیوتیک می‌تواند از گسترش مقاومت توسط باکتری‌های ناقل ژن *qnr* در آینده جلوگیری کند.

کلیدواژه‌ها: اشرشیاکلی، مقاومت به کینولون،PCR

مقدمه

اشرشیاکلی شایع‌ترین عامل عفونت ادراری در بیماران سرپایی و بستری شده در بیمارستان می‌باشد. کینولون‌ها آنتی‌بیوتیک‌های وسیع الطیف صناعی هستند که همراه با فلوروکینولون‌ها به عنوان اولین خط درمان تجربی عفونت های ادراری ناشی از باسیل‌های گرم منفی کاربرد کلینیکی دارند. در این میان سیپروفلوکساسین شایع‌ترین فلوروکینولونی است که تجویز می شود زیرا تاثیر بالایی علیه پاتوژن‌های ایجاد کننده عفونت ادراری دارد (۱). کینولون‌هایی مثل نالیدیکسیک اسید و فلوروکینولون‌هایی مثل سیپروفلوکساسین از طریق اتصال به آنزیم‌های توپوایزومراز IV و DNA ژیراز، همانندسازی DNA را مهار می‌کند، اما به دلیل استفاده زیاد و نادرست، مقاومت نسبت به آن‌ها همانند دیگر عوامل ضد میکروبی پدیدار شده است و روز به روز میزان مقاومت نسبت به این داروها در حال افزایش می باشد (۵-۲).

مقاومت به فلوروکینولون‌ها در باکتریهای گرم منفی از سه طریق عمده ایجاد میشود. مکانیسم اول به دلیل جهش در ژن‌های هدف فلوروکینولون‌ها که شامل ژن‌های *gyrA* و *gyrB* (کد کننده زیرواحدهای DNA ژیراز) و ژن‌های *parC* و *parE* (کد کننده زیرواحدهای

www.SID.ir

Archive Of SID

توپوایزومراز IV) ایجاد می‌شود. این جهش‌ها عمدتاً در نواحی از این ژن‌ها که تحت عنوان Quinolone resistance determining regions (QRDRs) نامیده می‌شوند اتفاق می افتد. مکانیسم دوم از طریق پمپ‌های افلاکس (Efflux pumps) می‌باشد که در ایجاد مقاومت به دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها نیز دخیل هستند (۶). مکانیسم دیگر مقاومت به کینولونها به صورت پلاسمیدی (Plasmid-Mediated Quinolone Resistance PMQR) می‌باشد (۷).

ژن‌های *qnr* جزء عوامل مقاومت کینولونی وابسته به پلاسمید (PMQR) هستند که به دلیل قرارگیری بر روی اینتگرون های مختلف باعث گسترش بسیار سریع مقاومت در باکتری های خانواده انتروباکتریاسه می شود (۸). به طوری که طی سال های اخیر مقاومت سطح بالایی به داروهای با اهمیت نظیر فلوروکینولون و کینولون‌ها توسط ژن‌های وابسته به پلاسمید *qnr* بروز نموده و درمان عفونت های ذکر شده را بسیار پیچیده نموده است (۹،۱۰).

هدف از این مطالعه بررسی فراوانی ژن های *qnr* ایجاد کننده مقاومت به کینولون و فلوروکینولون در ایزوله‌های اشرشیاکلی جدا شده از نمونه‌های بالینی می باشد.

روش کار

جمع آوری نمونه و شناسایی باکتری: ایزوله‌های اشرشیاکلی طی مدت ۴ ماه از بیمارستان‌های افضلی پور، شفا شهر کرمان از نمونه های بالینی جداسازی شد و به بخش میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه کرمان انتقال داده شد و سپس با توجه به روش های استاندارد تشخیصی و بیوشیمیایی شامل TSI، SIM، MR-VP، سیترات و اوره شناسایی گردیدند.

تست تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی: الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های جداشده به با پیروی از دستورالعمل CLSI (Clinical and laboratory standard institute) و با استفاده از روش دیسک دیفیوژن انجام شد و آنتی بیوتیک های مورد استفاده شامل دیسک های ایمی پنم (۱۰µg)، سفتازیدیم (۳۰µg)، جنتامایسین (۱۰µg)، نالیدیکسیک اسید (۳۰µg)، کوتریموکسازول (۱,۲۵/۲۳,۷۵µg)، سفتریاکسون (۳۰µg)، سفوتاکسیم (۳۰µg)، آمپی سیلین (۱۰µg)، آمیکاسین (۳۰µg) و سیپروفلوکساسین (۵µg) بودند که از شرکت Himedia هند خریداری شد.

