مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و چهارم/شماره‌ی ۴۰۲/هفته‌ی دوم آذر ماه ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۵/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۸/۶

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[۱]، گیلدا اسلامی[۲]، هنگامه زندی[۳]، محمود وکیلی[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: افزایش مقاومت Escherichia coli، عامل عفونت ادراری، به آنتی بیوتیک‌ها 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 کد کننده‌ی 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

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).

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

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب‌شناسی، 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 میکروب‌شناسی، 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
نویسنده‌ی مسؤول: هنگامه زندی
Email: hengamehzandi1602@gmail.com

برابر کینولون‌ها شده است (٤). 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 (٥).

در مجموع، چهار نوع PMQR شامل QepA، aac (6 ')-Ib-cr، Qnr و OqxAB شناسایی شده است (٦). OqxAB، یک پمپ افلاکس چند دارویی از خانواده‌ی RND (Resistance nodulation division) می‌باشد. ژن‌های oqxA و oqxB روی یک پلاسمید کانژوگنیو ٥٢ کیلوبازی به نام pOLA52 قرار دارند و مقاومت به اتیدیم بروماید، کلرامفنیکل و کینولون‌ها را کد می‌کنند (٧-٦).

اولین بار، Kim و همکاران، در سال ٢٠٠٩ وجود این ژن‌ها را در نمونه‌های انسانی گزارش کردند (٨). مطالعات اندکی در مورد این ژن‌ها انجام شده است و در آن‌ها، شیوع ژن oqxAB در نمونه‌های انسانی Escherichia coli، ٦/٦-٥/٢ درصد گزارش گردیده است (٩، ٦).

با توجه به این که کینولون‌ها به طور گسترده در درمان عفونت‌های اداری 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 (١٠).

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 ادرار بیماران مبتلا به عفونت اداری بستری در بیمارستان‌های شهر یزد بود.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی توصیفی- تحلیلی، در سال ١٣٩٣، به مدت ٦ ماه در مجموع ٩٤ جدایه‌ی Escherichia coli از کشت ادرار بیماران مبتلا به عفونت اداری بستری در دو بیمارستان شهر یزد جدا شد. باسیل‌های گرم منفی جدا شده از نمونه‌های ادرار بیماران، به همراه اطلاعات دموگرافیک بیماران جمع‌آوری و به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه شهید صدوقی منتقل شد.

بعد از کشت پرگنه‌ها در محیط Eosin methylene blue (EMB) و نگهداری در دمای ٣٧ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت، پرگنه‌های لاکتوز مثبت با استفاده از محیط‌های افتراقی Triple sugar iron (Conda, Canada) (TSI)، Sulfide Indole Motility (SIM)، سیمون سیترات، اوره آگار و Methyl red- voges proskauer (MR-VP) تعیین هویت شدند. از تکثیر ژن 16S rRNA 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 (١١). در این روش، از محیط کشت Muller- Hinton و سوسپانسیون باکتریایی معادل کدورت ٠/٥ مک‌فارلند و دیسک‌های آنتی‌بیوتیک افلوکساسین، نورفلوکساسین، لووفلوکساسین، سیپروفلوکساسین و نالیدیکسیک اسید (MAST, England) استفاده شد. از سویه‌ی استاندارد ATCC25922 Escherichia coli به عنوان شاهد استفاده شد.

جهت استخراج Genomic DNA جدایه‌ها، از روش Salting out استفاده شد (١٢). سنجش کمی و کیفی DNA استخراج شده با استفاده از اسپکتروفتومتری (BioTek instruments, USA) و ژل آگارز الکتروفورز (ژل آگارز ٠/٧ درصد) (پدیده‌ی نوژن پارس، ایران) انجام شد.

از پرایمرهای یونیورسال UNI-OL-F 5'- GTGTAGCGGTGAAATGCG-3' و UNI-OL-R 5'- ACGGGCGGTGTGTACAA-3' (٧٠٩ bp) جهت تکثیر ژن 16S rRNA به عنوان یک شاهد داخلی استفاده شد (١٣). 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 oqxA-F: 5'- CTCGGCGCGATGATGCT -3' و oqxA-R: 5'- CCACTCTTCACGGGAGACGA -3' (٣٩٢ bp) و جهت تکثیر ژن oqxB از پرایمرهای oqxB-F: 5'- TTCTCCCCCGGCGGGAAGTAC -3' و oqxB-R: 5'- CTCGGCCATTTTGGCGCGTA -3' (٥١٢ bp) استفاده شد (٨).

