

Detection of *qnrA* gene among quinolone-resistant *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections in Khorram Abad during 2011-2012

Soleimani-Asl Y¹, Zibaei M², Firoozeh F^{3*}

1- Department of Microbiology, Faculty of Sciences, Qom Branch, Azad University, Qom, I. R. Iran.

2- Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorram Abad, I. R. Iran.

3- Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received March 19, 2013; Accepted September 9, 2013

Abstract:

Background: Quinolone-resistance in *Escherichia coli* is ordinarily associated with mutations in the *gyrA* and *parC* genes. Plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) was increasingly identified in Enterobacteriaceae family worldwide. The aim of this study was to determine the prevalence of *qnrA* gene among quinolone-resistant *E. coli* isolates in Khorram Abad, Iran.

Materials and Methods: In this cross-sectional study, one-hundred forty *E. coli* isolates were collected from urine samples of the patients. Isolates were screened for ciprofloxacin and nalidixic acid resistance using disk diffusion method according to clinical and laboratory standards institute (CLSI) guidelines. Moreover, PCR was used to evaluate the presence of *qnrA* gene in quinolone-resistant isolates.

Results: One-hundred sixteen (82.8%) and 63 (43%) out of 140 *E. coli* isolates showed resistance to nalidixic acid and ciprofloxacin, respectively. The results showed that 14 (12.1%) nalidixic acid-resistant and 9 (14.3%) ciprofloxacin-resistant isolates were positive for *qnrA* gene.

Conclusion: The identification of *qnrA* gene among quinolone-resistant *E. coli* isolates shows that the emergence of PMQR in this region requires serious preventive measures.

Keywords: *Escherichia coli*, PMQR, *qnrA*, Ciprofloxacin, Urinary tract infection

* Corresponding Author.

Email: ffiroozeh@ut.ac.ir

Tel: 0098 912 560 1989

Fax: 0098 21 66 405 535

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences November, 2013; Vol. 17, No 5, Pages 488-494

Please cite this article as: 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.

بررسی ژن *qnrA* در جدایه‌های *شریشیا کلی* مقاوم به کینولون جدا شده از عفونت ادراری در شهرستان خرم آباد در سال ۱۳۹۱

یونس سلیمانی اصل^۱، محمد زیبایی^۲، فرزانه فیروزه^{۳*}

خلاصه:

سابقه و هدف: مقاومت به آنتی بیوتیک‌های کینولونی معمولاً متعاقب ایجاد جهش در ژن‌های *gyrA* و *parC* رخ می‌دهد. مقاومت وابسته به پلاسמיד نسبت به کینولون‌ها به‌طور روزافزون در خانواده اترئوباکتریاسه در جهان تعیین هویت می‌گردد. هدف از انجام مطالعه حاضر تعیین شیوع ژن *qnrA* در جدایه‌های *شریشیا کلی* مقاوم به کینولون جدا شده از عفونت ادراری در شهرستان خرم آباد در سال ۱۳۹۱ بوده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی ۱۴۰ جدایه *شریشیا کلی* از نمونه ادرار جمع‌آوری شدند. جدایه‌ها جهت تعیین مقاومت به آنتی-بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید و سیپروفلوکساسین به‌روش دیسک دیفیوژن مطابق با دستورالعمل استاندارد CLSI مورد غربال‌گری قرار گرفتند. هم‌چنین، واکنش PCR جهت بررسی حضور ژن *qnrA* در جدایه‌های مقاوم به کینولون مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج: از ۱۴۰ جدایه *شریشیا کلی*، ۱۱۶ جدایه (۸۲/۸ درصد) و ۶۳ جدایه (۴۳ درصد) به‌ترتیب نسبت به آنتی-بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید و سیپروفلوکساسین مقاومت نشان دادند. نتایج نشان داد که ۱۴ جدایه (۱۲/۱ درصد) از جدایه‌های مقاوم به نالیدیکسیک اسید و ۹ جدایه (۱۴/۳ درصد) از جدایه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین دارای ژن *qnrA* بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که فراوانی ژن *qnrA* در میان جدایه‌های *شریشیا کلی* مقاوم به کینولون در منطقه خرم آباد از میزان نسبتاً بالایی برخوردار می‌باشد. لذا، لزوم بررسی‌های بیشتر با بهره‌گیری از تکنیک‌های دقیق مولکولی و اقدامات جدی پیشگیرانه را می‌طلبد.

