Avicenna Journal of Clinical Medicine No 93, Volume 26, Issue 3, Autumn 2019, Pages: 173-180

Original Article

doi: 10.29252/ajcm.26.3.173

Phenotypic and Genotypic Study of Antibiotic Resistance among *Escherichia coli* Isolates from Human Urinary Infection Cases in Bojnord Province

Mohadese Amiri[1], Hamidreza Farzin[2], Majid Jamshidian-Mojaver[2,*]

[1] *MSc in Bacteriology, School of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran*
[2] *Assistant Professor-Mashhad Branch, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, Iran*

**** Corresponding Author:*** *Majid Jamshidian-Mojaver, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, Iran. Email: mjmojaver@yahoo.com*

Received: 19.08.2019
Accepted: 17.11.2019

How to Cite this Article:
Amiri M, Farzin H, Jamshidian-Mojaver M. Phenotypic and Genotypic Study of Antibiotic Resistance among *Escherichia coli* Isolates from Human Urinary Infection Cases in Bojnord Province. *Avicenna J Clin Med*. 2019; 26(3): 173-180. DOI: 10.29252/ajcm.26.3.173

Abstract

Background and Objective: Bacterial agents are the most common causes of urinary infection with *Escherichia coli* as the major causative organism. Accordingly, the current study aimed to determine the antibiotic resistance among *Escherichia coli* isolates from human urinary infection cases.
Materials and Methods: The current experimental study was carried out on 50 specimens of positive cultures with urinary tract infection referred to Imam Reza Hospital Laboratory in Bojnord, Iran. The resistance and susceptibility of the isolates were assessed using disc diffusion method. Moreover, the presence of *tetA*, *blaTEM*, *Sul1*, *aac(3)-IV*, and *aadA1* gens was examined using molecular methods with specific primers.
Results: Prevalence of antibiotic resistance to ampicillin, cotrimaxazole, levofloxacin, nalidixic acid, ciprofloxacin, gentamicin, and nitrofurantoin was measured at 84%, 60%, 60%,52%, 44%, 22%, and 6%, respectively. in total, 50 *E.* coli strains were isolated were examined to determine blaTEM, aac(3)-IV, tetA, Sul, and aadA1 genes using polymerase chain reaction(PCR). Based on the obtained results, the frequency of *blaTEM*, *aac(3)-IV*, *tetA*, *Sul1*, *aac(3)-IV*, and *aadA1* genes was reported as 24%, 12%,10%, 8%, and 14%, respectively.
Conclusion: Disk diffusion agar method can be used as a primary screening method to determine antibiotic susceptibility for *Escherichia coli* isolates separated from urinary tract infections. In addition, genotypic method can be implemented for the accurate evaluation of the resistance of the isolates.

Keywords: Antibiogram, Antibiotic Resistance, Urinary Tract Infection

Copyright © 2019 Avicenna Journal of Clinical Medicine

مقاله پژوهشی

doi: 10.29252/ajcm.26.3.173

بررسی فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های اشریشیاکلی از موارد عفونت‌های ادراری در شهرستان بجنورد

محدثه امیری[۱]، حمیدرضا فرزین[۲]، مجید جمشیدیان مجاور[۲،*]

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد باکتری‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

[۲] استادیار، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شعبه مشهد، مشهد، ایران

* **نویسنده مسئول:** مجید جمشیدیان مجاور، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شعبه مشهد، مشهد، ایران. ایمیل: mjmojaver@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۵/۲۸

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۸/۲۶

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی همدان محفوظ است.

چکیده

سابقه و هدف: شایع‌ترین عوامل ایجادکننده عفونت ادراری، عوامل باکتریایی می‌باشند که در این میان، باکتری *اشریشیاکلی* یکی از عوامل مهم در ایجاد این بیماری است. در این راستا، مطالعه حاضر با هدف تعیین میزان مقاومت باکتری *اشریشیاکلی* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های گروه‌های گوناگون در موارد عفونت ادراری انجام شد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر ۵۰ نمونه از کشت‌های مثبت دارای عفونت ادراری ارجاع داده شده به آزمایشگاه بیمارستان "امام رضای" شهرستان بجنورد مورد بررسی قرار گرفت. بررسی مقاومت و حساسیت جدایه‌ها با استفاده از روش دیسک دیفیوژن انجام شد. حضور ژن‌های *tetA*، *blaTEM*، *Sul1*، *aac(3)-IV* و *aadA1* نیز به روش مولکولی با پرایمرهای اختصاصی بررسی گردید.

یافته‌ها: میزان شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی، آمپی‌سیلین، کوتریماکسازول، لووفلوکساسین، اسید نالیدیکسیک، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین و نیتروفورانتوئین به‌ترتیب معادل ۸۴، ۶۰، ۶۰، ۵۲، ۴۴، ۲۲ و ۶ درصد بود. در مجموع، در این مطالعه ۵۰ جدایه باکتری *E. coli* جهت تعیین ژن‌های *blaTEM*، *aac (3) -IV*، *tetA*، *Sul1* و *aadA1* با استفاده از PCR (Polymerase Chain Reaction) مورد بررسی قرار گرفتند که بر مبنای نتایج، فراوانی ژن‌های *blaTEM*، *aac (3) -IV*، *tetA*، *Sul1* و *aadA1* به‌ترتیب معادل ۲۴، ۱۲، ۱۰، ۸ و ۱۴ درصد بودند.

