تعیین الگوی فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله های *اشریشیا کلی* یوروپاتوژن جداشده از بیماران دیابتی در شهرستان شهرکرد

امین روزبهی[1*]، فاطمه خداوردی پور[1]
۱. دانشجوی دکتری،گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.
* **نویسنده مسئول**: *amin.roozbehi.1370@gmail.com*

چکیده

جلوگیری از انتشار مقاومت‌های دارویی یکی از مسائل مهم در جامعه است. *اشریشیا کلی* یکی از شایع ترین عوامل باکتریایی جداشده از عفونت‌های ادراری و بیمارستانی می‌باشد. درمان عفونت‌های ناشی از آن بدلیل کسب ژن‌های مقاومت مشکل است. هدف از این مطالعه بررسی الگوی فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های بالینی اوروپاتوژنیک جداشده از بیماران دیابتی بود. در این مطالعه ۵۱ ایزوله بالینی *اشریشیا کلی* از بیماران دیابتی مراجعه‌کننده به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی موردبررسی قرار گرفت. تایید ایزوله ها با استفاده از روشهای بیوشیمیایی و مولکولی بر اساس ردیابی ژن *16srRNA* و مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها با روش دیسک دیفیوژن و بررسی مولکولی ژن‌های مقاومت (*qnr*،*tet A*، *tet B, aac (3)IIa* و*sul1*) انجام شد. بیشترین مقاومت نسبت به آمپی سیلین (۶۶/۶۶ درصد) و کمترین مقاومت نسبت به نیتروفورانتئین (۱/۹۶درصد) گزارش گردید. فراوانی ژن‌های *tet A*، *tet B*، *qnr*، *sul* 1 و *aac (3)IIa* به ترتیب ۶۸/۶۲ ، ۶۴/۷، ۲۹/۴۱، ۳۹/۲۱و ۲۹/۴۱ درصد گزارش گردید. در تجزیه و تحلیل آماری بین مقاومت به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و ژن‌های *tet A*، *tet B* ارتباط آماری معنی دار مشاهده گردید. تشخیص به موقع سویه‌های مقاوم در انتخاب درمان مناسب و جلوگیری از گسترش مقاومت، ضروری است. پیشنهاد می‌شود،بدلیل اهمیت درمان عفونت‌های ادراری، درمان با توجه به الگوی حساسیت و مقاومت منطقه صورت گیرد تا از ایجاد مقاومت دارویی و شکست‌های درمانی که منجر به عارضه دارشدن عفونت می‌گردد، جلوگیری شود.

واژه های کلیدی: اشریشیا کلی یوروپاتوژنیک، الگوی فنوتیپی، بیماران دیابتی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

مقدمه

عفونت‌های دستگاه ادراری (UTIs) ، پس از عفونت‌های تنفسی، شایع‌ترین علت عفونت‌های بیمارستانی و دومین عفونت رایج در انسان و از عوامل اصلی مرگ‌ومیر می‌باشد(۱). در زنان شیوع بیشتری دارد و نیمی از زنان حداقل یک‌بار در طول زندگی خود این وضعیت را تجربه می‌کنند. اشریشیا کلی بیش از ۸۰-۹۰ درصد از مجاری ادراری اکتسابی در جامعه و ۳۰-۵۰ درصد از عفونت‌های رحمی اکتسابی در بیمارستان را تشکیل می‌دهد (۲). عفونت دستگاه ادراری شامل طیف وسیعی از اختلالات، ازجمله عفونت مثانه و عفونت کلیه است که به علت حضور میکروارگانیسم‌ها در دستگاه ادراری رخ می‌دهد. گونه‌های اشریشیا کلی که سبب ایجاد عفونت دستگاه ادراری می‌شوند، اشریشیا کلی اوروپاتوژنیک نامیده می‌شوند(۳). دیابت شیرین (DM) به دلیل عوارض و مرگ‌ومیر تبدیل به یک تهدید جدی برای بهداشت عمومی شده است. ارتباط بین دیابت شیرین و افزایش حساسیت به عفونت کاملاً مشهود است. ایمنی در بیماران مبتلابه دیابت به دلیل عملکرد لکوسیت‌های پلی مورفونوکلئر تغییر می‌کند، به‌ویژه در مواردی که اسیدوز، چسبندگی به لکوسیت ها ، کموتاکسی و فاگوسیتوز، عدم تعادل در سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی درگیر در فعالیت باکتری‌کش نیز وجود داشته باشد(۶-۴). علاوه بر این ، سایر شرایط مانند اختلال عملکرد مثانه (تخلیه ناقص مثانه) ناشی از نوروپاتی دیابتی نیز ممکن است در افزایش خطر عفونت‌های ادراری نقش داشته باشد. شواهد نشان می‌دهد که عفونت دستگاه ادراری (UTI)شایع‌ترین عفونت باکتریایی در میان بیماران دیابتی است(۹-۷). در سال‌های اخیر، به دلیل استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف مانند بتالاکتام در برابر عفونت‌ها، سطح بالایی از مقاومت به آنتی‌بیوتیک و باکتری‌های