واژگان کلیدی: *شریشیا کلی*، مقاومت وابسته به پلاسמיד به کینولون‌ها، ژن *qnrA*، سیپروفلوکساسین، عفونت مجاری ادراری

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره هفدهم، شماره ۵، آذر و دی ۱۳۹۲، صفحات ۴۹۴-۴۸۸

مقدمه

شریشیا کلی عامل اصلی عفونت‌های ادراری (UTI) می‌باشد. امروزه به‌دلیل مقاومت آنتی‌بیوتیکی به داروهای خط اول، کینولون‌ها و فلوروکینولون‌ها داروهای انتخابی درمان عفونت‌های ادراری ناشی از این باکتری را تشکیل می‌دهند [۱]. ژن‌های *qnr* جزء عوامل مقاومت کینولونی وابسته به پلاسמיד (PMQR) هستند که به‌دلیل قرار گیری بر روی اینتگرون‌های مختلف باعث گسترش بسیار سریع مقاومت در باکتری‌های خانواده اترئوباکتریاسه می‌شوند [۱]. کینولون‌ها خانواده‌ای از آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف صنعتی هستند [۲].

این عوامل به‌عنوان داروی انتخابی اول در درمان عفونت‌های دستگاه ادراری ناشی از باکتری‌های گرم منفی هوازی از جمله *شریشیا کلی* مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما به‌دلیل استفاده بی-رویه از این داروها روز به‌روز میزان مقاومت نسبت به این داروها در حال افزایش می‌باشد [۴، ۳، ۱]؛ به‌طوری‌که طی سال‌های اخیر مقاومت سطح بالا به داروهای با اهمیت فوق که در ارتباط با ژن-های وابسته به پلاسמיד *qnr* می‌باشند، بروز نموده و درمان عفونت‌های ذکر شده را بسیار پیچیده نموده است [۷، ۳-۵]. مقاومت کینولونی وابسته به پلاسמיד (PMQR) به‌دلیل گسترش سریع در بین اترئوباکتریاسه‌ها نقش بسیار مهمی در مقاومت به این داروها دارد [۸، ۶]. تاکنون سه نوع مقاومت کینولونی وابسته به پلاسמיד (PMQR) کشف شده است که مهم‌ترین آنها ژن‌های *qnr* هستند [۷]. ژن *qnrA* یک پروتئین ۲۱۸ اسید آمینه‌ای متعلق به خانواده پنتاپتیدی را کد می‌کند که از طریق ممانعت از اتصال کینولون به DNA ژیراز و توپوایزومراز ۴ باعث حفاظت از DNA می‌شود [۸]. *qnrA* سبب مقاومت به کینولون‌هایی مانند نالیدیکسیک اسید و افزایش MIC فلوروکینولون‌ها تا ۳۲ برابر در *شریشیا کلی* می‌شود [۷]. علاوه بر این، وجود ژن *qnrA* سبب تسهیل در ایجاد جهش کروموزومی در غلظت‌هایی از کینولون‌ها

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران

^۲ استادیار، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

^۳ استادیار، گروه میکروپزشکی و ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

* نشانی نویسنده مسئول:

کاشان، ۵ کیلومتر قطب راوندی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، دانشکده پزشکی، گروه میکروپزشکی و ایمنی شناسی