PCR جهت شناسایی ژن های *qnrA*، *qnrB* و *qnrS*: با استفاده از روش جوشاندن DNA ایزوله‌های اشرشیاکلی جداسازی شد که در این روش مقداری از کلنی های باکتری اشرشیاکلی را به داخل یک اپندورف حاوی ۱ میلی لیتر آب مقطر انتقال داده شد و سپس اپندورف حاوی سوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار گرفت و بعد از آن در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۷ دقیقه سانتریفیوژ شد، محلول رویی حاوی DNA مورد نظر بوده که جهت انجام PCR استفاده گردید. در این روش با استفاده از کیت Master mix (شرکت آمپیکون دانمارک) PCR را انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده و همچنین اندازه باندهای محصولات بر روی ژل الکتروفورز بر اساس رفرنس در جدول ۱ ذکر گردیده است. جهت انجام PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر در لوله های اپندروف از مخلوط کردن ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس، ۳ میکرولیتر از DNA باکتری، ۱۰ pmol از پرایمر مورد نظر و حجم مناسبی از آب مقطر استریل استفاده شد و همچنین واکنش PCR طبق برنامه جدول شماره ۲ انجام گردید (۱۱). پس از انجام آزمایش PCR محصولات PCR را در ژل ۱/۵٪ در TBE بافر به مدت ۶۰ دقیقه در ولتاژ ۹۰ الکتروفورز کردیم. برای رنگ آمیزی ژل، آن را به مدت ۱۵ دقیقه در تانک حاوی اتیدیوم بروماید قرار داده شد و سپس نتایج توسط دستگاه Geldocument (UVITEC Cambridge کشور فرانسه) مشاهده شدند. از سویه کلبسیلاپنومونیه تایید شده حاوی ژن *qnr* به عنوان کنترل مثبت ژن های *qnr* استفاده شد و همچنین از سویه اشرشیا کلی ATCC 25922 به عنوان سویه کنترل منفی در این مطالعه استفاده

www.SID.ir

Archive Of SID

جدول ۱- توالی پرایمر ها دمای آنیلینگ و محل قرار گیری ژن ها بر روی ژل آگاروز

ژن	توالی پرایمر	محصول باند (bp)	Tm (ċ)	رفرنس
qnrA	R: ATTTCTCACGCCAGGATTTG	۶۲۷	۵۳	۱۱
	F: GATCGGCAAAGGTTAGGTCA			
qnrB	F: GATCGTGAAAGCCAGAAAGG	۵۶۲	۵۳	۱۱
	R: ACGATGCCTGGTAGTTGTCC			
qnrS	F: AGT GAT CTC ACC TTC ACC GC	۵۵۰	۵۳	۱۱
	R: CAG GCT GCA ATT TTG ATA CC			

جدول ۲- شرایط نهایی مطلوب برای دستیابی به بهترین نتیجه PCR

Amplification Condition			Temperature (ºC)	Time (s)
	Initial denaturation		95	300
	Denaturation		95	35
Cycle number : 30	Annealing	*qnrA*	53	
		qnrB	53	
		qnrS	53	40
	Extension		72	40
	Final Extension		72	300

شد.

