فعالیت آزمایشگاهی جمی فلوکساسین برعلیه اشرشیا کولی مقاوم به لووفلوکساسین و سیپروفلوکساسین دارای DNA gyrase جداشده از بیماران بستری در بخش مراقبت های ویژه

لیلا فزونی*[1]، مهدی خسروی[2]، حمیدرضا پردلی[1]، رضا مکرم[3]

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

دریافت مقاله: مهر نود و هفت پذیرش برای چاپ: آذر نود و هفت

چکیده

زمینه و هدف :اورتریت عفونتی شایع در بیمارستان می باشدکه امروزه درمان آن به واسطه افزایش شیوع باکتری های های مقاوم به دارو با مشکل مواجه شده است . هدف از این مطالعه تعیین الگوی مقاومت به جمی فلوکساسین در سویه های *اشرشیاکولای* مقاوم به فلوروکینولون ها واجد DNA ژیراز جداشده 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 مهاری سیپروفلوکساسین ، لووفلوکساسین و جمی فلوکساسین از روش میکرودایلوشن براث استفاده شد . با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) با پرایمرهای اختصاصی ، ژن مقاومت فلوروکینولونی (gyrA) شناسایی گردید.

یافته ها: فراوانی جدایه های *ای.کولای* مقاوم به سیپروفلوکساسین35/2٪ بود. 87/3٪ سویه ها به جمی فلوکساسین حساس بودند در حالیکه53/5٪ و 46/5٪ جدایه ها به ترتیب درطبقه بندی حساس به سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین قرار گرفتند. حداقل غلظت مهاری جمی فلوکساسین که رشد90٪ جدایه هارا مهار کرد 0/5 میکروگرم در میلی لیتر بودکه هشت برابر کمتر ازلووفلوکساسین و سیپروفلوکساسین بود. بررسی واکنش زنجیره ای پلیمراز بر روی جدایه های مقاوم به جمی فلوکساسین ، موتاسیون درکدن سرین 83 ژن gyrA را تاییدکرد.

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

واژگان کلیدی : اشرشیاکولی ، عفونت ادراری ، جمی فلوکساسین ، 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 *اشرشیاکولی* 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 اساسی‌ترین مشکلات قابل توجه سازمان بهداشت جهانی افزایش شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی در عوامل بیماری زا می‌باشد.کینولون ها از داروهای

ضدباکتریایی مهمی هستند که برای درمان عفونت‌های مختلف بالینی استفاده می‌شوند. این آنتی بیوتیک‌ها ابتدا توسط جورج لشرو همکاران معرفی شدند ولی به علت استفاده بیش از حد،میزان مقاومت های باکتریایی نسبت به این داروها از دهه1990 روندی رو به افزایش داشته است(2). اوایل دهه 1980 هم زمان با معرفی نسل دوم کینولون‌ها، نقش مهم آن‌ها جهت فعالیت‌مؤثر علیه آنزیم DNA gyrase ، نفوذ بهتر به درون باکتری‌ها و خصوصیات دارویی بهتر آشکارتر شد. مهم‌ترین تغییرات ،تغییر در اسکلت اصلی کینولون بود .در واقع جایگزین کردن فلورین در موقعیت شماره 6 کینولون منجر به تولید فلوروکینولون‌ها شد که با معرفی نورفلوکساسین در سال 1986و سیپروفلوکساسین در سال 1987 همراه بود.این انتی بیوتیک ها بیشتر برروی باکتری‌های گرم منفی موثر بودند وپس از آن فلوروکینولون‌های دیگری مانند لووفلوکساسین و موکسی فلوکساسین با فعالیت‌بیش‌تری علیه باکتری ها معرفی شدند(3).