دوره نویس: ۳۶۱ ۵۵۵۰۰۲۱

تلفن: ۰۹۱۲۵۶۰۱۹۸۹

پست الکترونیک: ffiroozeh@ut.ac.ir

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۲/۶/۱۸

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۲۹

می‌شود که در غیاب این ژن‌ها برای باکتری کشنده است [۹-۱۱]. تولید پروتئین‌های PMQR مشکل عدیده‌ای در درمان عفونت‌های ادراری ناشی از /شریشیا کلی می‌باشد. میزان شیوع ژن‌های مقاومت پلاسمیدی به فلوروکینولون‌ها مانند *qnrA* در جدایه‌های /شریشیا کلی در کشورهای در حال توسعه به دلیل مصرف بالای آنتی‌بیوتیک‌های فوق از میزان نسبتاً بالایی برخوردار است [۱۲]، در حالی‌که در آمریکای شمالی، اروپا و ژاپن این میزان بسیار کمتر می‌باشد؛ هرچند امروزه در بسیاری از جدایه‌های /شریشیا کلی جدا شده از عفونت ادراری در آمریکا و کانادا مقاومت وابسته به پلاسمید به فلوروکینولون‌ها رو به افزایش بوده و در برخی مراکز حتی به ۲۵ درصد نیز می‌رسد [۱۳]. حوزه گسترش جغرافیایی ژن *qnrA* نسبت به سایر ژن‌های *qnr* وسیع‌تر بوده و در بسیاری از مناطق جهان شیوع بالاتری نسبت به سایر ژن‌های *qnr* وابسته به پلاسمید دارد. هم‌چنین، به دلیل قرارگیری بر روی پلاسمیدهای با دامنه وسیع میزبانی، دارای توانایی گسترش وسیع‌تری می‌باشد [۱۴]. *QnrA* علاوه بر اینکه موجب افزایش میزان مقاومت به فلوروکینولون‌ها می‌گردد، سبب انتخاب سایر شاخص‌های کروموزومی ایجاد کننده مقاومت به دیگر فلوروکینولون‌ها که حتی ممکن است مصرف بالایی هم نداشته باشند، می‌گردد [۱۵]. از آنجا که مطالعات انجام شده از نظر بررسی میزان شیوع ژن‌های *qnr* در جدایه‌های کلینیکی در شهرستان خرم آباد محدود می‌باشد و بررسی پروفایل مولکولی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های کلینیکی در سطح منطقه‌ای از جهت مدیریت صحیح عفونت‌ها بسیار حایز اهمیت می‌باشد، هدف از مطالعه حاضر تعیین میزان مقاومت جدایه‌های /شریشیا کلی جدا شده از عفونت ادراری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کینولونی و شناسایی ژن *qnrA* در جدایه‌های مقاوم به‌روش PCR در شهرستان خرم آباد در سال ۱۳۹۱ می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقطعی تعداد ۱۴۰ جدایه باکتری /شریشیا کلی از نمونه‌های ادراری بیماران مراجعه‌کننده به دو بیمارستان شهرستان خرم آباد (شهادی عشایر و شهید مدنی) به مدت هشت ماه (از فروردین تا آبان ماه ۱۳۹۱) جمع‌آوری شد. جدایه‌های به دست آمده پس از کشت در محیط‌های اختصاصی و افتراقی نظیر مکانیکی آگار و EMB آگار و انجام آزمون‌های بیوشیمیایی استاندارد نظیر کشت در محیط TSI، SIM، تست IMViC و تست اوره مورد تعیین هویت مجدد قرار گرفتند [۱۶]. کلونی‌های مربوط به جدایه‌های مثبت /شریشیا کلی در محیط تریپتو کیس