پس از جمع آوری داده ها، اطلاعات مربوط به هر ایزوله باکتری را وارد نرم افزار SPSS-22 شد و با استفاده از آزمون آماری Chi-square رابطه ی بین اطلاعات را آنالیز شد. سطح معناداری، کمتر از ۰/۰۵ در نظرگرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه ۸۰ ایزوله اشرشیاکلی که ۵۴ ایزوله (۶۷/۵٪) از خانم ها و ۲۶ ایزوله (۳۲/۵٪) از آقایان جدا سازی شد. ۷۰ (۸۷/۵٪) ایزوله از بیماران مبتلا به عفونت ادراری و میزان ایزوله جداسازی شده از خون، زخم و برونش به ترتیب ۲ (۲/۵٪)، ۳ (۳/۷٪) و ۵ (۶/۲٪) بودند. از ۷۰ ایزوله ۴۸ ایزوله ها (۶۸/۵٪) از خانم ها و ۲۲ ایزوله (۳۱/۴٪) از آقایان جداسازی شد. از ۲ ایزوله جدا شده از خون ۱ ایزوله (۵۰٪) از خانم ها و ۱ ایزوله (۵۰٪) از آقایان، از ۳ ایزوله جدا شده از زخم ۲ ایزوله (۶۶/۶٪) از خانم ها و ۱ ایزوله (۳۳/۳٪) از آقایان، از ۵ ایزوله جدا شده از برونش ۳ ایزوله (۶۰٪) از خانم ها و ۲ ایزوله (۴۰٪) از آقایان جداسازی شد. در نهایت ایزوله های جداسازی شده عفونت ادراری، زخم و برونش در خانم ها بیشتر از آقایان بود.

با توجه به نتایج به دست آمده از آنتی بیوگرام بیشترین مقاومت نسبت به آمپی سیلین که در ۵۸ ایزوله (۷۲/۵٪) وجود داشت و همچنین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های کوتریموکسازول ۵۱ ایزوله (۶۳/۷٪)، نالیدیسیک اسید ۳۳ ایزوله (۴۱/۲٪)، سفوتاکسیم ۳۲ ایزوله (۴۰٪)، سفتریاکسون ۳۳ ایزوله (۴۱/۲٪) در سطح قابل توجهی بود. کمترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ایمی پنم که در ۳ ایزوله (۳/۷٪) مشاهده شد که این آنتی بیوتیک موثرترین آنتی بیوتیک علیه گونه های اشرشیاکلی می باشد. حساسیت نسبت به آنتی بیوتیک های آمیکاسین ۶۸/۲٪، جنتامایسین ۸۳/۷٪ و سفوتاکسیم ۶۰٪ نیز در سطح بالای بود که نشان دهنده اثر بخشی بالای این آنتی بیوتیک ها است. مقاومت به کینولون (نالیدیسیک اسید) و فلوروکینولون (سیپروفلوکساسین) به ترتیب ۳۳ ایزوله (۴۱/۲٪) و ۱۵ ایزوله (۱۸/۷٪) مشاهده شد این در حالی است که ایزوله های اشرشیاکلی به سیپروفلوکساسین ۲۳/۷٪ بیشتر از سایر آنتی بیوتیک ها نیمه حساس بودند که این میزان مقاومت بسیار نگران کننده است. همچنین نتایج آنتی بیوگرام نشان می دهد که ۳۶ ایزوله (۴۵٪) اشرشیاکلی حداقل به سه خانواده آنتی بیوتیکی

www.SID.ir

Archive Of SID

جدول ۳- درصد مقاومت به آنتی بیوتیک در ایزوله های اشرشیاکلی

آنتی بیوتیک	ایزوله های دارای qnr	کل ایزوله ها		
		حساس	نیمه حساس	مقاوم
ایمی پنم	٪ ۴۰	٪ ۹۳/۷	٪ ۲/۵	٪ ۳/۷
آمیکاسین	٪ ۰	٪ ۸۶/۲	٪ ۸/۷	٪ ۵
آمپی سیلین	٪ ۱۰۰	٪ ۲۵	٪ ۲/۵	٪ ۷۲/۵
سیپروفلوکساسین	٪ ۶۰	٪ ۵۷/۵	٪ ۲۳/۷	٪ ۱۸/۷
جنتامایسین	٪ ۰	٪ ۸۳/۷	٪ ۲/۵	٪ ۱۳/۷
سفتریاکسون	٪ ۸۰	٪ ۵۷/۵	٪ ۱/۲	٪ ۴۱/۲
سفتازیدیم	٪ ۱۰۰	٪ ۵۸/۷	٪ ۶/۲	٪ ۳۵
نالیدیکسیک اسید	٪ ۸۰	٪ ۵۷/۵	٪ ۲/۵	٪ ۴۱/۲
سفوتاکسیم	٪ ۱۰۰	٪ ۶۰	٪ ۰	٪ ۴۰
کوتریموکسازول	٪ ۱۰۰	٪ ۳۲/۵	٪ ۳/۷	٪ ۶۳/۷

مقاوم (Multi Drug Resistance) بودند. جدول ۳ جزئیات به دست آمده از نتایج آنتی بیوگرام را نشان می دهد.

