ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۷، شماره ۶، بهمن و اسفند۱۴۰۱(شماره پی در پی ۱۵۵)

مقاله پژوهشی

بررسی فراوانی ژن‌های مقاوم به کینولون‌های وابسته به پلاسمید در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه، سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلی جدا شده از عفونت‌های محل جراحی

محمد غلام‌نژاد[۱]، سجاد حسن زاده[۲]، سلیمان افروغی[۳]، سجاد خرمروز[۴]، مریم شعبانی[۵]، الهه مثنوی[۶*]

[۱]گروه عفونی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، [۲]گروه داخلی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، [۳] گروه آمار، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، [۴] گروه میکروب، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، [۵]کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، [۶]گروه زنان، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۱/۰۳/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۲۷

چکیده

زمینه و هدف: در سال‌های اخیر میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی رو به افزایش بوده است که این منجر به محدود شدن راه‌های کنترل عفونت‌های بیمارستانی(به خصوص عفونت‌های محل جراحی) و گزینه‌های درمانی صحیح شده است. لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی فراوانی ژن‌های مقاوم به کینولون‌های وابسته به پلاسمید در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه، سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلی جدا شده از عفونت‌های محل جراحی بود.

روش بررسی: این یک مطالعه توصیفی ـ مقطعی می‌باشد که بر روی ۴۵ ایزوله کلبسیلا پنومونیه، سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلای جدا شده از عفونت‌های محل جراحی بیماران بستری در بیمارستان‌های یاسوج در سال ۱۳۹۸ انجام شد. ایزوله‌ها بعد از تعیین هویت از نظر مقاومت به داروهای کینولونی با روش انتشار از دیسک آگار بررسی شدند. سپس ایزوله‌های مقاوم به کینولون‌ها از نظر وجود ژن‌های*qnrA*, *qnrB*,و *qnrS* با استفاده از روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری توصیفی و نرم افزار SPSS نسخه ۲۵ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین۷۵/۷ درصد بود و میزان مقاومت در آنتی‌بیوتیک‌های لووفلوکساسین و اوفلوکساسین به ترتیب؛ ۷۳/۳ و ۶۲/۲ درصد بود. ۲۴(۷۰/۶ درصد) ایزوله دارای حداقل یکی از ژن‌هایqnr بودند که از میان این ۲۴ ایزوله، ۷ (۲۰/۶ درصد) ایزوله حاوی ژنqnrB، ۴(۱۱/۸ درصد) ایزوله حاوی ژن qnrA و ۱۳ (۳۸/۲ درصد) ایزوله حامل ژن qnrS بودند. مطالعه حاضر شیوع بالای مقاومت کینولونی به واسطه پلاسمید را(۷۰/۷ درصد) در میان تمام ایزوله‌های مقاوم به کینولون‌ها را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: نتایج نهایی حاصل از مطالعه حاضر حاکی از آن است که میزان مقاومت به آنتی بیوتیک های کینولونی در باکتری‌های گرم منفی جدا شده از عفونت‌های محل جراحی دارای شیوع بالا و قابل توجهی می‌باشند، بنابراین استفاده از راه کارهای درمانی مناسب و تجویز درست و منطقی آنتی‌بیوتیک‌ها به وسیله پزشکان در کنترل آنها نیز حایز اهمیت است.

واژه‌های کلیدی: الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی، ژن‌های qnr، کلبسیلا پنومونیه، سودوموناس آئروژینوزا، اشریشیا کلای

*__نویسنده مسئول: الهه مثنوی،__ یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، گروه زنان

Email: elahe.masnavi@yahoo.com

مقدمه

عفونت بیمارستانی به عفونتی گفته می‌شود که افراد بستری در بیمارستان در مدت زمانی که در بیمارستان به سر می‌برند به آن مبتلا می‌شوند و تظاهرات بیماری ممکن است در حین بستری بودن و یا بعد از مرخص شدن بیمار بروز کند. معمولاً عفونت‌هایی که بعد از ۴۸ تا ۷۲ ساعت ظاهر می‌شوند را به عنوان عفونت‌های بیمارستانی قلمداد می‌کنند و اگر در مدت کمتر از ۴۸ ساعت بعد از بستری شدن بیمار عفونتی اتفاق بیفتد احتمال این که فرد در هنگام پذیرش در بیمارستان در مرحله کمون آن بیماری به سر می‌برده است می‌باشد. عفونت‌های بیمارستانی باعث افزایش هزینه‌های طولانی شدن بهبود ناتوانی و مرگ بیماران می‌شود. شیوع عفونت بیمارستانی در آمریکا و اروپا ۵ تا ۱۰ درصد است(۱). در بین انواع عفونت‌های بیمارستانی، عفونت دستگاه ادراری(۴۲ درصد)، عفونت دستگاه تنفسی تحتانی یا پنومونی(۱۵ تا ۲۰ درصد)، عفونت ناشی از محل جراحی(۲۴ درصد) و عفونت دستگاه گردش خون(۱۰ ـ ۵ درصد) از اهمیت خاصی برخوردار هستند. بنابراین عفونت زخم جراحی دومین علت شایع عفونت‌های بیمارستانی(۲۴ درصد) می‌باشد(۳ و ۲). زمانی که میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا بتوانند وارد زخم محل جراحی بشوند و علایمی از قبیل؛ حساسیت یا تورم موضعی، گرما، قرمزی، درد یا تخلیه مواد چرکی از محل عمل جراحی و در موارد جدی‌تر منجر به ایجاد علایم سیستمیک تب یا افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون، حتی ممکن است باعث ایجاد آبسه در بافت‌های عمیق‌تر شوند منجر به ایجاد عفونت زخم جراحی می‌شوند(۴) اکثر عفونت‌ها از فلور خود بیماران و بقیه موارد عمدتاً از اتاق عمل جراحی نشأت می‌گیرند. طبق پژوهش‌های انجام شده، باکتری‌های گرم منفی از قبیل؛ سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا پنومونیه و اشریشیاکلای از عوامل شایع ایجاد عفونت زخم جراحی گزارش شده‌اند(۶ و ۵).