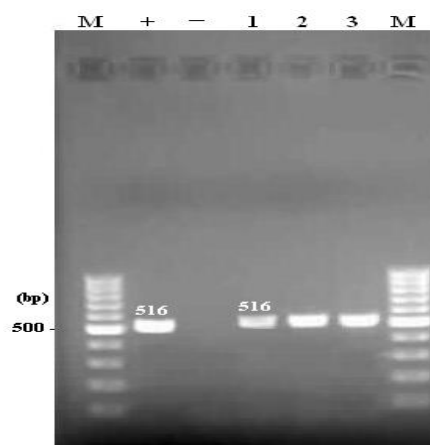
سوی آگار (TSA) کشت داده شد و پس از رشد با اضافه کردن ۲۰ درصد گلیسرول در ۷۰- درجه فریز شدند تا در مراحل بعدی از این جدایه‌ها استفاده شود. تعیین حساسیت و مقاومت سویه‌ها نسبت به نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکروگرم) و سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم) به‌روش دیسک دیفیوژن (Kirby baur) طبق استاندارد جهانی (CLSI) انجام شد [۱۷]. از جدایه‌های مورد بررسی سوپانسیون معادل غلظت نیم مک فارلند تهیه شد و در محیط مولر هیتون آگار (Merck, Germany) به‌صورت گسترده کشت شد و دیسک‌ها بر روی محیط قرار گرفتند. سپس، به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه به‌صورت وارونه قرار گرفتند. جهت کنترل کیفی آنتی بیوگرام از سویه‌های استاندارد /شریشیا کلی ATCC 25922 و کلبسیلا پنومونیه ATCC 700603 استفاده شد. جدایه‌های فتوتیپ مثبت جهت بررسی ژن *qnrA* انتخاب شدند. جهت استخراج ژنوم از کیت استخراج DNA (Bioneer, Korea) استفاده شد. تعداد سه یا چهار کلونی از باکتری در ۵ میلی‌لیتر محیط LB (Merck, Germany) کشت داده شد و بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد استخراج طبق دستورالعمل کیت انجام گرفت. جهت شناسایی ژن *qnrA* آزمون PCR با استفاده از پرایمر اختصاصی صورت گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت تکثیر ژن *qnrA* و دستیابی به آمپلیکون با اندازه ۵۱۶ جفت باز شامل: Forward-*qnrA*; 5'-ATTCTCTCAGCCAGGATTTG-3' Reverse-*qnrA*; 5'-GATCGGCAAAGGTAGGTCA-3' بود [۱۲] که از شرکت سیناژن تهیه شده و مطابق دستورالعمل شرکت آماده گردید. مخلوط ترکیبات واکنش PCR طبق دستور زیر تهیه شد: حدود ۳ μl از DNA استخراج شده، ۲ μl بافر، ۱۰x 1 μl dNTP PCR ۰/۲ mM، ۰/۵ μl MgCl₂، ۰/۲۵ μl taq DNA polymerase و ۱ μl پرایمر ۱۰ pmol با آب مقطر دو بار تقطیر حجم به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Techne, UK) با شرایط حرارت ۹۴ درجه سانتی-گراد ۵ دقیقه (Initial denaturation)، ۳۲ سیکل شامل: حرارت ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۴۵ ثانیه (Denaturation)، حرارت ۵۱ درجه سانتی‌گراد ۴۵ ثانیه (Annealing)، حرارت ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۴۵ ثانیه (Extension) و در نهایت حرارت ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۷ دقیقه (Final extension) انجام پذیرفت. در این مطالعه از /شریشیا کلی حاوی ژن *qnrA* جهت کنترل مثبت و از سویه /شریشیا کلی ATCC 25922 به‌عنوان کنترل منفی نتایج PCR استفاده شد. محصول PCR پس از الکتروفورز بر روی ژل