نتیجه‌گیری: روش دیسک دیفیوژن آگار می‌تواند به‌عنوان یک روش غربال‌گری اولیه برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای جدایه‌های *اشریشیاکلی* جداشده از موارد عفونت ادراری به کار رود. برای بررسی دقیق میزان مقاومت جدایه‌ها نیز می‌توان از روش ژنوتیپی استفاده کرد.

واژگان کلیدی: آنتی‌بیوگرام، عفونت ادراری، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

مقدمه

عفونت ادراری یکی از شایع‌ترین عفونت‌های باکتریایی می‌باشد و هر ساله ۱۵۰ میلیون نفر در سراسر دنیا با این عفونت درگیر می‌باشند [۱].

عفونت‌های ادراری همچون سیستیت و پیلونفریت از جمله عفونت‌های شایع در جوامع و بیمارستان‌ها هستند و باکتری *اشریشیاکلی*، پاتوژن غالب در ایجاد این عفونت‌ها می‌باشد [۲]. امروزه مقاومت آنتی‌بیوتیکی به یک چالش مهم در درمان و کنترل بیماری‌های عفونی (عفونت ادراری) تبدیل شده است و به‌عنوان یک تهدید برای سلامتی عمومی انسان‌ها تلقی می‌گردد [۳]. آگاهی از الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نقش مهمی را در انتخاب بهترین آنتی‌بیوتیک برای درمان ایفا می‌کند [۴]. گسترش روزافزون مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی منجر به بروز مشکلاتی در راستای درمان شده است. بررسی‌های ژنوتیپی نشان می‌دهند که برخی از سویه‌های *اشریشیاکلی* در برابر تعدادی از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند و از آنجایی که از راه‌های مختلف مانند پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و اینتگرون‌ها قادر به انتقال عوامل ژنتیکی مقاومت به سویه‌های دیگر می‌باشند، شاهد افزایش قابل‌ملاحظه این مقاومت‌ها هستیم [۵،۶]. این مقاومت‌های

آنتی‌بیوتیکی در حیوانات از طریق گوشت یا دیگر محصولات وارد زنجیره غذایی انسان می‌شوند؛ به همین دلیل است که مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی، تهدیدی برای سلامت انسان و حیوان بوده و باید جدی گرفته شوند [۷].

مطالعات نشان داده‌اند که بروز این مقاومت‌ها به دلیل حضور ژن‌های مقاومت، گوناگون می‌باشد. این ژن‌ها شامل موارد زیر می‌باشند: ژن‌های کدکننده بتالاکتاماز: این ژن‌ها به دلیل داشتن آنزیم بتالاکتاماز موجب شکافتن پیوند آمیدی حلقه بتالاکتام و در نتیجه غیرفعال‌شدن آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شوند. برخی از این ژن‌ها عبارت هستند از: bla_{SHV}، $bla_{CTX-M-2}$، bla_{TEM} (این آنزیم موجب مقاومت به پنی‌سیلین و سفالوسپورین‌های نسل اول می‌گردد) و bla_{OXA} [۸]؛ ژن‌های ایجادکننده مقاومت در برابر آمینوگلیکوزیدها: این ژن‌ها به وسیله آنزیم‌های مختلف موجب تغییر آمینوگلیکوزیدها و در نتیجه غیرفعال‌شدن دارو می‌شوند. تعدادی از این ژن‌ها عبارت هستند از: *aadA1* (به وسیله آنزیم آدنیل ترانسفراز، مقاومت نسبت به استرپتومایسین و اسپکتینومایسین ایجاد می‌کند)، *aphA* (یک آمینوگلیکوزید فسفوترانسفراز است و نسبت به کانامایسین مقاومت ایجاد می‌کند) و *aac(3)-I* [۹]؛ ژن‌های ایجادکننده مقاومت در برابر تتراسایکلین‌ها: این ژن‌ها با سه مکانیسم ایجاد مقاومت می‌کنند: الف. از طریق تولید یک پروتئین محلول که با GTPase همولوگ است، از ریبوزوم باکتری‌ها در برابر تتراسایکلین محافظت می‌کنند، ب. به وسیله پمپ‌های efflux باعث خروج آنتی‌بیوتیک‌ها و کاهش غلظت آن‌ها در سلول می‌شوند، ج. موجب تغییر در ساختمان تتراسایکلین می‌شوند. نمونه‌ای از این ژن‌ها عبارت هستند از: *tetB*، *tetA* و *tetC* [۱۰]؛ ژن‌های ایجادکننده مقاومت در برابر سولفونامیدها: نمونه‌ای از این ژن‌ها که شامل: *sulI* و *sulII* می‌باشد، آنزیم دی‌هیدروپترویک اسید سنتتاز را مهار می‌کند [۱۱].

با توجه به اهمیت موارد ذکرشده، مطالعه حاضر با هدف تعیین میزان مقاومت باکتری *اشریشیاکلی* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های گروه‌های گوناگون در موارد عفونت ادراری انجام شد.

مواد و روش‌ها

در مطالعه تجربی حاضر ۵۰ نمونه از کشت‌های مثبت دارای عفونت ادراری ارجاع داده شده به آزمایشگاه مستقر در بیمارستان "امام رضا" شهرستان بجنورد مورد بررسی قرار گرفت. پلیت‌های دارای باکتری‌هایی که در محیط کشت ائوزین متیلن بلو آگار (مرک، آلمان) دارای جلای سبز رنگ و در محیط مک‌کانکی آگار (مرک، آلمان) دارای کلنی‌های صورتی رنگ و صاف بودند به‌عنوان جدایه‌های مشکوک به *اشریشیاکلی* انتخاب شدند و پس از تأیید توسط آزمایش‌های بیوشیمیایی نظیر آزمون اوره، سیمون سیترات، TSI (Triple Sugar Iron) و SIM (Sulfid Indol Motility) (مرک، آلمان) جهت تأیید جدایه‌ها صورت پذیرفت.