نوروزی و همکاران در مطالعه‌ای به بررسی فراوانی ژن‌های مقاومت پلاسمیدی کینولونی در ۸۸ ایزوله *کلبسیلا پنومونیه* در تهران پرداختند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های اوفلوکساسین، سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین به ترتیب؛ ۲۷، ۲۷ و ۲۲/۶ درصد بود. نتایج حاصل از بررسی ژن‌های مقاومت کینولونی در این مطالعه نشان داد که فراوانی ژن‌های qnrB، qnrS و qnrA به ترتیب؛ ۴۳، ۳۴ و ۲۳ درصد بود(۷). در مطالعه‌ای که در ایلام با هدف بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و آنالیز ژن‌های مقاومت بر روی *کلبسیلا پنومونیه* به وسیله تیمورپور و همکاران صورت پذیرفت، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین، ۹۰ درصد بود. لازم به ذکر است که بررسی ژن‌های کینولونی در این مطالعه نشان داد که فراوانی ژن qnrB ۹۲/۵ درصد و qnrS به میزان ۵ درصد بود(۸). در عراق مصطفی و همکاران مطالعه‌ای با هدف بررسی ژن‌های

qnr در ایزوله‌های *کلبسیلاپنومونیه* به انجام رساندند که نتایج حاصل از بررسی ژن‌های کینولونی در این مطالعه نشان داد که فراوانی ژن‌های qnrS و qnrB به ترتیب در ۷۶ و ۳۶ درصد ایزوله‌ها مشاهده شدند(۹). آنلو و همکاران در مطالعه‌ای به بررسی ژن‌های مقاومت در ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* جداشده از بیماران ICU پرداختند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میزان مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین(۷۲ درصد) بود، هم‌چنین بررسی ژن‌های کینولونی نشان داد که فراوانی ژن‌های qnrSو qnrA ۸۶ و ۲۷ درصد بود(۱۰).

متاسفانه در سالیان اخیر شاهد ظهور و گسترش سویه‌های مقاوم آنتی‌بیوتیکی به خصوص در باکتری‌های ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی(به خصوص عفونت محل جراحی) بودیم که این خود می‌تواند ناشی از درمان تجربی و عدم استفاده از نتایج آنتی بیوگرام در درمان بیماران، مصرف بی‌رویه و ناصحیح آنتی‌بیوتیک‌ها، انتقال ژن‌های مقاومت بین باکتری‌ها و جهش در ژن‌های مقاومت باشد که شناخت و تشخیص به موقع نوع میکروارگانیسم و الگوی مقاومت آنها برای کاهش ایجاد مقاومت دارویی مهم است. یکی از داروهای مورد استفاده در این قبیل بیماران عفونت محل جراحی کینولون‌ها می‌باشند.

پروتئین‌هایqnr با دو مکانیسم متفاوت سبب مقاومت نسبت به کینولون‌ها می‌شوند: الف) سبب کاهش اتصال DNA ژیراز و توپوایزومراز ۴ به DNA می‌شوند. ب)این پروتئین‌ها به DNA ژیراز و توپوایزومراز ۴ اتصال می‌یابند و از ورود کینولون‌ها به قسمت‌های شکسته شده به وسیله آنزیم ممانعت می‌کنند(۱۲ و ۱۱).

با مقایسه نتایج به دست آمده از حضور یا عدم حضور این ژن‌ها و نتایج به دست آمده از مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به این داروها می‌توان به همبستگی بین این ژن‌ها و هم‌چنین اثر هم افزایی یا کاهشی توان مقاومتی با توجه به حضور هر یک از ژن‌ها پی برد. با توجه به مطالب ذکر شده هدف از پژوهش حاضر تعیین و بررسی فراوانی ژن‌های مقاوم به کینولون‌های وابسته به پلاسمید(qnr) در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه، سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلی جدا شده از عفونت‌های محل جراحی در بیماران بستری در بیمارستان می‌باشد.