بررسی فراوانی ژن های *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* نشان داد که از ۸۰ ایزوله اشرشیاکلی ۵ ایزوله (٪۶/۲) دارای ژن *qnrS* بودند که هر ۵ ایزوله مذکور از عفونت ادراری جداسازی شده بود و تنها ۱ ایزوله (٪۱/۲) از مجموع ۸۰ ایزوله دارای ژن *qnrB* بود و هیچکدام از ایزوله ها دارای ژن *qnrA* نبودند. ۱ ایزوله هم دارای *qnrB* و هم ژن *qnrS* بود.

با توجه به جدول ۲، از ۵ ایزوله ای که دارای ژن *qnr* بودند ۳ (٪۶۰) ایزوله به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند و ۲ (٪۴۰) ایزوله نیمه حساس بودند و ۴ ایزوله (٪۸۰) مقاوم به نالیدیکسیک اسید بودند و یک (٪۲۰) ایزوله نیمه حساس به نالیدیکسیک اسید بود. حساسیت ایزوله های دارای ژن *qnr* به آمینو گلیکوزید ها نظیر جنتامایسین و آمیکاسین ۱۰۰٪ بود ولی این ایزوله ها مقاومت ۱۰۰٪ به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین، سفتازیدیم، کوتریموکسازول و سفوتاکسیم از خود نشان دادند. مقاومت به ایمی پنم در ایزوله های دارای ژن *qnr* بالاتر از ایزوله‌های فاقد این ژن بود که ۲ (٪۴۰) ایزوله از ۵ ایزوله تولید کننده این ژن به ایمی پنم مقاوم بودند.

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه بیشترین مقاومت نسبت به آمپی سیلین (٪۷۲/۵) وجود داشت کمترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ایمی پنم (٪۳/۷) مشاهده شد و همچنین حساسیت نسبت به آنتی بیوتیک های آمیکاسین (٪۶۸/۲)، جنتامایسین (٪۸۳/۷) و سفوتاکسیم (٪۶۰) نیز در سطح بالای بود. مقاومت به کینولون (نالیدیسیک اسید) و فلوروکینولون (سیپروفلوکساسین) به ترتیب (٪۴۱/۲) و (٪۱۸/۷) مشاهده شد. در مطالعه ای که توسط Mehrgan و همکاران در تهران انجام شد این محققین گزارش کردند که موثرترین آنتی بیوتیک علیه ایزوله‌های اشرشیاکلی ایمی پنم می باشد و ٪۲۳/۹ از ایزوله‌ها مقاوم به سیپروفلوکساسین بودند که این نتایج مشابه نتایج بدست آمده از این مطالعه می باشد (۱۱)؛ و همچنین در مطالعه ای که توسط Hassan و همکاران در پاکستان انجام شد این محققین نیز بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی بیوتیک آمپی سیلین و بیشترین حساسیت را نسبت به آنتی بیوتک ایمی پنم گزارش کردند (۱۲). در مطالعه ای در سال ۲۰۱۴ توسط Firoozeh و همکاران انجام شد ٪۸۲/۸ از ایزوله های اشرشیاکلی به نالیدیسیک اسید و ٪۴۵ از ایزوله ها مقاوم به سیپروفلوکساسین هستند که این میزان مقاومت بیشتر از نتایج به دست آمده از این مطالعه است (۱۳). در تهران نیز مطالعه ای

www.SID.ir

Archive Of SID

توسط Nakhjavani و همکاران در سال ۲۰۰۷ انجام شد که این محققین مقاومت به نالیدیسیک اسید و سیپرو فلوکساسین را به ترتیب ۴۹/۳٪ و ۴۱/۴٪ اعلام کردند و همچنین در سال ۲۰۱۴ در تبریز Shams و همکاران مقاومت به نالیدیسیک اسید (۵۴/۹٪) و سیپروفلوکساسین (۴۰/۸٪) گزارش کردند که در دو مطالعه مقاومت به نالیدیکسیک اسید مشابه با نتایج بدست آمده از این مطالعه است (۱۴، ۱)؛ اما در مطالعه ای که توسط Mostafa و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مصر انجام شد مقاومت به سیپروفلوکساسین ۲۰٪ ولی مقاومت به نالیدیکسیک اسید ۸۰٪ گزارش شد که مقاومت ایزوله های اشرشیاکلی در این گزارش مشابه با نتایج به دست آمده از این مطالعه است (۱۵). نتایج آنتی بیوگرام نشان می دهد که الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله های اشرشیاکلی در برخی نقاط مشابه به هم و در برخی نقاط با هم متفاوت می باشد و این شاید بر اساس الگوی آنتی بیوتیکی مصرفی می باشد که توسط پزشکان تجویز می شود.