تعیین میزان حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های مورد مطالعه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین، جنتامایسین، کوتریماکسازول، آمپی‌سیلین و نیتروفورانتوئین

به‌منظور تعیین میزان حساسیت و مقاومت سویه‌های *اشریشیاکلی* جداشده از ۵۰ نمونه از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در مقابل آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، کوتریماکسازول (۲۵ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکروگرم)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم) و لووفلوکساسین (۵ میکروگرم) (کرج، پادتن طب) آنتی‌بیوگرام بـه روش دیسک دیفیوژن آگار صورت پذیرفت. در ایـن روش کـه روشی عادی و رایـج اسـت، باکتری مورد نظر روی محیط کشت اختصاصی، کشت داده شده و پس از طی مدت زمان انکوباسیون، یک کلنی از هر جدایه انتخاب می‌گردد و به محیط مایع مولر هینتون براث (مرک، آلمان) انتقال داده می‌شود. پس از رسیدن به کدورت نیم مک‌فارلند، با استفاده از سوآب استریل از محیط مایع برداشته می‌شود و به‌صورت چمنی روی محیط مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) کشت داده شده و در ادامه، دیسک‌های آنتی‌بیوتیک مورد مطالعه با فاصله مناسب با کمک پنس استریل روی محیط قرار داده می‌شوند و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجـه، مقاومـت یـا حساسیت براسـاس انـدازه‌گیـری منطقـه عـدم رشـد بررسی گردیده و نتایج آن با کمک جدول CLSI بررسی می‌شود [۱۲].

استخراج DNA

برای استخراج DNA از روش جوشاندن استفاده گردید [۱۳].

روش PCR جهت ردیابی ژن‌های tetA، blaTEM، Sul1، aadA1 و aac(3)-IV

برای انجام PCR به‌منظور ردیابی ژن‌ها از پرایمرهای اختصاصی معرفی‌شده در جدول ۱ استفاده گردید. همچنین از سویه استاندارد *کلبسیلا* ATCC ۷۰۰۶۰۳ به‌عنوان کنترل مثبت ژن *blaTEM* بهره گرفته شد و برای ژن‌های *tetA*، *Sul1*، *aadA1* و *aac(3)-IV* از کنترل‌های مثبت مطالعه نادری و همکاران استفاده گردید. از آب دیونیزه نیز به‌عنوان کنترل منفی استفاده

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده برای ردیابی ژن‌ها

ژن	اندازه محصول (bp)	منبع
tetA	۵۰۲	[۱۵]
blaTEM	۲۴۷	[۱۵]
Sul1	۴۳۳	[۱۶]
aadA1	۴۴۷	[۱۷]
aac(3)-IV	۲۸۶	[۱۸]

شد [۱۴].

به‌منظور انجام PCR از ۱۲/۵ میکرولیتر مستر میکس آماده (BIOFACT، کره)، ۰/۱ از هرکدام از پرایمرها (ژن فن‌آوران ایران)، ۵ میکرولیتر از DNA نمونه‌های مورد نظر و آب مقطر استریل تا حجم واکنش (۲۵ میکرولیتر) استفاده گردید.

برنامه دمایی مورد استفاده جهت ردیابی ژن‌های مذکور در دستگاه ترموسایکلر (اپندورف- آلمان) در منابع جدول ۱ ارائه شده است. برای شناسایی سویه‌هایی که از نظر ژن‌ها و توالی‌های مورد نظر مثبت بودند، تمامی محصولات PCR روی ژل آگارز ۰/۸ درصد (سینا ژن، ایران) الکتروفورز گردیدند. بدین‌منظور، ابتدا بافر TBE تهیه شد و پس از ساخت ژل آگارز، نمونه‌ها در آن الکتروفورز گردیدند و از ژل مربوطه توسط ژل داک (Optigo ISOGENE) عکس‌برداری شد و مورد بررسی قرار گرفت.

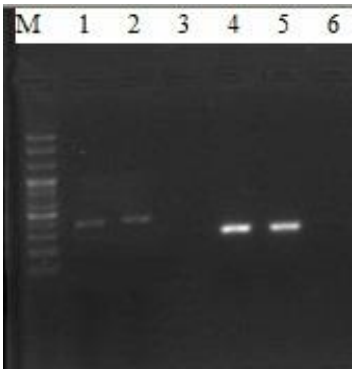
یافته‌ها

نتیجه آزمایش PCR برای شناسایی ژن‌های tetA، blaTEM، aadA1، aac(3)-IV و Sul1

از میان ۵۰ جدایه مورد بررسی، ۳۴ جدایه دارای ژن مقاومت آنتی‌بیوتیکی بودند که از بین آن‌ها ۲۴ درصد (۱۲ ایزوله) دارای ژن *blaTEM*، ۱۴ درصد (هفت ایزوله) دارای ژن *aadA1*، ۱۲ درصد (شش ایزوله) دارای ژن *aac(3)-IV*، ۱۰ درصد (پنج ایزوله) دارای ژن *tetA* و ۸ درصد (چهار ایزوله) دارای ژن *Sul1* بودند. جدول ۲ و شکل‌های ۱، ۲ و ۳ بیانگر نتایج آزمایش PCR در مورد ژن‌های مورد بررسی می‌باشند. شایان ذکر است که در این مطالعه از سویه استاندارد *کلبسیلا ATCC ۷۰۰۶۰۳* به‌عنوان کنترل مثبت ژن *blaTEM* بهره گرفته شد و برای ژن‌های *tetA*، *Sul1*، *aadA1* و *aac(3)-IV* از کنترل‌های مثبت مطالعه نادری و همکاران استفاده گردید. از آب دیونیزه نیز به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد [۱۴].