روش بررسی

این یک مطالعه توصیفی- مقطعی می‌باشد که بر روی ۴۵ باکتری شامل؛ ۷ ایزوله *کلبسیلا پنومونیه*، ۲۶ ایزوله *اشریشیا کلای* و ۱۲ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از عفونت‌های محل جراحی بیماران بیمارستان‌های امام سجاد و شهید بهشتی که در بخش‌های جراحی عمومی، ارتوپدی، جراحی مغز و اعصاب بیمارستان شهید بهشتی و بخش‌های گوش و حلق و بینی و جراحی زنان و زایمان بیمارستان امام سجاد(ع) شهر یاسوج انجام گردید.

ابتدا به منظور اطمینان از خالص بودن نمونه‌ها به طور مجزا آزمایش‌های افتراقی جهت *سودوموناس آئروژینوزا* از تست‌های اکسیداز، OF، کاتالاز، TSI، تخمیر انواع قندها، سیترات، اندول، VP، MR، رشد در ۴۲ درجه سانتی‌گراد، تولید رنگدانه‌ها، بررسی حرکت روی محیط SIM و بوی خاص انجام گردید. جهت *اشریشیاکلای* و *کلبسیلاپنومونیه* از تست‌های SIM، سیترات، اندول، VP، MR، اوره، TSI استفاده شد. جهت تأیید این باکتری‌ها انجام پذیرفت.

بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی بر مبنای پروتکل استاندارد (CLSI)[1] و با استفاده از روش انتشار از دیسک Kirby_Bauer انجام پذیرفت(بر اساس دستورالعمل CLSI ابتدا محیط مولر هینتون آگار را به قطر ۴-۶ میلی‌متر در پلیت‌های ۱۰ سانتی‌متری ساخته شد و سپس سوسپانسیون باکتریایی معادل کدورت نیم مک فارلند ساخته، سپس کدورت آن به وسیله دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۶۲۰ نانومتر که باید بین ۰/۰۸تا ۰/۱۳باشد خوانده شد و مقداری از آن را در لوله آزمایش ریخته و به عنوان لوله نیم مک‌فارلند در تست آنتی‌بیوگرام مورد استفاده قرار گرفت و با سوآپ استریل به روش چمنی برروی محیط مولرهینتون آگار کشت داده شد و دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی را به صورتی که ۱۳ میلی‌متر از هم فاصله داشته بر وری محیط مولرهینتون آگار قرار داده و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ رجه سانتی‌گراد انکوبه کرده و بعد از آن قطر هاله عدم رشد مخصوص هر آنتی‌بیوتیک را با خط کش اندازه‌گیری کرده و حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی هر باکتری مشخص شد. در این پژوهش از آنتی‌بیوتیک‌های کینولونی اوفلوکساسین، سیپروفلوکساسین لووفلوکساسین استفاده گردید. هم‌چنین این واکنش طبق برنامه ذیل انجام گرفت؛ واسرشت اولیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ چرخه شامل واسرشت در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال پرایمرها به مدت ۱ دقیقه در دماهای ذکر شده در جدول ۱، گسترش در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بعد از انجام مراحل PCR مقدار ۱۰ میکرولیتر از محصولات PCR در کنار مارکر 1 kbروی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گردید و سپس بررسی باندهای مربوط به هر کدام از ژن‌ها در دستگاه ژل داک انجام گرفت.[1] برای شناسایی ژن‌های qnrA ، qnrB و qnrS از پرایمرهای موجود در جدول۱ زیر استفاده گردید.

برای تهیه بافر TBE 5 X، ۵۴ گرم Tris base، ۲۷ گرم اسیدبوریک و۴/۶۵ گرم EDTA درون یک لیتر آب مقطر ریخته شد و روی شیکر قرار داده تا کاملاً حل شود. سپس برای تهیه بافر TBE 0/5 X ، از بافر 5X تهیه شده مقدار ۱۰۰ سی‌سی برداشته و با ۹۰۰ سی‌سی آب مقطر مخلوط گردید.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ و آزمون‌های آماری توصیفی تجزیه و تحلیل شدند.

1-Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI)

جدول۱: پرایمرهای استفاده شده در مطالعه

نام ژن	توالی پرایمر	پهنای باند
QnrA	F 5'- AGAGGATTTCTCACGCCAGG - 3' R 5'- TGCCAGGCACAGATCTTGAC - 3'	۵۷۱
QnrB	F 5'- ATGACGCCATTACTGTATAA - 3' R 5'- GATCGCAATGTGTGAAGTTT - 3'	۵۶۱
QnrS	F 5'- ACGACATTCGTCAACTGCAA - 3' R 5'- TAAATTGGCACCCTGTAGGC - 3'	۴۱۷

یافته‌ها

الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین ایزوله‌های مورد مطالعه نشان داد که بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین ۷۵/۶ درصد بود و میزان مقاومت در آنتی‌بیوتیک‌های لووفلوکساسین و اوفلوکساسین به ترتیب ۷۳/۳ و ۶۲/۲ درصد بود.