سیپروفلوکساسین به عنوان یکی از داروهای مؤثر در درمان عفونت‌های متنوع ناشی از باکتری‌های گرم منفی و به میزان کم‌تری در باکتری‌های گرم مثبت استفاده می‌شود. موفقیت عملکرد این دارو در درمان بیماران سبب ایجاد مجموعه‌ای از کینولون‌های نسل جدید شد. لووفلوکساسین به عنوان نسل سوم و جمی فلوکساسین به عنوان نسل های چهارم فعلی فلوروکوئینولون ها بخش گسترده ای از درمان عفونت های ناشی از باکتری های گرم مثبت ، گرم منفی ، میکروارگانیسم 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 ژن‌های کُدکننده یک یا هر دو آنزیم هدف دارو یعنیDNA gyrase و Topoisomeraz IV است که در فرایند همانندسازی و رونویسی در باکتری‌ها نقش دارند.

در گرم منفی هایی چون *ای.کولای* هدف اصلی برای کینولون ها DNA gyrase است. این ماده یک انزیم ترکیبی متشکل از دو زیرواحد AوB که به ترتیب gyrA و gyrB نام دارند است. این انزیم 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 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(6و5).

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 ـ 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 وحومه بود .معیار تشخیص عفونت ادراری بر اساس کشت ادرار مثبت یعنی وجود 10^5 کولونی میکروب در بیماران بدون علامت و10^4کولونی 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 منظورکشت نمونه های ادراری از محیط های بلاد آگار ، ائوزین متیلن بلو و مک گانگی آگار استفاده گردید. نمونه های کشت شده به مدت 24-18 ساعت در دمای 37 درجه انکوبه گردید. سویه های *ای.کولای* براساس 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 منظورتعیین حداقل غلظت مهاری(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 سیپروفلوکساسین و جمی فلوکساسین (سیگما- الدریچ، امریکا) به حلال آب و پودر لووفلوکساسین (سیگما- الدریچ، امریکا) به حلال آب و سود 0.1 مول/لیتراضافه گردید.

غلظت اولیه هر انتی بیوتیک به میکروپلیت 96 خانه ای ال ایزا حاوی محیط کشت مولر هینتون براث (مرک ، المان) تلقیح شد. عمل رقت سازی استوک های دارویی از چاهک شمارهٔ 2 تا چاهک شمارهٔ 11 ادامه یافت تا رقت های0.03-8 میکروگرم برمیلی لیتر (برای سیپروفلوکساسین و جمی فلوکساسین) و0.125-64 میکروگرم بر میلی لیتربرای لووفلوکساسین حاصل شود .چاهک شمارهٔ 1و 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 براث بود وچاهک کنترل مثبت حاوی محیط کشت مولر هینتون براث به همراه سوسپانسیون باکتری بود.

در ادامه به چاهک های 12-2، سوسپانسیون باکتری با غلظت $1/5*10^8$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 شده باشد به عنوان MIC_{90} 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 .

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 ≥ µg/ml 1مقاوم به جمی فلوکساسین و سویه های اشرشیا کولی با MIC ≤ 2µg/mlحساس، 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 PCRو استخراج DNAژنومی 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 درجدول 1 آمده است.

جدول 1. مشخصات عمومی پرایمرهای gyr A

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

واکنش PCR در حجم نهایی 25 میکرولیتر انجام شد که شامل 1 میکرولیتر از نمونه DNA ، 1 میکرولیتراز 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 Taqپلیمراز (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 در94 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 شدندو 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

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 و53/5٪ 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±47بود که 84 ٪ کشت های مثبت را افراد بالای 60 سال تشکیل دادند.

بررسی اثرات غلظت مختلف داروی جمی فلوکساسین درمحدوده 0/03 – 8 میکروگرم برمیلی لیتر بر رشد جدایه های *ای.کولای* نشان داد این دارو از طریق وابسته به غلظت قادر به مهار رشد 90 درصدباکتری هادر غلظت1 ≥ MICمیکروگرم بر میلی لیتر می باشد. نتایج غلظت های مورد بررسی در محدوده فوق برای جمی فلوکساسین و سیپروفلوکساسین 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 فلوکساسین که رشد90٪ جدایه هارا مهار کرد برابر 0/5 میکروگرم بر میلی لیتر بود که هشت برابر کمتر ازلووفلوکساسین و سیپروفلوکساسین (4 میکروگرم بر میلی لیتر) بود .