جدول ۲: فراوانی ژن‌های مورد مطالعه

عوامل آنتی‌میکروبیال	ژن	درصد فراوانی
Oxytetracycline	*tetA*	۱۰
β-Lactamase	*blaTEM*	۲۴
Sulfonamide	*Sul1*	۸
Streptomycin	*aadA1*	۱۴
Gentamicin	*aac(3)-IV*	۱۲

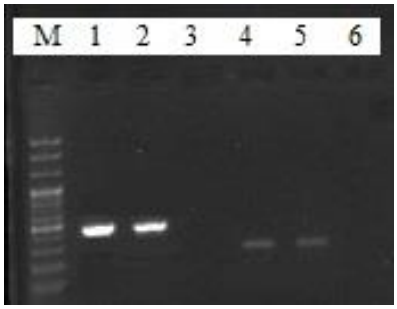


شکل ۱: نتیجه آزمایش PCR برای شناسایی ژن‌های *aadA1* و *Sul1*

M: lad ۱۰۰ bp (BIOFACT-Korea)

ستون شماره ۱: ژن (*aadA1*, ۴۴۷ bp)؛ ستون شماره ۲: کنترل مثبت ژن *aadA1*؛ ستون شماره ۳: کنترل منفی ژن *aadA1*؛

ستون شماره ۴: ژن (*Sul1*, ۴۳۳ bp)؛ ستون شماره ۵: کنترل مثبت ژن *Sul1*؛ ستون شماره ۶: کنترل منفی ژن *Sul1*

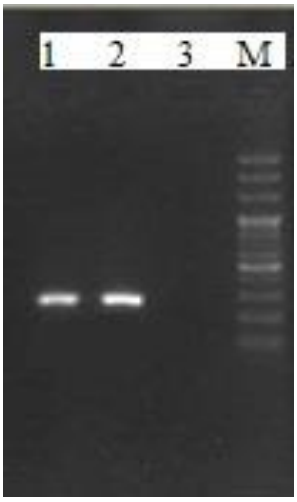


شکل ۲: نتیجه آزمایش PCR برای شناسایی ژن‌های *tetA* و *aac(3)-IV*

M: lad ۱۰۰ bp (BIOFACT-Korea)

ستون شماره ۱: ژن (*tetA*, ۵۰۲ bp)؛ ستون شماره ۲: کنترل مثبت ژن *tetA*؛ ستون شماره ۳: کنترل منفی ژن *tetA*؛

ستون شماره ۴: ژن (*aac(3)-IV*, ۲۸۶ bp)؛ ستون شماره ۵: کنترل مثبت ژن *aac(3)-IV*؛ ستون شماره ۶: کنترل منفی ژن *aac(3)-IV*



شکل ۳: نتیجه آزمایش PCR برای شناسایی ژن *blaTEM*

M: lad ۱۰۰ bp (BIOFACT-Korea)

ستون شماره ۱: ژن (*blaTEM*, ۲۴۷ bp)؛ ستون شماره ۲: کنترل مثبت ژن *blaTEM*؛ ستون شماره ۳: کنترل منفی ژن *blaTEM*

جدول ۳: فراوانی مقاومت و حساسیت جدایه‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه

آنتی‌بیوتیک	حساس	نیمه‌حساس	مقاوم
نالیدیکسیک اسید	۳۰ درصد	۱۸ درصد	۵۲ درصد
سیپروفلوکساسین	۴۰ درصد	۱۶ درصد	۴۴ درصد
لووفلوکساسین	۱۰ درصد	۳۰ درصد	۶۰ درصد
جنتامایسین	۷۸ درصد	۰ درصد	۲۲ درصد
کوتریماکسازول	۳۸ درصد	۲ درصد	۶۰ درصد
نیتروفورانتوئین	۹۴ درصد	۰ درصد	۶ درصد
آمپی‌سیلین	۱۰ درصد	۶ درصد	۸۴ درصد

نتایج میزان حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های مورد مطالعه

نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه نشان دادند که بیشترین میزان مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و کوتریماکسازول بوده است و آنتی‌بیوتیک‌های لووفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین و نیترو-فورانتوئین پس از آن‌ها قرار گرفته‌اند (جدول ۳).

بحث

عفونت‌های ادراری یکی از عفونت‌های شایع و رایجی هستند که از نظر فراوانی پس از بیماری‌های تنفسی قرار می‌گیرند و یکی از عمده‌ترین و مهم‌ترین عفونت‌های باکتریایی در کشورهای صنعتی به شمار می‌آیند؛ به‌طوری که ۴۰ درصد از بیماری‌های عفونی بیمارستانی را عفونت ادراری تشکیل می‌دهد [۱۹].