نتایج آنتی بیوگرام نشان می‌دهد که ۳۶ ایزوله (۴۵٪) اشرشیاکلی MDR بودند. در مطالعه ای که توسط Rezaee و همکاران در تبریز انجام شد ۸۴/۲٪ از ایزوله های اشرشیا کلی MDR بودن که این میزان فراوانی ایزوله های MDR بسیار بالاتر از نتایج بدست آمده از این مطالعه می باشد (۱۶)؛ اما در مطالعه ای که توسط Ho و همکاران در مالزی انجام شد ۴۶٪ از ایزوله های اشرشیاکلی دارای مقاومت MDR بودند که این میزان از فراوانی مشابه با نتایج بدست آمده از این مطالعه است (۱۷).

در این مطالعه فراوانی ژن های *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* نشان داد که از ۸۰ ایزوله اشرشیاکلی ۵ ایزوله (۶/۲٪) دارای ژن *qnrS* بودند که هر ۵ ایزوله مذکور از عفونت اداری جداسازی شده بود و تنها یک ایزوله (۱/۲٪) از مجموع ۸۰ ایزوله دارای ژن *qnrB* بود.

مطالعات مختلفی در ایران و سایر نقاط جهان در زمینه فراوانی ژن های *qnr* و ایجاد مقاومت به کینولون ها و فلوروکینولون ها انجام شده که تمامی این مطالعات فراوانی ژن های *qnr* را در سطح پایینی گزارش کرده اند که دلیل احتمالی فراوانی پایین این ژن ها را می توان استفاده کم این آنتی بیوتیک ها در بالین دانست در مطالعه ای Firoozeh و همکاران فراوانی *qnrA* و *qnrB* به ترتیب ۲۲/۲٪ و ۱۴/۳٪ گزارش شد (۱۳). در مطالعه Shams و همکاران تنها ۳/۲٪ درصد از ایزوله هایی که به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند دارای ژن *qnrA* بودند (۱۴). در مطالعه ای که توسط Yue و همکاران در چین انجام شد ۱۴ ایزوله (۶٪) اشرشیاکلی دارای ژن *qnr* بودند که تنها یک ایزوله دارای *qnrB*، ۱۳ ایزوله دارای *qnrS* بودند و هیچکدام از ایزوله های دارای ژن *qnrA* نبودند (۱۸). در مطالعه ای دیگری که در چین توسط Wang و همکاران انجام شد ۷/۷٪ از ایزوله های جداشده از بیمارستان شانگ های دارای ژن *qnr* بودند (۱۹). در مطالعه ای که در مصر توسط Mostafa و همکاران انجام شد ۶ ایزوله (۳۰٪) دارای ژن *qnr* بودند که از میان ۵ ایزوله دارای *qnrS* و فقط یک ایزوله دارای *qnrB* بود (۱۵). در مطالعه ای که در برزیل توسط و همکاران انجام شد تنها یک ایزوله از ۱۴۴ ایزوله اشرشیاکلی دارای ژن *qnr* بودند که همانند این مطالعه و تمام مطالعات فوق فراوانی پایین ژن *qnr* را نشان می دهد (۲۰). با توجه به مطالعات فوق، اگرچه که فراوانی ژن های *qnr* در ایزوله های اشرشیاکلی در سطح پایین گزارش شده است اما این ژن ها می توانند به راحتی از طریق پلاسمید به باکتری های دیگر منتقل شوند و همراه با جهش‌های کروموزمی باعث مقاومت سطح بالا به آنتی بیوتیک های حیاتی چون فلوروکینولون و کینولون شوند (۲۱). از محدودیت های دیگر این طرح می توان به آنالیز اطلاعات و ساده نمودن اطلاعات پیچیده و مبهم اشاره نمود.