در مجموع ۳۴ ایزوله نسبت به یکی از انواع آنتی‌بیوتیک‌های خانواده کینولون سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین و اوفلوکساسین به کار رفته در این پژوهش مقاومت کامل داشته که این باکتری‌ها را جهت بررسی از نظر حضور ژن‌های *qnr* با استفاده از PCR انتخاب شدند. الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه در جدول ۲ آورده شده است.

ایزوله‌های اشریشیا کلای بیشترین میزان مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین ۲۰(۷۶/۹ درصد) داشتند. میزان مقاومت در ایزوله‌های اشریشیاکلای نسبت به آنتی‌بیوتیک اوفلوکساسین ۱۶ (۶۱/۵ درصد) بود(جدول ۳).

ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه بیشترین میزان مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین ۵ (۷۱/۴ درصد) داشتند. میزان مقاومت در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه نسبت به آنتی‌بیوتیک اوفلوکساسین ۴(۵۷/۱ درصد) بود. ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا بیشترین میزان مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین ۹ (۷۵ درصد) داشتند. میزان مقاومت در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های اوفلوکساسین و لووفلوکساسین ۸ (۶۶/۷ درصد) بود(جدول ۴)

جهت بررسی ژن‌های مقاومت کینولونی، بررسی برروی ایزوله‌هایی که بیشترین مقاومت را نسبت به یک آنتی‌بیوتیک داشتند انجام گرفت. از مجموع ۳۴ ایزوله مقاوم به کینولون‌های به کار رفته (سیپروفلوکساسین) در این پژوهش، ۲۴ (۷۰/۶ درصد) ایزوله دارای حداقل یکی از ژن‌های qnr بودند که از میان این ۲۴ ایزوله، ۷ (۲۰/۶ درصد) ایزوله حاوی ژن qnrB، ۴(۱۱/۸ درصد) ایزوله حاوی ژن qnrA و ۱۳(۳۸/۲ درصد) ایزوله حامل ژن qnrS بودند(جدول ۵).

۲۰(۷۶/۹ درصد) ایزوله از ۲۶ ایزوله *اشریشیاکلای* مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین را نشان دادند، ژن‌های qnr در این ۲۰ ایزوله بررسی شدند. ژن qnrS بیشترین میزان فراوانی را داشت، ۴۰ درصد(۸ ایزوله)، سپس qnrB و qnrA به ترتیب با ۲۵ درصد(۵ ایزوله) و ۵ درصد(۱ ایزوله) بودند. لازم به ذکر است که از لحاظ حضور هم‌زمانی، ژن‌های qnrA + qnrB در ۵ درصد(۱ ایزوله) و ژن‌های qnrS + qnrB در ۵ درصد(۱ ایزوله) مشاهده شدند(جدول ۶).

۵(۷۱/۴ درصد) ایزوله از ۷ ایزوله *کلبسیلا پنومونیه* مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین را نشان دادند، ژن‌های qnr در این ۵ ایزوله بررسی شدند. ژن qnrS بیشترین میزان فراوانی را داشت ۲۰ درصد(۱ ایزوله). لازم به ذکر است که ژن‌های qnrB و qnrA در هیچ کدام از ایزوله‌ها مشاهده نگردید(جدول ۷).

۹(۷۵ درصد) ایزوله از ۱۲ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین را نشان دادند، ژن‌های qnr در این ۹ ایزوله بررسی شدند. ژن qnrS بیشترین میزان فراوانی را داشت، ۴۴/۴ درصد(۴ ایزوله)، سپس qnrA و qnrB به ترتیب با ۳۳/۳ درصد(3 ایزوله) و ۲۲/۲ درصد(2 ایزوله) بودند(جدول ۷).