در مطالعه حاضر از میان ۵۰ ایزوله *اشریشیاکلی* جداشده از کشت‌های مثبت دارای عفونت ادراری ارجاع داده شده به آزمایشگاه مستقر در بیمارستان امام رضای شهرستان بجنورد، میزان مقاومت و حساسیت ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید، آمپی‌سیلین، لووفلوکساسین، کوتریماکسازول، جنتامایسین و نیتروفورانتوئین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین با میزان فراوانی ۸۴ درصد، بیشترین مقاومت را دارند و آنتی‌بیوتیک‌های کوتریماکسازول (۶۰ درصد)، لووفلوکساسین (۶۰ درصد)، نالیدیکسیک اسید (۵۲ درصد)، سیپروفلوکساسین (۴۴ درصد)، جنتامایسین (۲۲ درصد) و نیتروفورانتوئین (۶ درصد) در رتبه‌های بعد از آن قرار داشتند. در این مطالعه میزان حساسیت جدایه‌ها نیز بررسی گردید که بر مبنای نتایج، ۹۴ درصد از ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک نیتروفورانتوئین حساسیت داشتند و آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین (۷۸ درصد)، سیپروفلوکساسین (۴۰ درصد)، کوتریماکسازول (۳۸ درصد)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ درصد)، لووفلوکساسین (۱۰ درصد) و آمپی‌سیلین (۱۰درصد) در رتبه‌های قرار داشتند. با بررسی میزان مقاومت به روش ژنوتیپی نیز مشخص شد که بیشترین میزان مقاومت جدایه‌ها مربوط به ژن *blaTEM* (۲۴ درصد) بوده و ژن‌های *aadA1* (۱۴ درصد)، *aac(3)-IV* (۱۲درصد)، *tetA* (۱۰ درصد) و *Sul1* (۸ درصد) پس از آن قرار دارند.

در مطالعه‌ای که ملاعباس‌زاده و همکاران در تبریز انجام دادند، بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها مربوط به

آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین به میزان ۸۳/۹۵ درصد، جنتامایسین ۴۳/۱۱ درصد، کوتریماکسازول ۶۳/۹۲ درصد، نالیدیسیک اسید ۴۳/۹۸ درصد، آمیکاسین ۳۱/۹۶ درصد، سفتریاکسون ۳۳/۰۱ درصد و نیتروفورانتوئین با ۱۰/۹۸ درصد بود [۲۰]. این نتایج با یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر در مورد میزان فراوانی آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، کوتریماکسازول و نیتروفورانتوئین اختلاف اندکی دارد؛ اما این اختلاف در مورد میزان فراوانی آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید چشمگیر بوده و می‌تواند نشان‌دهنده استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها در عرصه‌های پزشکی و یا در تولیدات مواد غذایی باشد.

از سوی دیگر در مطالعه کیخا و همکاران در ارتباط با ۸۷ نمونه باکتری *اشرشیاکلی* جداشده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری، میزان مقاومت به ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه عبارت بود از: کوتریماکسازول ۶۶/۶ درصد، نالیدیکسیک اسید ۶۳ درصد، سفتازیدیم ۴۴/۸ درصد، نیتروفورانتوئین ۲۶/۱ درصد، آمیکاسین ۱۹/۵ درصد، جنتامایسین ۱۳/۷ درصد و ایمی‌پنم ۴/۵ درصد [۲۱]. نتایج حاصل از این مطالعه در مورد میزان فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیک کوتریماکسازول تقریباً مشابه با یافته‌های مطالعه حاضر بود؛ اما در ارتباط با میزان فراوانی آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید، نیتروفورانتوئین و جنتامایسین با نتایج مطالعه حاضر اختلاف داشت که این اختلاف می‌تواند نشان‌دهنده مصرف بی‌رویه این آنتی‌بیوتیک‌ها، ایجاد ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی و انتقال این ژن‌ها در باکتری *اشریشیاکلی* باشد. همچنین می‌توان به تکمیل‌نشدن دوره درمانی عفونت‌ها در بیماران در ارتباط با مقاومت ایجادشده اشاره نمود.

در مطالعه محمدی‌مهر و همکاران، مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین، جنتامایسین و نیتروفورانتوئین در باکتری *اشریشیاکلی* به‌ترتیب معادل ۵۸/۳۳، ۲۷/۷۷ و ۱۳/۸۸ درصد گزارش شده است [۲۲]. نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه مذکور با نتایج مطالعه حاضر مطابقت ندارد که این عدم همخوانی می‌تواند نشان‌دهنده عدم اطلاعات کافی مردم در مورد نحوه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های فوق در طول دوره درمانی در بیماری‌های عفونی باشد.

از سوی دیگر در مطالعه شریفی یزدی و همکاران که در شهر خوی صورت گرفت، میزان مقاومت به کوتریماکسازول معادل ۵۹/۶۲ درصد گزارش گردید [۲۳] که این مهم با نتایج مطالعه حاضر تقریباً دارای تطابق می‌باشد (این میزان در مطالعه حاضر ۶۰ درصد بود).

سوادکوهی براری و همکاران نیز در مطالعه خود میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های نیترو-فورانتوئین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید، کوتریماکسازول، آمپی‌سیلین، سفکسیم و سفالکسین را در ارتباط با ۱۱۴ جدایه *اشریشیاکلی* از موارد عفونت ادراری در شهرستان بابل مورد ارزیابی قرار دادند. بر مبنای نتایج، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به آمپی‌سیلین (۸۷ درصد) بود [۲۴] نتایج این مطالعه با یافته‌های مطالعه حاضر مشابه می‌باشد.