فراوانی ایزوله های MDR و ایزوله های حمل کننده *qnr* پلاسمیدی در اشرشیاکلی جداشده از نمونه های بالینی نشان می دهد که به کار گیری سیاست ها جهت کنترل عفونت های ناشی از این باکتری ها بسیار با اهمیت است. همچنین به دلیل مصرف بی رویه کینولون ها و فلوروکینولون ها،

www.SID.ir

Archive Of SID

ظهور این عوامل بیماریزا باعث مشکلات فراوان در درمان و ایجاد عفونت های مقاوم قابـل انتقـال در میان باکتری ها شده است، بنابراین آزمایشگاه‌های میکروبشناسی تشخیصی باید تکنیک های مناسبی برای شناسایی این عوامل بیماریزا داشته باشند. در نهایت پیشنهاد میشود با انجام مطالعات مولکولی و اپیدمیولوژی در زمینه فراوانی ایزوله های MDR و شناسایی ایزوله های حمل کننده *qnr* پلاسـمیدی تا حدودی بتوان از عـوارض ایـن عوامـل بیمـاریزا جلوگیری نمود.

تقدیر و تشکر

در این مطالعه مراتب قدردانی و تشکر خود را از کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشـکی کرمـان بـه دلیـل حمایـت مـالی و اجرایـی اعـلام می‌داریم.

منابع

1. Nakhjavani F, Mirsalehian A, Hamidian M, Kazemi B, Mirafshar M, Jabalameli F. Antimicrobial susceptibility testing for Escherichia coli strains to fluoroquinolones, in urinary tract infections. Iran J Public Health; 2007. 36(1):89-92.

2. Taneja N. Changing epidemiology of shigellosis and emergence of ciprofloxacin-resistant Shigellae in India. J Clin Microbiol; 2007. 45(2):678-9.

3. Khan E, Jabeen K, Ejaz M, Siddiqui J, Shezad MF, Zafar A. Trends in antimicrobial resistance in Shigella species in Karachi, Pakistan. J Infect Dev Ctries; 2009. 3(10):798-802.

4. Tiruneh M. Serodiversity and antimicrobial resistance pattern of Shigella isolates at Gondar University teaching hospital, Northwest Ethiopia. Jpn J Infect Dis; 2009. 62(2):93.

5. Behringer MG. The Effect of Mutations in Type II Topoisomerases on Fluoroquinolone Resistance in Clinical Canine Urine Escherichia coli Isolates: Auburn University; 2011.

6. Karl D, Xilin Z. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolone. Microbiol Mol Biol Rev; 1997. 61:377-92.

7. Kim JY, Kim SH, Jeon SM, Park MS, Rhie HG, Lee BK. Resistance to fluoroquinolones by the combination of target site mutations and enhanced expression of genes for efflux pumps in Shigella flexneri and Shigella sonnei strains isolated in Korea. Clin Microbiol Infect; 2008. 14(8):76.

8. Ito CA GA, Tognim MC, Munerato P, LM DC. Quinolone-resistant clinical Escherchia coli. Braz J Infect Dis; 2008. 12(1):5-9.

9. Wada K, Kariyama R, Mitsuhata R, Uehara S, Watanabe T, Monden K, et al. Experimental and clinical studies on fluoroquinolone-insusceptible Escherichia coli isolated from patients with urinary tract infections from 1994 to 2007. Acta Med Okayama; 2009. 63(5):263-72.

10. Wang H, Dzink-Fox JL, Chen M, Levy SB. Genetic Characterization of Highly Fluoroquinolone-Resistant Clinical Escherichia coli Strains from China: Role ofacrR Mutations. Antimicrob Agents Chemother; 2001. 45(5):1515-21.

11. Mehrgan H, Rahbar M. Prevalence of extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli in a tertiary care hospital in Tehran, Iran. Int J Antimicrob Agents; 2008. 31(2):147-51.

12. Hassan SA, Jamal SA, Kamal M. Occurrence of multidrug resistant and ESBL producing E. coli causing urinary tract infections. J Basic Appl Sci; 2011. 7(1):39-43.

13. 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(07):818-22.

14. Shams F, Hasani A, Pormohammad A, Rezaee MA, Reza M, Nahaie AH, et al. qnrA implicated quinolone resistance in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae clinical isolates from a University Teaching Hospital. Life Sci J; 2014. 11(12s):1032-1035.