جدول ۲: الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی در تمام ایزوله‌ها(تعداد=۴۵)

آنتی بیوتیک	الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی	
	مقاوم(درصد)	حساس(درصد)
سیپروفلوکساسین	۳۴ (۷۵/۶)	۱۱ (۲۴/۴)
لووفلوکساسین	۳۳ (۷۳/۳)	۱۲ (۲۶/۷)
اوفلوکساسین	۲۸ (۶۲/۲)	۱۷ (۳۷/۸)

جدول ۳: الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *اشریشیاکلای*(تعداد=۲۶)

آنتی بیوتیک	الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی	
	مقاوم(درصد)	حساس(درصد)
سیپروفلوکساسین	۲۰ (۷۶/۹)	۶ (۲۳/۱)
لووفلوکساسین	۲۰ (۷۶/۹)	۶ (۲۳/۱)
اوفلوکساسین	۱۶ (۶۱/۵)	۱۰ (۳۸/۵)

جدول ۴: الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله های *کلبسیلا پنومونیه*(تعداد=۷)و *سودوموناس آئروژینوزا*(تعداد=۱۲)

	آنتی بیوتیک	الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی	
		مقاوم(درصد)	حساس(درصد)
الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله های *کلبسیلا پنومونیه*(تعداد =۷)	سیپروفلوکساسین	۵ (۷۱/۴)	۲ (۲۸/۶)
	لووفلوکساسین	۵(۷۱/۴)	۲ (۲۸/۶)
	اوفلوکساسین	۴ (۵۷/۱)	۳ (۴۲/۹)
الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله های *سودوموناس آئروژینوزا* (تعداد =۱۲)	سیپروفلوکساسین	۹ (۷۵)	۳ (۲۵)
	لووفلوکساسین	۸ (۶۶/۷)	۴ (۳۳/۳)
	اوفلوکساسین	۸ (٪۶۶.۷)	۴(٪۳۳.۳)

جدول ۵: توزیع ژن‌های qnr در بین تمام ایزوله‌ها(تعداد =۳۴)

ژن‌های qnr	فراوانی(درصد)
QnrA	۴(۱۱/۸)
QnrB	۷(۲۰/۶)
QnrS	۱۳(۳۸/۲)

جدول ۶: نتایج حاصل از ژن‌های qnr در ایزوله‌های *اشریشیاکلای*(تعداد=۲۰)

ژن های qnr	فراوانی(**درصد**)
QnrA	۱ (۵)
QnrB	۵ (۲۵)
QnrS	۸(۴۰)

جدول ۷: نتایج حاصل از ژنهای qnr در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه(تعداد =۵) و سودوموناس آئروژینوزا (تعداد =۹)

	ژن های qnr	فراوانی(**درصد**)
نتایج حاصل از ژنهای qnr در ایزوله های *کلبسیلا پنومونیه* (تعداد =۵)	QnrA	۰
	QnrB	۰
	QnrS	۱ (۲۰)
نتایج حاصل از ژنهای qnr در ایزوله های *سودوموناس آئروژینوزا* (تعداد =۹)	QnrA	۳ (۳۳/۳)
	QnrB	۲ (۲۲/۲)
	QnrS	۴ (۴۴/۴)

بحث

مصرف غیرمنطقی و خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌ها موجب بروز مقاومت دارویی در باکتری‌های بیماری‌زا می‌شود. این موضوع منجر به عدم موفقیت در درمان و پیدایش عوارض جانبی می‌گردد(۲)، لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی فراوانی ژن‌های مقاوم به کینولون‌های وابسته به پلاسمید(qnr) در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه، سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلی جدا شده از عفونت‌های محل جراحی در بیماران بستری در بیمارستان بود.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد، که در مجموع ۳۴ ایزوله نسبت به یکی از انواع آنتی‌بیوتیک‌های خانواده کینولون(سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین و اوفلوکساسین) به کار رفته در این پژوهش مقاومت کامل داشته‌اند. بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آنتی‌بیوتیک

سیپروفلوکساسین ۷۵/۶ درصد بود و میزان مقاومت در آنتی‌بیوتیک‌های لووفلوکساسین و اوفلوکساسین به ترتیب ۷۳/۳ و ۶۲/۲ درصد بود.

در مطالعه حاضر باکتری کلبسیلا پنومونیه با فراوانی۷۱/۴، ۷۱/۴ و ۵۷/۱ درصد به ترتیب به سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین و اوفلوکساسین مقاوم بودند. مطالعه نوروزی در تهران، کلبسیلا پنومونیه ۲۷ درصد به سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین و ۲۲/۶ درصد به لووفلوکساسین مقاوم بودند که نسبت به مطالعه حاضر مقاومت کمتری نشان داده است(۷). در ایلام کلبسیلاها ۹۰ درصد به سیپروفلوکساسین مقاوم بوده و در مطالعه حاضر ۷۱/۴ درصد به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند(۸). آنلو و همکاران در ترکیه: باکتری‌های کلبسیلا پنومونیه ۷۲ درصد به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین مقاومت نشان دادند(۱۰) که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. محمدبیگی در تهران گزارش کرده است که ۳۹ درصد کلبسیلا پنومونیه‌ها به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند(۱۳) که نتایج آن نسبت به مطالعه حاضر پایین‌تر بود.