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

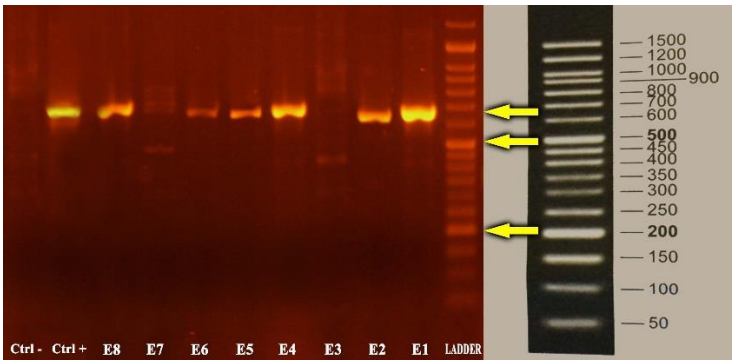
غلظت $4\mu g/ml$	سویه 1.5×10^8cfu/ml	عدم رشد		رشد	
		تعداد	درصد	تعداد	**درصد**
جمی فلوکساسین	*ای.کولای*	68	95/8	3	**4/2**
سیپروفلوکساسین	*ای.کولای*	46	64/8	25	**35/2**
لووفلوکساسین	*ای.کولای*	54	76/1	17	**23/9**

نتایج غلظت های مورد بررسی در محدوده 0/125 – 64 برای لووفلوکساسین در مقایسه با نتایج مربوط به جمی فلوکساسین نشان دادحداقل 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}) رابطه معنی داری دارد لیکن تفاوت معنی داری بین لووفلوکساسین و سیپروفوکساسین دیده نشد(P <0/001، جدول 3).

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

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

جهت بررسی نتایج پس از تکثیر DNA، 10میکرولیتر از محصولات برروی ژل اگارز 1/5 درصد وبافر بدون افزودن بافر لودیینگ قرار داده شدیک DNAمارکر 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 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).



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

در بررسی ما75 درصد جدایه های مقاوم به جمی فلوکساسین 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 درکدن 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 ویرولانس 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 ویرولانس صورت گرفته است(10و9).

در این مطالعه فراوانی جدایه های *ای.کولای* از بخش مراقبت های ویژه بیمارستان 62.8 ٪ گزارش شد که از این تعداد حدود84 ٪ آنها رامردان 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). امیدی 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.

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 وشرایط 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 فلوکساسین را 50 ٪(17)و Yosra (2015) این فراوانی را72٪ گزارش کردندکه از مطالعه حاضر(35٪) بیشتر می باشد(18). در مطالعه لرستانی و همکاران (2018) مقاومت ایزوله های *ای .کولای* در غرب ایران به سیپرو فلوکساسین و لووفلوکساسین 68٪ گزارش شد که از پژوهش ما فراوانی بالاتری داشت(19).فراوانی مقاومت به این دو انتی بیوتیک در کانادا و سوریه نیز به ترتیب79٪ و 68٪ گزارش شد(21و20) که این تفاوت با نتایج ما احتمالا به دلیل متفاوت بودن در شرایط نمونه گیری و بیمار است.

در بین فلوروکینولون ها جمی فلوکساسین 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 فلوکساسین 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 فلوکساسین نشان دادند که حاکی از مقاومت جدایه ها نسبت به این انتی بیوتیک می باشد. علت اصلی مقاومت نسبت به فلوروکینولون ها بروز جهش در ژن gyrA است. جهش در ژن gyrA و parC موجب

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 سرین83 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 برروی جدایه های بالینی *ای.کولای* اثر مناسبی دارد و بایستی با حفظ کنترل مصرف آن و روشهای صحیح درمانی ازبروز افزایشی مقاومت این پاتوژ نسبت به این دارومقاومت 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.

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, Karlowsky 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, Nakhlband 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.Molaabaszadeh 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-Spectrumβ-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.