علاوه‌براین، در مطالعه‌ای که توسط نی و همکاران در شش کشور اروپایی از جمله فنلاند، آلمان، لتونی، لهستان، روسیه و سوئد در سال ۲۰۱۷ انجام شد، ۷۷۵ ایزوله *اشریشیاکلی* از موارد عفونت ادراری جمع‌آوری گردید و آزمایش حساسیت ضدمیکروبی ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، تری‌متوپریم، فسفومایسین، نیتروفورانتوئین، سیپروفلوکساسین، آموکسی‌سیلین کلاوولانیک اسید، مسیلینام و مروپنم انجام شد. بر مبنای نتایج میزان مقاومت جدایه‌ها به‌طور میانگین عبارت بود از: نیتروفورانتوئین ۱/۲ درصد، فسفومایسین ۱/۳ درصد، مسیلینام ۴/۱ درصد، آمپی‌سیلین ۳۹/۶ درصد، تری‌متوپریم ۲۳/۸ درصد، سولفامتوکسازول ۲۲/۴ درصد، آموکسی‌سیلین کلاوولانیک اسید ۱۶/۷ درصد، سیپروفلوکساسین ۱۵/۱ درصد و مروپنم ۰ درصد [۲۵]. نتایج حاصل از این مطالعه تفاوت زیادی با میزان مقاومت آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده (نیتروفورانتوئین، آمپی‌سیلین و سیپروفلوکساسین) در مطالعه حاضر دارد که این تفاوت می‌تواند نشان‌دهنده استفاده صحیح از آنتی‌بیوتیک‌ها و تکمیل دوره درمانی آن‌ها از سوی بیماران در کشورهای اروپایی باشد.

از سوی دیگر در مطالعه‌ای که توسط کاستیلو و همکاران در سال ۲۰۱۸ در مکزیک صورت گرفت، ۱۱۰ ایزوله از موارد بالینی مبتلا به عفونت ادراری جمع‌آوری شد. میزان مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین ۴۷/۳ درصد، لووفلوکساسین ۴۳/۶ درصد، نیتروفورانتوئین ۱۲/۷ درصد، آمپی‌سیلین ۷۰/۹ درصد، آمپی‌سیلین سولباکتام ۵۵/۵ درصد، آموکسی‌سیلین- کلاوولانیک اسید ۲۳/۶ درصد، سفازولین ۴۱/۸ درصد، سفوتاکسیم ۱۸/۲ درصد، سفتازیدیم ۲۴/۵ درصد و جنتامایسین ۲۸/۲ درصد گزارش شد [۲۶]. نتایج حاصل از این مطالعه در مورد میزان مقاومت آنتی‌بیوتیک‌های لووفلوکساسین، نیتروفورانتوئین، سیپروفلوکساسین، آمپی‌سیلین و جنتامایسین دارای تشابه تقریبی با یافته‌های مطالعه حاضر می‌باشد.

در مطالعه درمنش و همکاران نیز ۱۲۱ جدایه *اشریشیاکلی* جداشده از موارد پیلونفریت و التهاب مثانه جمع‌آوری شد و میزان مقاومت جدایه‌ها به‌صورت ژنوتیپی در ارتباط با جدایه‌ها بررسی گردید. بر مبنای نتایج، ژن‌های کدکننده مقاومت به جنتامایسین (*aac(3)-IV*) ۹۶/۷ درصد، داروهای بتالاکتام (*blaTEM*) ۸۸/۷ درصد و تتراسایکلین (*tetA*) ۸۲/۸ درصد گزارش شدند [۲۷].

علاوه‌براین، پاک‌نژاد و همکاران در مطالعه خود میزان حضور ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های جداشده از موارد عفونت ادراری شامل: ژن‌های *tetA*، *cmlA*، *Cat1*، *blaSHV*، *sul1*، *aac(3)-IV* و *aadA 1* را مورد بررسی قرار دادند. نتایج به‌دست‌آمده حاکی از آن بودند که بیشترین میزان فراوانی مقاومت این باکتری مربوط به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین (۹۳/۱۰ درصد) بوده است و ژن‌های *tetA* و *Sul1* به‌ترتیب با فراوانی

۷۵/۸۶ و ۷۲/۴۱ درصد از شایع‌ترین ژن‌ها می‌باشند [۲۸].

باید خاطرنشان ساخت که یافته‌های مطالعه حاضر در مقایسه با نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه انجام‌شده توسط پاک‌نژاد و درمنش، دارای تفاوت‌های بسیار و معناداری می‌باشد که این اختلاف می‌تواند نشان‌دهنده استفاده بی‌رویه و خودسرانه آنتی‌بیوتیک در موارد بیماری‌های عفونی از جمله عفونت ادراری باشد.

در این راستا، در مطالعه کاستیلو و همکاران میزان فراوانی و شیوع ژن‌های *blaTEM*، *qnrA* و *acc-(6')-lb* مورد بررسی قرار گرفت و بیان گردید که میزان فراوانی ژن *blaTEM* ۱۲/۴ درصد، *qnrA* ۲۲/۷ درصد و *acc-(6')-lb* ۶/۴ درصد می‌باشد [۲۶]. میزان فراوانی ژن *blaTEM* در این مطالعه نسبت به مطالعه حاضر تفاوت دارد که می‌تواند نشان‌دهنده استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام در درمان عفونت ادراری باشد.