در مطالعه حاضر الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی اشریشیاکلای به این صورت بیان می‌شود که به سیپروفلوکساسین مقاومت ۷۷ درصد، لووفلوکساسین ۷۷ درصد و اوفلوکساسین ۶۱/۵ درصد می‌باشد. یوسفی در تهران الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی اشریشیا کلای را بیان کرد که ۵۴ درصد به اوفلوکساسین، ۵۳ درصد به لووفلوکساسین و ۵۵ درصد به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند(۱۴) که طیف مقاومتی کمتری در مقایسه با مطالعه حاضر داشته است. در مطالعه جمشیدی و مطالعه محمدبیگی الگوی مقاومت اشریشیاکلای به سیپروفلوکساسین ۴۸ و ۴۶ درصد بیان شده است که مقاومت کمتری نسبت به مطالعه حاضر گزارش شده است(۱۵ و۱۳).

در مطالعه حاضر باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا ۷۵ درصد به سیپروفلوکساسین و ۶۷ درصد به آنتی‌بیوتیک‌های اوفلوکساسین و لووفلوکساسین مقاوم بودند. در مطالعه آلبداوی در عربستان باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا ۳۶ ، ۳۶ و ۳۷ درصد به ترتیب به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین و اوفلوکساسین مقاوم بودند که نتایج آن با مطالعه حاضر هم‌خوانی ندارد و میزان مقاومت نسبت به مطالعه حاضر پایین‌تر بود(۱۶). هم‌چنین میزان مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین در پژوهش‌های درخشان در کردستان(۱۷) و رجایی در کرمان(۱۸) نسبت به مطالعه حاضر پایین‌تر بود. در مطالعه سحر و همکاران در مصر میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین به ترتیب ۱۰۰ و ۹۹ درصد بود(۱۹). میزان مقاومت این آنتی‌بیوتیک‌ها نسبت به مطالعه حاضر بالاتر بوده است. ۱۰۰ درصد ایزوله‌های سودوموناس در مطالعه ملاپور نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کینولونی مقاوم بودند که نسبت به مطالعه حاضر از مقاومت بالاتری برخوردار بودند(۲۰).

در مطالعه حاضر جهت بررسی ژن‌های مقاومت کینولونی(qnr)، بررسی بر روی ایزوله‌هایی که بیشترین مقاومت را نسبت به یک آنتی‌بیوتیک داشتند انجام گرفت. از مجموع ۳۴ ایزوله مقاوم به کینولون‌های به کار رفته(سیپروفلوکساسین) در این پژوهش، ۲۴ (۷۰/۶ درصد) ایزوله دارای حداقل یکی از ژن‌هایqnr بودند، که از میان این ۲۴ ایزوله، ۷(۲۰/۶ درصد) ایزوله حاوی ژن qnrB ، ۴(۱۱/۸ درصد) ایزوله حاوی ژن qnrA و ۱۳(۳۸/۲ درصد) ایزوله حامل ژن qnrS بودند. مطالعه حاضر شیوع بالای مقاومت کینولونی به واسطه پلاسمید را (۷۰/۶ درصد) در میان تمام ایزوله‌های مقاوم به کینولون‌ها را نشان می دهد.

در ایزوله‌های اشریشیا کلای مورد مطالعه، ژن‌های qnrA، qnrB و qnrS به ترتیب؛ ۵، ۲۵ و ۴۰ درصد ایزوله‌ها مشاهده شدند. همچنین از لحاظ حضور همزمانی ژن‌ها(qnrB+ qnrA) و (qnrS + qnrB) هر دو در ۵ درصد ایزوله‌های اشریشیاکلای مشاهده شدند. در مطالعه یوسفی و همکاران ۲۹/۶ درصد ایزوله‌ها دارای ژن qnrB، ۳ درصد ایزوله‌ها دارای ژن qnrS بودند که نسبت به مطالعه حاضر از فراوانی کمتری برخوردار بودند و با مطالعه حاضر همخوانی نداشتند(۱۴). ابراهیمیان و همکاران در اصفهان حضور ژن qnrA را در ۳۴ درصد ایزوله‌های مورد مطالعه مشاهده کردند که نسبت به مطالعه حاضر بیشتر بود، اما ژن qnrB در ۱۵ درصد و ژن qnrS در ۹ درصد از جدایه های مقاوم نسبت به فلوروکینولون تأیید گردید که نسبت به مطالعه حاضر کمتر بودند(۲۱).

در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه مورد مطالعه، ژن‌های qnrA، qnrB و qnrS به ترتیب در ۰،۰ و ۲۰ درصد ایزوله‌ها مشاهده شدند. که نسبت به پژوهش‌های محمد بیگی، آنلو، مصطفی، تیمورپور و نوروزی از شیوع کمتری برخوردار بودند و با این پژوهش‌ها همخوانی نداشتند(۱۳ و ۱۰-۷).

ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا مورد مطالعه، ژن‌های qnrA، qnrB و qnrS به ترتیب در ۳۳/۳، ۲۲/۲ و۴۴/۴ درصد ایزوله‌ها مشاهده شدند. از بین این ژن‌ها در مطالعه آلبداوی فقط qnrS در ۹ درصد ایزوله‌ها مشاهده شد که با مطالعه حاضر همخوانی نداشت(۱۶). همچنین در مطالعه سحر این عدم همخوانی مشاهده شد(۱۹). به طور کلی فراوانی ژن‌های qnr در مطالعه حاضر نسبت به پژوهش‌های صالح در مصر، ملاپور در تهران و درخشان بیشتر بوده است(۲۲ و ۲۰، ۱۷).

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم همکاری بعضی از بیماران برای تهیه نمونه و کم بودن تعداد نمونه‌ها نام برد، پیشنهاد می‌شود در آینده مطالعه با تعداد بیشتری نمونه برای دستیابی به نتایج بهتر صورت گیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان دهنده آن است که مقاومت آنتی‌بیوتیکی در حال افزایش روز

افزون در میان باکتری هاست و علت این افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌تواند؛ مصرف بی رویه و خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌ها، درمان تجربی پزشکان بدون استفاده از نتایج آنتی‌بیوگرام، متفاوت بودن برنامه‌های بهداشت و درمان در کشورهای مختلف باشند.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان‌نامه پزشکی با کد اخلاق IR.YUMS.REC.1400.036 از دانشگاه علوم پزشکی یاسوج می‌باشد و با حمایت مالی آن دانشگاه انجام شده است.

REFERENCES

1.Mohamadbigi M, Akbarmehr J, Jafari B. Evaluation of frequency of Plasmid-mediated quinolone resistance genes in clinical isolates of Escherichia coli and Klebsiella spp in Tehran. J Microbial World (JMW) 2016; 9(3):199-207.

2.Jones ML. Wound infection 3: 4. Prevention and treatment of surgical site infections. British Journal of Healthcare Assistants 2018; 12(8): 382-5.

3.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.

4.Shafaee Y, Heydari M, Shahbazzadegan B. Comparison of the effect of masks and shield in incidence of wound surgical infection. Daneshvar Medicine 2020: 25(4): 25-30.

5.Jamshid F, Mohammad Javad M, Sharareh M, Bahram Nasr A, Nafiseh Sadat H, Gulfam A. Evaluation of the type of microorganism and microbial resistance of bacterial infections in sternal wounds following open heart surgery. Isfahan Medical School 1392; 31(241): 885-93.

6.Gemedo M, Chelkeba L, Melaku T. Bacterial profile and antimicrobial susceptibility patterns of isolates among patients diagnosed with surgical site infection at a tertiary teaching hospital in Ethiopia: a prospective cohort study. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials 2021; 20(1): 1-10.

7.Nourozi M, Mirkalantari S, Omidi S. Frequency of plasmid-mediated quinolone resistance genes qnra, qnrb, and qnrs among clinical isolates of klebsiella pneumoniae. Journal of Applied Biotechnology Reports 2020; 7(4): 203-7.

8.Gheysarzadeh A, Pakzad I, Valadbeigi H, Maleki A, Sadeghifard N. Antimicrobial resistance and genetic analysis of multi-drug resistant Klebsiella pneumoniae isolates by pulsed-field gel electrophoresis. Gene Reports 2020; 19: 100638.

9.Mustafa M. Prevalence of quinolones resistance proteins encoding genes (qnr genes) and co-resistance with β-lactams among Klebsiella pneumoniae Isolates from Iraqi Patients. Baghdad Science Journal 2020; 17(2): 0406.

10.Unlu O, Mehmet D. Detection of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae strains harboring carbapenemase, beta-lactamase and quinolone resistance genes in intensive care unit patients. GMS Hygiene and Infection Control 2020; 15.

11.Chopra S, Galande A. A fluoroquinolone-resistant acinetobacter baumannii without the quinolone resistance-determining region mutations. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2011; 66(11): 2668-70.

12.Vakili B, Khorvash F, Fazeli H, Khaleghi M. Detection of quinolone-resistance mutations of par C gene in clinical isolates of Acinetobacter baumannii in Iran. J Res Med Sci 2014; 19(6): 567-70.

13.Mohammad Beigi M, Akbar Mehr J, Jafari B. Prevalence of plasmid-dependent quinolone resistance genes in clinical isolates of Escherichia coli and Klebsiella species in Tehran. Journal of Microbial World 2016; 9 (3): 199-207.

14.Rezazadeh M, Baghchesaraei H, Peymani A. Plasmid-mediated quinolone-resistance(qnr) genes in clinical isolates of Escherichia coli collected from several hospitals of Qazvin and Zanjan Provinces, Iran. Osong Public Health and Research Perspectives 2016; 7(5): 307-12.

15.Mansouri Jamshidi N, Pakzad I, Tabaraei B, Hadadi A. Evaluating the frequency of ciprofloxacin resistance Qnr genes in Escherichia coli strains isolated from clinical samples of Imam Khomani and Milad Hospitals in Ilam and Tehran, Iran. Sci J Ilam Univ Med Sci 2013; 21: 16-22.