غلظت نهایی برای هر یک از مواد در واکنش PCR برای ژن 16S rRNA عبارت از ٥ میکرولیتر آب مقطر تزریقی استریل، ١ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای UNI- OL -F و UNI- OL- R با غلظت ٤ پیکومول، ١٠ میکرولیتر از Mastermix (Amplicon, Denmark) و ٣ میکرولیتر از DNA استخراج شده بود.

غلظت نهایی ترکیبات واکنش PCR برای ژن‌های oqxA و oqxB در حجم ۲۰ میکرولیتر عبارت از ٦ میکرولیتر آب مقطر تزریقی استریل، ۰/۵ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای oqxA-F، oqxA-R و یا oqxB-F، oqxB-R با غلظت ٤ پیکومول، ۱۰ میکرولیتر از Mastermix و ۳ میکرولیتر از DNA استخراج شده بود.

برنامه‌ی تکثیر برای ژن 16S rRNA در دستگاه ترموسایکلر (Quanta biotech, England) شامل واسرشت اولیه در دمای ۹٤ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و به دنبال آن ۲۰ چرخه شامل واسرشتگی در دمای ۹٤ 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 یا oqxB شامل واسرشت اولیه در دمای ۹٤ 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 ۹٤ درجه‌ی سانتی‌گراد، اتصال در دمای ٦۲ 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. سویه‌ی استاندارد ATCC25922 Escherichia coli جهت شاهد استفاده شد.

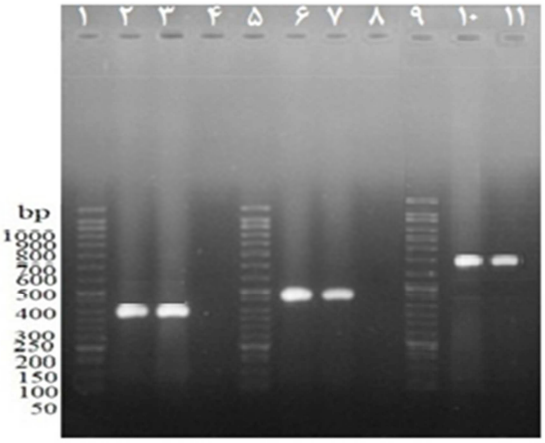
بررسی قطعات تکثیر شده: وجود ژن‌های مورد بررسی با استفاده از ژل آگارز الکتروفورز (ژل آگارز ۱/۵ درصد) و در کنار Ladder ۵۰ bp ارزیابی شد. برای تأیید قطعات تکثیر شده از نظر وجود ژن‌های مورد نظر، از ژن‌های تکثیر یافته نمونه‌هایی جهت تعیین توالی ارسال شد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱٦ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) و با استفاده از آزمون آماری χ^2 بررسی گردید.

یافته‌ها

با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی و مولکولی، تعداد ۹٤ جدایه‌ی Escherichia coli شناسایی شد. شکل ۱، الکتروفورز محصول PCR برای ژن 16S rRNA را نشان می‌دهد. تعداد ٦۹ جدایه (۷۳/٤ درصد) متعلق به نمونه‌ی ادرار زنان و تعداد ۲۵ جدایه (۲٦/٦ درصد) متعلق به مردان بود. بیشترین و کمترین میزان مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید (۷۳/٤ درصد) و نورفلوکساسین (۵۱/۰ درصد) بود (جدول ۱).

بر اساس نتایج، ژن‌های oqxA و oqxB به ترتیب در ٤ (٤/۲ 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 16S rRNA توسط آگارز ژل الکتروفورز

۱: 50bp DNA Ladder، ۲ و ۳: نمونه‌های مثبت oqxa، ٤: کنترل منفی،
۵: 50bp DNA Ladder، ٦ و ۷: نمونه‌های مثبت oqxB، ۸: کنترل منفی،
۹: 50bp DNA Ladder، ۱۰ و ۱۱: نمونه‌های 16S rRNA

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

آنتی بیوتیک	حساس (S)	نیمه 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)
لووفلوکساسین	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 ≥ ۱۲، ۱٦–۱۳ = I، S ≤ ۱۷)، اوفلوکساسین (R ≥ ۱۲، ۱۵–۱۳ = I، S ≤ ۱٦)، نالیدیکسیک اسید (R ≥ ۱۳،۱۸، ۱٤–۱۳ = I، S ≤ ۱۹)، لووفلوکساسین (R ≥ ۱٦، ۱٤–۱۳ = I، S ≤ ۱۷)، سیپروفلوکساسین (R ≥ ۲۰، ۱٦–۱۵ = I، S ≤ ۲۱) می‌باشد.