تولیدکننده بتا لاکتاماز با طیف گسترده (ESBL) در حال شناسایی است(۱۰و۱۱). باکتری‌های تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع الطیف قادر به هیدرولیز بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های گروه بتالاکتام مانند پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین های نسل سوم و چهارم و آزترئونام می‌باشند(۱۲). ظهور مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های بیماری زا یکی از مشکلات درمانی جهانی است. در حال حاضر ، گزارش‌ها نشان می‌دهد که میزان مقاومت در باکتری‌های UPEC در حال افزایش است. اشریشیاکلی به دلیل وجود در طیف وسیعی از میزبان‌ها، شاخص مفیدی برای شیوع مقاومت به آنتی‌بیوتیک در نظر گرفته می‌شود که امکان ارزیابی و مقایسه مقاومت شیوع را در بین جمعیت‌های مختلف و ارزیابی انتقال حیوان به انسان را فراهم می‌کند (۱۳). UPEC با کمک ادهزین هایی مانند فیمبریای نوع ۱، A- fimbrial (afa)، ادهزین های p (pap) و ادهزین های S-fimbrial (sfa) به لایه سلول‌های اپیتلیال دستگاه ادراری متصل می‌شود. ژن‌هایی که فاکتورهای حدت را بیان می‌کنند، روی کروموزوم‌های باکتریایی، پلاسمیدها و حتی باکتریوفاژها قرار دارند و می‌توانند به‌صورت افقی یا عمودی بین باکتری‌ها منتقل شوند(۱۱). هدف از این مطالعه بررسی رابطه بین ژن‌های مقاومت و مشخصات مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های بالینی UPEC جداشده از بیماران دیابتی در برخی از بیمارستان‌های شهرکرد بود.

مواد و روش کار

در مطالعه حاضر ۱۰۰ نمونه ادرار بیماران دیابتی مشکوک به عفونت ادراری مراجعه‌کننده به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی شهرستان شهرکرد جمع‌آوری گردید. مقدار۵ تا ۱۰ سی‌سی نمونه ادرار وسط توسط بیمار در ظروف استریل جمع‌آوری و بلافاصله پس از نمونه‌گیری، جهت انجام کشت و آزمون‌های بیوشیمیایی و تشخیص نوع باکتری موردبررسی قرار گرفتند سپس جهت آزمایشات بیشتر به آزمایشگاه تحقیقات میکروب‌شناسی منتقل گردید.

به‌منظور جداسازی سویه‌های اشریشیا کلی، هرکدام از نمونه‌ها به‌طور مجزا بر روی محیط‌های افتراقی شامل ائوزین متیلن بلو و مک کانکی (مرک آلمان) کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند، پرگنه‌های سبز متالیک با جلای فلزی رشد کرده در این محیط به‌عنوان باکتری *اشریشیا کلی* موردپذیرش قرار گرفتند. پلیت های دارای بیش از 10^5 CFU/ml به‌عنوان عفونت UTI در نظر گرفته شد همچنین از تست‌های استاندارد بیوشیمیایی میکروبیولوژی نظیر رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز، اکسیداز و استفاده از محیط‌های افتراقی نظیر TSI، SIM، MR-VP، سیمون سیترات، اوره و لیزین دکربوکسیلاز استفاده گردید. از سویه رفرنس اشریشیاکلی ATCC 25922 به‌عنوان کنترل کیفی استفاده شد (۱۴).

به‌منظور تشخیص قطعی پس از استخراج DNA ژنومی سویه‌ها از کشت ۲۴ ساعته در محیط لوریا برتانی براث (مرک آلمان) در ۳۷ درجه سلسیوس استفاده شد. استخراج طبق دستورالعمل کیت استخراج سیناژن (Cinna Pure DNAKIT-PR881613)(البرز، ایران) انجام گردید. و تا زمان انجام PCR در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری گردید. تعیین هویت قطعی با استفاده از ردیابی ژن *16srRNA* در ایزوله‌های *اشریشیا کلی* (۱۵) و همچنین برای تکثیر ژن‌های ، *tetA* و *tetB* (مقاومت به تتراسیکلین)، *qnr* (مقاومت به فلوروکینولون ها)، *aac (3)IIa* (مقاومت به جنتامایسین) و ژن *sul1* (مقاومت به سولفونامید ها) از توالی های اختصاصی الیگونوکلئوتیدی پرایمرهای موجود در جدول ۱ تهیه‌شده از شرکت سینا ژن (تهران، ایران) و جهت تایید درجه خلوص DNA استخراج‌شده از دستگاه بیوفتومتر (Bio-Rad, USA) استفاده گردید (جدول۱).