مطالعه‌ای که توسط نخجوانی و همکارانش در سال ۲۰۰۷ بر روی سویه‌های اشریشیا کلی جدا شده از عفونت‌های ادراری در شهر تهران انجام شد، میزان مقاومت نسبت به نالیدیکیک اسید و سیپروفلوکساسین به ترتیب ۴۹/۳ و ۴۰/۲ درصد به دست آمده است [۱۸]. با مقایسه نتیجه مطالعه حاضر با مطالعه انجام شده در تهران مشاهده می‌گردد که میزان مقاومت به نالیدیکیک اسید در مطالعه حاضر بسیار بالاتر می‌باشد که می‌تواند به دلیل روند رو به افزایش میزان مقاومت به داروی فوق طی مدت زمان پنج سال و ناشی از فشار انتخابی حاصل از مصرف بالای داروی فوق باشد. اما از این نظر که در هر دو مطالعه میزان مقاومت به نالیدیکیک اسید بالاتر بوده و پیش‌نیاز مقاومت به سیپروفلوکساسین می‌باشد، شباهت وجود دارد. مطالعه‌ای دیگر در شهر تهران بر روی جدایه‌های ادراری ناشی از اشریشیا کلی در سال ۱۳۸۹ انجام شد که میزان مقاومت به نالیدیکیک اسید و سیپروفلوکساسین را ۷۴ و ۵۴/۵ درصد گزارش می‌دهد و با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد [۱۹]. در مطالعه انجام شده در پاکستان در سال ۲۰۱۱ مقاومت در جدایه‌های ادراری اشریشیا کلی نسبت به سیپروفلوکساسین و نالیدیکیک اسید به ترتیب ۳۶/۴۵ و ۸۴/۱۶ درصد گزارش شده است که با نتایج مطالعه حاضر مشابهت دارد و می‌تواند ناشی از مصرف بی‌رویه و بدون نظارت دقیق داروهای فوق در کشورهای در حال توسعه باشد [۲۰، ۱۵]. در یک مطالعه‌ی انجام شده در ایالات متحده در سال ۲۰۰۶ نیز میزان مقاومت در جدایه‌های اشریشیا کلی یوروپاتوژن نسبت به کینولون‌ها ۲۱ و نسبت به فلوروکینولون‌ها ۱۲ درصد گزارش شده است [۲۱]. اختلاف نتایج مطالعه انجام شده 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 اهمیت فوق باشد. در مطالعه حاضر شیوع ژن *qnrA* در جدایه‌های مقاوم به نالیدیکیک اسید ۱۲/۱ درصد و در جدایه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین ۱۴/۳ درصد به دست آمد. مطالعات حاکی از آن است که یک ارتباط مستقیم بین میزان مصرف کینولون‌ها و درصد مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها وجود دارد [۲۲-۲۶]. اگرچه در آمریکا و کانادا اکثریت جدایه‌های بالینی اشریشیا کلی به فلوروکینولون‌ها حساس‌اند، با این حال جدایه‌های مقاوم به این آنتی‌بیوتیک‌ها در حال افزایش‌اند [۲۲]. در چین میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین بالا بوده و در جدایه‌های بالینی اشریشیا کلی طی سال‌های ۱۹۹۹-۱۹۹۷ در حدود ۶۰ درصد گزارش شده است [۴]. افزایش مقاومت به سیپروفلوکساسین در انتروباکتریاسه با افزایش شیوع ژن‌های PMQR مرتبط است و این تغییر در مقاومت شامل

آگاروز ۱ درصد و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید با استفاده از دستگاه Trans-illuminator مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

براساس نتایج حاصل از آزمون غربالی دیسک آگار دیفیوژن ۱۱۶ جدایه (۸۲/۸ درصد) نسبت به نالیدیکیک اسید مقاومت نشان دادند و ۶۳ جدایه (۴۵ درصد) نسبت به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند. نتیجه آزمون PCR جهت شناسایی قطعات اختصاصی با اندازه ۵۱۶ جفت باز (bp) بر روی ژل آگارز ۱ درصد همراه با مارکر ۱۰۰ جفت بازی (Fermentas) مشاهده و بررسی گردید (شکل شماره ۱). با استفاده از روش PCR که بر روی جدایه‌های دارای فوتیپ مقاومت به کینولون‌ها صورت گرفت، ۱۴ جدایه (۱۲/۱ درصد) از ۱۱۶ جدایه مقاوم به نالیدیکیک اسید و ۹ جدایه (۱۴/۳ درصد) از ۶۳ جدایه مقاوم به سیپروفلوکساسین دارای ژن *qnrA* بودند.



شکل شماره ۱- الکتروفورز ژل آگارز. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی؛ ستون +: کنترل مثبت برای ژن *qnrA* (اشریشیا کلی حامل *qnrA*)؛ ستون -: کنترل منفی، شامل مخلوط واکنش PCR با افزایش آب دیونیزه به جای DNA الگو؛ ستون‌های ۱-۳: جدایه‌های بالینی مثبت از نظر ژن *qnrA*

بحث

در مطالعه حاضر میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیکیک اسید و سیپروفلوکساسین به ترتیب ۸۲/۸ و ۴۵ درصد به دست آمد که میزان مقاومت بالایی را نشان می‌دهد. با توجه به اینکه از زمان تولید نالیدیکیک اسید در سال ۱۹۶۲ به عنوان اولین داروی خانواده کینولون‌ها بیش از ۷ دهه می‌گذرد و به دلیل اینکه از این دارو در همان ابتدا در درمان عفونت‌های ادراری استفاده شده است، بنابراین انتظار می‌رود که مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک از دیگر آنتی‌بیوتیک‌های خانواده کینولونی بالاتر باشد. در