از سوی دیگر در مطالعه‌ای که توسط آداموس- بیالک و همکاران در سال ۲۰۱۸ در لهستان انجام شد، ۱۲۷ نمونه مربوط به بیماران مبتلا به عفونت ادراری از نظر مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به ژن‌های بتا-لاکتاماز (*blaTEM*)، آمینوگلیکوزیدها (*aac(3)-II*) و سولفونامیدها (*sulI*) مورد بررسی قرار گرفتند. براساس نتایج به‌دست‌آمده، میزان مقاومت نسبت به *sulI* ۱۴ درصد، آمینوگلیکوزیدها ۲۴ درصد و بتالاکتام‌ها ۱۹/۵ درصد بود [۲۹]. براساس یافته‌های به‌دست‌آمده از این مطالعه و نتایج حاصل از مطالعه حاضر، میزان مقاومت جدایه‌ها در هر دو مطالعه مشابه می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان دادند که روش دیسک دیفیوژن آگار می‌تواند به‌عنوان یک روش غربالگری اولیه برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای جدایه‌های *اشریشیاکلی* جداشده از موارد عفونت ادراری به کار رود. برای بررسی دقیق میزان مقاومت جدایه‌ها نیز می‌توان از روش ژنوتیپی استفاده کرد.

لازم به ذکر است که امروزه به دلیل مصرف بی‌رویه و خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌ها، افزایش روزافزون مقاومت نسبت به آن‌ها و نیز به‌وجودآمدن ژن‌ها و جهش‌های خاص در باکتری‌ها، انجام آزمایشات مقاومت آنتی‌بیوتیکی در آزمایشگاه‌ها لازم و ضروری می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان از کارکنان آزمایشگاه تحقیقات مؤسسه "تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی" شعبه شمال شرق کشور و نیز کارکنان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان که از هیچ کوششی در راستای انجام این مطالعه دریغ ننمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تضاد منافع

بین نویسندگان و نتایج این مطالعه هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر در تکمیل پایان‌نامه کارشناسی ارشد باکتری‌شناسی با موضوع "بررسی فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت نسبت به فلورکینولون‌ها در جدایه‌های *اشریشیاکلی* از موارد عفونت‌های ادراری در شهرستان بجنورد" مصوب دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شده است؛ از این رو نیازی به اخذ کد اخلاق نبود.

سهم نویسندگان

نویسنده اول (پژوهشگر اصلی) تدوین بخش‌های مقدمه، نتایج، روش‌شناسی و کمک در نگارش مقاله (۳۳ درصد)، نویسنده دوم (پژوهشگر اصلی) تدوین بخش‌های نتایج و بحث و نگارش و ویرایش مقاله (۳۳ درصد)، نویسنده سوم (پژوهشگر اصلی) تدوین بخش‌های نتایج و بحث و نگارش و ویرایش مقاله (۳۴ درصد)

حمایت مالی

مطالعه حاضر از سوی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی مشهد پشتیبانی مالی شده است.

REFERENCES

1. Foxman B. Urinary tract infection syndromes: occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors, and disease burden. *Infect Dis Clin North Am*. 2014;**28**(1):1-13. PMID: 24484571 DOI: 10.1016/j.idc.2013.09.003
2. Ronald AR, Nicolle LE, Stamm E, Krieger J, Warren J, Schaeffer A, et al. Urinary tract infection in adults research priorities and strategies. *Int J Antimicrob Agents*. 2001; **17**(4):343-8. PMID: 11295419 DOI: 10.1016/s0924-8579(01)00303-x
3. Amiri M, Jajarmi M, Ghanbarpour R. Prevalence of resistance to quinolone and fluoroquinolone antibiotics and screening of *qnr* genes among *Escherichia coli* isolates from urinary tract infection. *Int J Enteric Pathog*. 2017;**5**(4):100-5. DOI: 10.15171/ijep.2017.24
4. Trabulsi LR, Keller R, Tardelli Gomes TA. Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. *Emerg Infect Dis*. 2002;**8**(5):508-13. PMID: 11996687 DOI: 10.3201/eid0805.010385
5. Davis MA, Besser TE, Orfe LH, Baker KN, Lanier AS, Broschat SL, et al. Genotypic-phenotypic discrepancies between antibiotic resistance characteristics of *Escherichia coli* isolates from calves in management settings with high and low antibiotic use. *Appl Environ Microbiol*. 2011; **77**(10):3293-9. PMID: 21421795 DOI: 10.1128/AEM.02588-10
6. Lee JC, Oh JY, Cho JW, Park JC, Kim JM, Seol SY, et al. The prevalence of trimethoprim-resistance-conferring dihydrofolate reductase genes in urinary isolates of *Escherichia coli* in Korea. *J Antimicrob Chemother*. 2001;**47**(5):599-604. PMID: 11328770 DOI: 10.1093/jac/47.5.599
7. Ghanbarpour R, Daneshdoost S. Identification of shiga toxin and intimin coding genes in *Escherichia coli* isolates from pigeons (Columba livia) in relation to phylotypes and