جدول ۲. فراوانی ژن‌های oqxA و oqxB در جدایه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه

نام آنتی بیوتیک	oqxA	oqxB
نالیدیکسیک 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 (٦).

OqxAB، یک پمپ افلاکس چند دارویی از خانواده‌ی Resistance nodulation division (RND) می‌باشد که در مقاومت به فلوروکینولون‌ها و کینولون‌ها نقش دارد (۸-٦).

در این مطالعه، ۹٤ 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 نالیدیکسیک اسید (۷۳/٤ درصد) گزارش شد.

در مطالعه‌ی علیشاهی و همکاران، میزان مقاومت ۲۲٤ جدایه‌ی Escherichia coli عامل عفونت ادراری به آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید، افلوکساسین، نورفلوکساسین، سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین به ترتیب ٤۸/۷، ۲۹/۰، ۲۷/۷، ۳۹/۲ و ۲۳/۷ درصد (۱٤) و در مطالعه‌ای در آمریکا، میزان مقاومت جدایه‌های Escherichia coli به کینولون‌ها ۲۱ درصدو به فلوروکینولون‌ها ۱۲ درصد گزارش گردید (۱۵).

در مطالعه‌ی فیروزه و همکاران در خرم‌آباد، ۱٤۰ جدایه‌ی Escherichia coli به ترتیب به نالیدیکسیک اسید (۸۲/۸ درصد)، سیپروفلوکساسین (٤۵/۰ درصد)، نورفلوکساسین (٤۷/۱ درصد)، افلوکساسین (٤۵/۰ درصد) و لووفلوکساسین (٤۲/۹ درصد) مقاوم بودند (۱٦).

میزان مقاومت جدایه‌های Escherichia coli در پاکستان نسبت به نالیدیکسیک اسید و سیپروفلوکساسین به ترتیب ۸٤/۲ و ۳٦/۵ درصد (۱۷)، در چین مقاومت به سیپروفلوکساسین ۵۹/٤ درصد (۱۸) و در کره‌ی جنوبی، مقاومت به سیپروفلوکساسین ۷٤/٦ درصد (۱۹) و در مطالعه‌ی Gagliotti و همکاران مقاومت به نورفلوکساسین، سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین به ترتیب ۲٤، ۵۷ و ۱۲ درصد گزارش شد (۲۰).

در مطالعات پیش‌گفته و همچنین در مطالعه‌ی حاضر، میزان مقاومت نسبت به کینولون‌هایی مانند نالیدیکسیک 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 ٤ (٤/۲ درصد) و ۳ (۳/۲ درصد) جدایه‌ی Escherichia coli مشاهده شد. از بین ٤ جدایه‌ی مثبت از نظر ژن oqxA، ۳ جدایه (۷۵ درصد) مربوط به بیماران زن، همچنین ۲ جدایه (٦٦/٦ درصد) از ۳ جدایه‌ی حاوی ژن oqxB مربوط به زنان بود. از ۹٤ 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 ٤/۳ و ۲/۸ درصد جدایه‌ی مقاوم به نالیدیکسیک اسید، در ٦/۲ و ٤/۲ درصد جدایه‌ی مقاوم به نورفلوکساسین، در ٦/۰ و ٤/۰ درصد جدایه‌ی مقاوم به افلوکساسین، در ٦/۰ و ٦/۰ 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 ۰/٤ درصد از جدایه‌های Escherichia coli و ۷٤/۱ 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 ۱۰۲۲ Escherichia coli 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 Rodrıguez- 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 Escherichia coli مطالعه‌ی 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.

نتیجه گیری 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.

تشکر و قدردانی

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

References

1. 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.
2. 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.
3. 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].
4. 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.
5. 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.
6. 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.
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 Escherchia 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.

Journal of Isfahan Medical School

Vol. 34, No. 402, 2nd Week, December 2016

Received: 10.08.2016

Accepted: 27.10.2016

Frequency of oqxA and oqxB Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes in Escherichia Coli Isolated from Urine of Inpatients with Urinary Tract Infections in Yazd City, Iran

Saeedeh Sadat Hosseini[1], Gilda Eslami[2], Hengameh Zandi[3], Mahmoud Vakili[4]

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 oqxA and oqxB 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 oqxA and oqxB 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, oqxA and oqxB 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 oqxA and oqxB 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, OqxAB

Citation: Hosseini SS, Eslami G, Zandi H, Vakili M. **Frequency of oqxA and oqxB 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