جدایه‌های ESBL مثبت انجام گرفته و بررسی‌های انجام گرفته همراهی بسیار نزدیکی مابین حضور ژن *qnrA* و تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف توسط جدایه‌های *اشریشیا کلی* را نشان داده‌اند [۱۵]. به علاوه، تفاوت در تعداد نمونه مورد بررسی می‌تواند در نتایج به دست آمده تاثیر گذار باشد. یافته‌های مطالعه حاضر همچنین نشان دادند که برخی از جدایه‌های فاقد ژن *qnrA* همچنان دارای مقاومت فنوتیپی به نالیدیکسیک اسید و سیپروفلوکساسین می‌باشند که مقاومت فوق می‌تواند به دلیل وجود سایر ژن‌های *qnr* و یا مکانیسم‌های دیگر مقاومت به کینولون‌ها مانند جهش در آنزیم‌های هدف باشد.

نتیجه‌گیری

مقایسه نتایج حاصل از این تحقیق و دیگر کارهای انجام شده در ایران و سایر کشورها از نظر فراوانی ژن‌های مقاومت کینولونی وابسته به پلاسمید نشان می‌دهد که فراوانی ژن‌های فوق در منطقه ما نسبت به سایر مناطق از میزان بالاتری برخوردار می‌باشد و به ویژه فراوانی ژن *qnrA* نسبت به سایر ژن‌های با مکانیسم مقاومت مشابه بالاتر می‌باشد. فراوانی بالای ژن‌های فوق در میان سویه‌های با اهمیت بالینی به ویژه به دلیل حمل وابسته به پلاسمید آنها که انتقال و گسترش سریع آنها را تسهیل می‌نماید، بسیار حایز اهمیت بالینی می‌باشد. لذا، لزوم بررسی‌های بیشتر با بهره‌گیری از تکنیک‌های مولکولی از نظر بررسی کامل الگوی ژنتیکی مقاومت، وجود برنامه‌های مراقبتی و نظارتی دقیق و اقدامات پیشگیرانه جدی را نشان می‌دهد.

تشکر و قدردانی

پژوهشگران از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان و کلیه‌ی عزیزیانی که در انجام این پژوهش همکاری داشته‌اند، قدردانی به عمل می‌آورند.

References:

- tract infections from 1994-2007. *Acta Med Okayama* 2009; 63(5): 263-72.
- [4] Wang H, Dzink-Fox JL, Chen M, Levy SB. Genetic characterization of highly fluroquinolone-resistant clinical *Escherchia coli* strains from china: rule of *acrR* mutations. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45(5): 1515-21.
- [5] Nazik H, Bektore B, Ongen B, Ozuyrt M, Baylan O, Haznedaroglu T. Co-expression of plasmid-mediated quinolone resistance-*qnrA*1 and *bla_{VEB1}* gene in *Providensia staturii* strain. *New Microbiol* 2011; 34(2): 225-8.

افزایش در تنوع ژن‌های PMQR و شیوع جهش در ژن‌های *gyrA* و *parC* و یا هر دو در سویه‌های PMQR مثبت است [۱۰].

Corkill و همکاران در سال ۲۰۰۵ در انگلستان با بررسی ۴۷ جدایه انتروباکتریاسه مقاوم به سیپروفلوکساسین و سفوناکسیم جدا شده از موارد باکتریی، شیوع ژن *qnrA* را در جدایه‌های تحت بررسی ۳۲ درصد گزارش کرده‌اند [۲۷]. شیوع بالای ژن حاضر در مطالعه انگلستان نسبت به مطالعات مشابه می‌تواند به این دلیل باشد که مطالعه مذکور بر روی جدایه‌های به دست آمده از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه که تحت شرایط فشار انتخابی بالا ناشی از مصرف بالای آنتی‌بیوتیک قرار داشته‌اند، انجام گرفته است. Oktem و همکاران در سال ۲۰۰۷ در ترکیه ۷۸ جدایه انتروباکتریاسه (۳۴ جدایه *اشریشیا کلی* و ۴۴ جدایه *کلبسیلا پنومونیه*) ESBL مثبت را مورد بررسی قرار دادند؛ از این تعداد، ۳۷ جدایه (۴۷/۴ درصد) به تنهایی به نالیدیکسیک اسید غیر حساس بوده و تعداد ۳۹ جدایه (۷۸/۶ درصد) هم‌زمان به سیپروفلوکساسین نیز مقاومت داشتند. در بین جدایه‌های مقاوم به کینولون ۵ جدایه (۶/۳ درصد) حامل ژن *qnrA* بودند [۲۸].