16.El-Badawy MF, Alrobaian MM, Shohayeb MM, Abdelwahab SF. Investigation of six plasmid-mediated quinolone resistance genes among clinical isolates of pseudomonas: a genotypic study in Saudi Arabia. Infection and Drug Resistance 2019; 12: 915.

17.Derakhshan S, Hosseinzadeh A, Hedayati MA, Roshani D. Prevalence rate of resistance to ciprofloxacin among clinical Pseudomonas Aeruginosa isolates in Kurdistan province, west of Iran. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences 2020; 4(6): 257-67.

18.Boroumand M, Naghmachi M, Ghatee MA. Detection of phylogenetic groups and drug resistance genes of Escherichia coli causing urinary tract infection in Southwest Iran. Jundishapur Journal of Microbiology 2021; 14(2): e112547.
19.Ali SA, Hassan RM, Khairat SM, Salama AM. Plasmid-mediated quinolone resistance genes qnrA, qnrB, qnrC, qnrD, qnrS and aac (6')-Ib in Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii. Microbiol. Res J Int 2018; 25(2): 1-12.
20.Molapour A, Peymani A, Saffarain P, Habibollah-Pourzereshki N, Rashvand P. Plasmid-mediated quinolone resistance in pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients in tehran, iran. infectious disorders-drug targets. Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders. 2020; 20(1): 49-55.
21.Ebrahimian M, Mohammadi-Sichani M. The frequency of plasmid qnr genes in quinolone-resistant isolates of escherichia coli causing urinary tract infection. Journal of Isfahan Medical School 2018;36(499): 1213-8.
22.Saleh M, Balboula M. Plasmid mediated quinolone resistance determinants among nosocomial clinical Pseudomonas aeruginosa isolates. Int J Curr Microbiol Appl Sci 2017; 6(01): 42-50.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Investigation of the Frequency of Plasmid-Dependent Quinolone Resistance Genes in Klebsiella Pneumoniae, Pseudomonas Aeruginosa and Escherichia Coli Isolated from Surgical Site Infections

Gholam nezhad M[1], Hassanzadeh S[2], Afroughi S[3], Khorram rouz S[4], Shabani M[5], Masnavi E[6*]

[1]Department of Infectious Diseases, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, [2]Department of Internal Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, [3]Department of Statistics, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, [4]Department of Microbiology, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, [5]Student Research Committee, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, [6]Department of Obstetrics and Gynecology, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received: 01 Jun 2022 Accepted: 16 Sep 2022

Abstract:

Background & aim: In recent years, the rate of antibiotic resistance has been increasing which has led to the limitation of ways to control hospital infections (especially surgical site infections) and accurate treatment options. Therefore, the aim of the present study was to determine and investigate the frequency of plasmid-dependent quinolone resistance genes in Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, and Escherichia coli isolated from surgical site infections.

Methods: The present cross-sectional descriptive study was conducted on 45 isolates of Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, and Escherichia coli isolated from surgical site infections of patients hospitalized at Yasuj hospitals in 2018. After identifying the isolates, they were checked for resistance to quinolone drugs by diffusion method from agar disk. Then, quinolone resistant isolates were examined for the presence of qnrB, qnrA and qnrS genes using PCR method. The collected data were analyzed using descriptive statistical tests and SPSS version 25 software.

Results: The highest rate of antibiotic resistance to Ciprofloxacin was 75.7%, and the rate of resistance to Levofloxacin and Ofloxacin were 73.3 and 62.2 percent, respectively; 24 (70.6%) isolates had at least one qnr gene, among these 24 isolates, 7 (20.6%) isolates contained qnrB gene, 4 (11.8%) isolates contained qnrA gene and 13 (2. 38 percent) isolates carried the qnrS gene. The results of the present study indicated the high prevalence of quinolone resistance due to plasmid (70.7%) among all isolates resistant to quinolones.

Conclusion: The final results of the present study indicated that the level of resistance to quinolone antibiotics in gram-negative bacteria isolated from surgical site infections had a high and significant prevalence, hence the use of appropriate treatment methods and correct and rational prescription antibiotics by physicians are correspondingly significant in their control.

Keywords: Antibiotic sensitivity pattern, Qnr genes, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli

***Corresponding author: Masnavi E,** Department of Obstetrics and Gynecology, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran.
Email: elahe.masnavi@yahoo.com

Please cite this article as follows: Gholam nezhad M, Hassanzadeh S, Afroughi S, Khorram rouz S, Shabani M, Masnavi E. Investigation of the Frequency of Plasmid-Dependent Quinolone Resistance Genes in Klebsiella Pneumoniae, Pseudomonas Aeruginosa and Escherichia Coli Isolated from Surgical Site Infections. Armaghane-danesh 2022; 27(6): 745-757.