15. Mostafa A, Nasef SA, El-Hariri M, Refai M. Detection of Plasmid-Mediated Quinolone and β-lactam Resistant Genes in Escherichia coli Isolates from Diseased Poultry in Egypt. Int J; 2014. 2(5):758-69.

16. Rezaee MA, Sheikhalizadeh V, Hasani A. Detection of integrons among multi-drug resistant (MDR) Escherichia coli strains isolated from clinical specimens in northern west of Iran. Braz J Microbiol; 2011. 42(4):1308-13.

17. Ho WS, Balan G, Puthucheary S, Kong BH, Lim KT, Tan LK, et al. Prevalence and characterization of multidrug-resistant and extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli from pediatric wards of a Malaysian hospital. Microb Drug Resist; 2012. 18(4):408-16.

18. Yue L, Jiang HX, Liao XP, Liu JH, Li SJ, Chen XY, et al. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance qnr genes in poultry and swine clinical isolates of Escherichia coli. Vet Microbiol; 2008. 132(3):414-20.

19. Wang M, Tran JH, Jacoby GA, Zhang Y, Wang F, Hooper DC. Plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of Escherichia coli from Shanghai, China. Antimicrob Agents Chemother; 2003. 47(7):2242-8.

www.SID.ir

Archive Of SID

20. Pereira AS, Andrade SS, Monteiro J, Sader HS, Pignatari AC, Gales AC. Evaluation of the susceptibility profiles, genetic similarity and presence of qnr gene in Escherichia coli resistant to ciprofloxacin isolated in Brazilian hospitals. Braz J Infect Dis; 2007. 11(1):40-3.

21. Jiang Y, Zhou Z, Qian Y, et al. Plasmid mediated quinolone resistance determinants qnr and aac(6)-Ib-cr in extended- spectrum -lactamase producing Escherichia coli and Klebsiella pneumonia in China. J Anti Micro Chemo; 2008. 61:1003–6.

www.SID.ir

Archive Of SID

Original Article http://rjms.iums.ac.ir

Frequency of plasmid-mediated *qnrA, qnrB,* and *qnrS* genes and determination of antibiotic susceptibility among quinolones and fluoroquinolones resistance *Escherichia coli* isolated from Kerman hospitals

Amin Norouzi, MSc of Microbiology, Kerman Medical Students Research Committee, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
Hossien Hossieni Nave, PhD student of Microbiology, Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical sciences, Kerman, Iran.
Samane Mohebi, MSc of Microbiology, Kerman Medical Students Research Committee, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
Mohammadreza Kanehkar Gharaman, PhD student of Microbiology, Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical sciences, Kerman, Iran.
***Majid Taati Moghadam**, MSsc of Microbiology, Kerman Medical Students Research Committee, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran (*Corresponding author). majidtaati1367@yahoo.com

Abstract

Background: Plasmid-mediated quinolone resistance, which complicates treatment, has been increasingly identified in *Escherichia coli* isolates worldwide. The purpose of this study was to investigate the frequency of plasmid-mediated *qnrA, qnrB,* and *qnrS* genes among quinolones resistant *E.coli* isolated from Kerman hospitals, Iran.

Methods: In the current study, 80 *E. coli* isolates were collected from urine, blood, and wound from Kerman hospitals. Then antibiotic susceptibility test was carried out by using disc diffusion method. Detection of *qnrA, qnrB, and qnrS genes* were carried out by polymerase chain reaction. Data were evaluated through SPSS v.22.

Results: Effective antibiotic against *E. coli* isolates was imipenem (93.7%) but 58 isolates (72.5%) were resistance to ampicillin which more than others antibiotics. 33 (41.2%) and 15 (18.7%) of 80 *Escherichia coli* isolates were nalidixic acid and ciprofloxacin-resistant, respectively. Detection of *qnr* genes demonstrated that 5 (6.2%) isolates were observed *qnrS* and one (1.2%) were identified *qnrA* genes isolates. No *qnrA* gene was identified in our study.

Conclusion: Because of different antibiotic resistance patterns in various geographical regions, antimicrobial treatment should be based on local experience. Therefore, prescribing correct antibiotics can prevent the extension of antibiotic resistance through *qnr* borne bacteria in the future.

Keywords: *E. coli,* quinolone resistance, PCR

www.SID.ir