antibiotic resistance patterns. *Trop Anim Health Prod*. 2012;**44**(2):307-12. PMID: 22105907 DOI: 10.1007/s11250-011-0021-0
8. Colom K, Pérez J, Alonso R, Fernández-Aranguiz A, Lariño E, Cisterna R. Simple and reliable multiplex PCR assay for detection of bla_{TEM}, bla_{SHV} and bla_{OXA-1}genes in *Enterobacteriaceae*. *FEMS Microbiol Lett*. 2003;**223**(2):147-51. PMID: 12829279 DOI: 10.1016/S0378-1097(03)00306-9
9. Randall LP, Cooles SW, Osborn MK, Piddock LJ, Woodward MJ. Antibiotic resistance genes, integrons and multiple antibiotic resistance in thirty-five serotypes of *Salmonella enteric* isolated from humans and animals in the UK. *J Antimicrob Chemother*. 2004;**53**(2):208-16. PMID: 14729766 DOI: 10.1093/jac/dkh070
10. Lin CH, Hou RF, Shyu CL, Shia WY, Lin CF, Tu WC. In vitro activity of mastoparan-AF alone and in combination with clinically used antibiotics against multiple-antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolates from animals. *Peptides*. 2012;**36**(1):114-20. PMID: 22561066 DOI: 10.1016/j.peptides.2012.03.002
11. Antunes P, Machado J, Sousa JC, Peixe L. Dissemination of sulfonamide resistance genes (*sul1*, *sul2*, and *sul3*) in Portuguese *Salmonella enteric* Strains and Relation with Integrons. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;**49**(2):836-9. PMID: 15673783 DOI: 10.1128/AAC.49.2.836-839.2005
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-second informational supplement. CLSI document M100–S22. Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016.
13. Askari Badouei M, Jajarmi M, Mirsalehian A. Virulence profiling and genetic relatedness of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from humans and ruminants. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2015;**38**:15-20. PMID: 25534186 DOI: 10.1016/j.cimid.2014.11.005
14. Naderi Z, Ghanbarpour R, Sami M. Antimicrobial resistance characteristics and phylogenetic groups of *Escherichia coli* isolated from diarrheic calves in southeast of Iran. *Int J Enteric Pathog*. 2016;**4**(4):537-48. DOI: 10.15171/ijep.2016.15
15. Kozak G, Boerlin P, Janecko N, Jardine C. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from swine and wild small mammals in the proximity of swine farms and in natural environments in Ontario, Canada. *Appl Environ Microbiol*. 2009;**75**(3):559-66. PMID: 19047381 DOI: 10.1128/AEM.01821-08
16. Kerrn MB, Klemmensen T, Frimodt-Møller N, Espersen F. Susceptibility of Danish *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections and bacteraemia, and distribution of *sul* genes conferring ulphonamide resistance. *J Antimicrob Chemother*. 2002;**50**(4):513-6. PMID: 12356795 DOI: 10.1093/jac/dkf164
17. Machado E, Coque TM, Canton R, Novais A, Sousa JC, Baquero F, et al. High diversity of extended-spectrum beta-lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* from Portugal. *J Antimicrob Chemother*. 2007;**60**(6):1370-4. PMID: 17913717 DOI: 10.1093/jac/dkm381
18. Van TT, Chin J, Chapman T, Tran LT, Coloe PJ. Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. *Int J Food Microbiol*. 2008;**124**(3):217-23. PMID: 18457892 DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.029
19. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. As nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev*. 1998;**11**(4): 589-603. PMID: 9767057
20. Molaabaszadeh H, Hajisheikhzadeh B, Mollazadeh M, Eslami K, Mohammadzadeh Gheshlaghi N. The 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. [Persian]
21. Keikha M, Rava M. Evaluation of antibiotic resistance of *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections in outpatients referring to Nabi Akram Hospital in Zahedan. *J Paramed Sci Rehabil*. 2017;**6**(4):73-8. [Persian]
22. MohamadiMehr M, Faizabadi MM, Bahadori O. Antibiotic resistance patterns of gram-negative bacilli responsible for nosocomial infections in hospital intensive care department of family and Golestan Tehran 2007. *J Army Univ Med Sci*. 2010;**8**(4):283-90.
23. Sharifi Yazdi M, Azarsa M, Shirazi M, Rastegar Lari A, Owlia P, Fallah Mehrabadi J, et al. The frequency of extended spectrum beta lactamase and CTX M-I of *Escherichia Coli* isolated from the urine tract infection of patients by phenotypic and PCR methods in the city of Khoy in Iran. *J Zanjan Univ Med Sci Health Serv*. 2011;**19**(77):53-61. [Persian]
24. Barari SR, Pournasrollah M, Babazadeh N. Antibiotic resistance of bacteria causing urinary tract infections in children hospitalized in Amirkola children hospital during 2010-2011. *J Babol Univ Med Sci*. 2013;**15**(5):89-94. [Persian]
25. Ny S, Edquist P, Dumpis U, Gröndahl-Yli-Hannuksela K, Hermes J, Kling AM, et al. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from outpatient urinary tract infections in women in six European countries including Russia. *J Glob Antimicrob Resist*. 2019;**17**:25-34. PMID: 30447337 DOI: 10.1016/j.jgar.2018.11.004
26. Ramírez-Castillo FY, Moreno-Flores AC, Avelar-González FJ, Márquez-Díaz F, Harel J, Guerrero-Barrera AL. An evaluation of multidrug‐resistant *Escherichia coli* isolates in urinary tract infections from Aguascalientes, Mexico: cross‐sectional study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2018;**17**(1):34. PMID: 30041652 DOI: 10.1186/s12941-018-0286-5
27. Dormanesh B, Mirnejad R, Khodaverdi Dariyan E, Momtaz H, Yahaghi E, Safarpour Dehkordi F, et al. Characterization and study the antibiotic resistance of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from pediatrics with pyelonephritis and cystitis in Iran. *Iran J Med Microbiol*. 2013;**7**(2):27-39. [Persian]
28. Paknejad Z, Paknejad H, Tajbakhsh E. Determination of antibiotic resistance pattern in different serotypes of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from hospital infections in Zarinshahr. *Sci Res Appl Biol*. 2018;**8**(29):21-30. [Persian]
29. Adamus-Białek W, Baraniak A, Wawszczak M, Głuszek S3, Gad B3, Wróbel K, et al. The genetic background of antibiotic resistance among clinical uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Mol Biol Rep*. 2018;**45**(5):1055-65. PMID: 30008141 DOI: 10.1007/s11033-018-4254-0