Wang و همکاران نیز در سال ۲۰۰۳ با بررسی ۷۸ جدایه *اشریشیا کلی* مقاوم به سیپروفلوکساسین ۶ نمونه (۷/۷ درصد) *qnr* مثبت گزارش کرده‌اند [۲۹]. Periera و همکاران در سال ۲۰۰۷ با بررسی ۱۴۴ جدایه *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت‌های ادراری مقاوم به سیپروفلوکساسین در بین سال‌های ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۳ در برزیل فقط در یک مورد *qnr* مثبت گزارش نموده‌اند [۲۶]. از آنجا که دو مطالعه اخیر از نظر زمانی حدود یک دهه با مطالعه حاضر تفاوت زمانی دارند، نتایج این مطالعات تایید کننده روند رو به افزایش گسترش ژن‌های *qnr* می‌باشد. پاکزاد و همکاران در سال ۲۰۱۱ با بررسی ۱۵۰ جدایه *اشریشیا کلی* فراوانی ژن *qnrA* در ۲۴ جدایه ESBL مثبت را ۳۷/۵ درصد گزارش کرده‌اند [۱۵]. تفاوت میزان شیوع ژن *qnrA* در مطالعه فوق و مطالعه حاضر می‌تواند بدین علت باشد که مطالعه پاکزاد و همکاران بر روی

- [1] Ito CA, Gales AC, Tognim MC, Munerato P, Dalla Costa LM. Quinolone-resistant clinical *escherchia coli*. *Braz J Infect Dis* 2008; 12(1): 5-9.
- [2] Behringer MG. The effect of mutations in type II topoisomerase on fluoroquinolone resistance in clinical canine urine *Escherichia coli* isolates. Auburn: Alabama; 2011.
- [3] Wada K, Kariyama R, Mitsuhata R, Uehara S, Watanabe T, Monden K, et al. Experimental and clinical studies on fluoroquinolone- insusceptible *Escherchia coli* isolated from patient with urinary

- [18] Akbari-Nakhjavani F., Mirsalehi A, Hamidian M, Kazemi B, Mirafshar M, Jabal Ameli F, et al. Antimicrobial susceptibility testing of *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections to fluoroquinolones and detection of *gyrA* mutations in resistant strains. **Daru** 2007; 15(2): 94-9.
- [19] Soltan Dallal MM, Molla Aghamirzaei H, Fallah Mehrabadi J, Rastegar Lari, Sabbaghi A, Eshraghian MR, et al. Molecular detection of TEM and AmpC (*dha*, *mox*) broad spectrum β -lactamase in clinical isolates of *Escherichia coli*. **Tehran Univ Med J** 2010; 68(6): 315-20. [in Persian]
- [20] 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(3): 462-6.
- [21] 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*. **Antimicrob Agents Chemother** 2006; 57(2): 204-11.
- [22] Karlowsky JA, Hoban DJ, Decorby MR, Laing M L, Zhanel GG. Fluoroquinolone-resistant urinary isolates of *Escherichia coli* from outpatient are frequently multidrug resistant: result from the North American urinary tract infection collaborative alliance-quinolone resistance study. **Antimicrob Agents Chemother** 2006; 50(6): 2251-4.
- [23] Shigemura K, Wrakawa S, Miura T, Nakano Y, Tanaka K, Fujisawa M. Significance of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* in urinary tract infections. **Jpn J Infect Dis** 2008; 61(3): 226-8.
- [24] Yagci D, Yoruk F, Azap A, Mwmikoglu O. Prevalence and risk factors for selection of quinolone-resistant *Escherichia coli* strains in fecal flora of patients receiving quinolone therapy. **Antimicrob Agents Chemother** 2009; 53(3): 1287-9.
- [25] Avgustin J A, Keber RM, Zerjavic K, Orazem T, Grandbar M. Emergence of the quinolone resistance-mediating gene *aac(6)-Ib-cr* in extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella* isolates collected in Sloveni between 2000 and 2005. **Antimicrob Agents Chemother** 2007; 51(11): 4771-3.
- [26] Pereira AS, Andrade SS, Montero J, Sader HS, Pignatary ACC, Gales AC. Evaluation of the susceptibility profiles, genetic similarity and present of *qnr* genes in *Escherichia coli* resistant to ciprofloxacin isolated in Brazilian hospitals. **Braz J Infect Dis** 2007; 11(1): 40-3.
- [27] Corkill JE, Anson JJ, Hart CA. High prevalence of the plasmid-mediated quinolone resistance determinant *qnrA* in multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* from blood cultures in Liverpool, UK. **J Antimicrob Chemother** 2005; 56(3): 1115-17.
- [6] Zhou TL, Chen XJ, Zhou MM, Zhao YJ, Luo HZ, Bao QU. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Escherichia coli* isolated in Wenzhou, southern China, 2002-2008. **Jpn J Infect Dis** 2011; 64(1): 55-7.
- [7] Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide, emergence of plasmid mediated quinolone resistance. **Lancet Infect Dis** 2006; 6(1): 629-40.
- [8] Cattoir V, Poirel L, Rotimi V, Soussy CJ, Nordman P. Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated quinolone resistance *qnr* genes in ESBL-producing enterobacterial isolated. **J Antimicrob Chemother** 2007; 60(4): 394-7.
- [9] Robicsek A, Sahm DF, Strahilevitz J, Jacoby GA, Hooper DC. Broader distribution of plasmid-mediated quinolone resistance in United States. **Antimicrob Agents Chemother** 2005; 49(7): 3001-3.
- [10] Bouchakour M, Zerouali KH, Claude JD, Amarouch H, Mdaghri NE, Courvalian P, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance in expanded spectrum β -lactamase producing *enterobacteriaceae* in Morocco. **J Infect Dev Contr** 2010; 12(4): 799-803.
- [11] Tripathi A, Dutta SA, Magumdar M, Dhara L, Benerjee D, Roy K. High prevalence and significant association of ESBL and QNR genes in pathogenic *klebsiella pneumoniae* isolates of patients from Kolkata, India. **Indian J Microbiol** 2012; 52(4): 557-64.
- [12] Stephenson S, Brown PD, Holness A, Wilks M. The Emergence of *Qnr*-Mediated Quinolone Resistance among *Enterobacteriaceae* in Jamaica. **West Indian Med J** 2010; 59(3): 241-4.
- [13] Karlowsky JA, Hoban DJ, Decorby MR, Laing NM, Zhanel GG. Fluoroquinolone-resistant urinary isolates of *Escherichia coli* from outpatients are frequently multidrug resistant: results from the North American urinary tract infection collaborative alliance-quinolone resistance study. **Antimicrob Agents Chemother** 2005; 50(6): 2251-4.
- [14] Poirel L, Cattoir V, Nordmann P. Plasmid-mediated quinolone resistance; interactions between human, animal, and environmental ecologies. **Front Microbiol** 2012; 3(1): 24.
- [15] Pakzad I, Ghafourian S, Taherikalani M, Sadeghifard N, Abtahi H, Rahbar M, et al. *Qnr* prevalence in extended spectrum-lactamases (ESBLs) and non-ESBL producing *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections in central of Iran. **Iran J Basic Med Sci** 2011; 14(5): 458-64.
- [16] Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Text book of diagnostic microbiology. 4th ed. Saunders Elsevier; 2006. p. 430-5.
- [17] Clinical and laboratory standard institute. Performance standard for antimicrobial susceptibility testing. M100-S17. Wayne: CLSI; 2007.

[29] 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.

[28] Oktem IM, Gulay Z, Bicmen M, GUR D. *QnrA* prevalence in extended-spectrum β -lactamase positive *Enterobacteriaceae* isolates from Turkey. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61(5): 13-17.