در نهایت برای انجام آزمایش PCR از حجم نهایی واکنش، یعنی ۲۵ میکرولیتر شامل: ۱ میکرولیتر DNA استخراج شده، ۲/۵ میکرولیتر PCR buffer 10x، ۲۰۰ میکرومولار Mix dNTP (10mM)، ۱/۵ میلی مولار Mgcl2 (50mM)، ۱ میکرومول از هر پرایمرهای F و R، ۱/۲۵ واحد آنزیم Smar Taq DNA Polymerase سپس با آب مقطر ۲بار تقطیر شده استریل به حجم ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. برنامه زمانی و دمای PCR در جدول ۱ آورده شده است، با استفاده از گرادیانت ترموسایکلر (اپندورف آلمان) برای ۳۰ سیکل انجام گرفت در نهایت جهت آشکار سازی، محصولات PCR در ژل آگارز ۱درصد الکتروفورز شدند،

در پایان با دستگاه UV transilluminator مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت بررسی باند های حاصل از محصول PCR از DNA ladder به اندازه ۱۰۰ جفت باز و یک کیلو جفت باز استفاده شد (۱۶).

برای تعیین حساسیت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها از روش کربی- بایر[1] بر طبق دستورالعمل CLSI (مندرج در راهنمای ارایه شده توسط شرکت پادتن طب) و سویه استاندارد *اشریشیا کلی* ATCC 25922 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. برای این منظور کدورت سوسپانسیون میکروبی با غلظت نیم مک فارلند (کدورتی معادل ۱/۵ باکتری در هر میلی لیتر) استاندارد گردید، با استفاده از سوآب پنبه ای استریل آغشته به سوسپانسیون به غلظت نیم مک فارلند بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت چمنی انجام گردید و پس از ۱۵ دقیقه دیسک های آنتی‌بیوتیکی منتخب بر حسب CLSI شامل کوتریموکسازول (تری‌متوپریم+ سولفامتوکسازول)، آمیکایسین، سفتریاکسون، نیتروفورانتئین، سفالوتین، نالیدیکسیک اسید، نورفلوکساسین، تتراسایکلین، ایمی پنم، جنتامایسین (شرکت پادتن طب- ایران) با فاصله ۲ سانتی متر از یکدیگر بر روی سطح محیط قرار داده شد، پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قطر هاله های ممانعت از رشد توسط خط کش اندازه گیری شد. نتایج هرکدام از ایزوله ها برای دیسک های استفاده شده ثبت گردید (۱۷).

نتایج حاصل از ارزیابی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی استفاده از آزمون مربع کای (Chi-Square test) و دقیق فیشر با نرم افزار SPSS شماره ۱۹ مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نتایج

نتایج حاصل از مطالعات کاتالاز، اکسیداز، TSI، SIM، MR-VP، سیمون سیترات، اوره و لیزین دکربوکسیلاز بر روی نمونه‌های ادرار به دست آمده نشان داد که از مجموع ۱۰۰ نمونه ادرار جمع‌آوری شده، تعداد ۵۱ مورد (۵۱ درصد) اشریشیاکلی تشخیص داده شدند، از نظر دارا بودن ژن *16srRNA* مورد آزمایش PCR قرار گرفتند. تمام جدایه های جداشده حامل این ژن بودند. از ۱۰۰ بیمار دیابتی مبتلا به عفونت دستگاه ادراری ۷۰ نفر زن (۷۰درصد) و ۳۰ نفر مرد (۳۰درصد) بودند. در تجزیه و تحلیل آماری با آزمون کای دو بین جنسیت و ابتلا به عفونت ادراری ارتباط معنی داری مشاهده گردید (p-value=0/012<0/05) نتایج مقاومت آنتی‌بیوتیکی بر حسب جنسیت در جدول ۲ نشان داده شده است (جدول۲). مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *اشریشیا کلی* جداشده از موارد عفونت ادراری بیماران دیابتی در دو جنس در نمودار ۱ نشان داده شده است (نمودار۱).

آزمون Multiplex-PCR برای بررسی ژن‌های مقاومت ۵۱ جدایه اشریشیا کلی انجام گرفت. از ۵۱ ایزوله موردبررسی ژن *tet A* در ۳۵ ایزوله با فراوانی ۶۸/۶۲ درصد ، ژن *tet B* در ۳۳ ایزوله با فراوانی ۶۴/۷ درصد، ژن *qnr A* در ۱۵ ایزوله با فراوانی ۲۹/۴۱ درصد، ژن *sul* 1 در ۲۰ ایزوله با فراوانی ۵۰/۹۰ درصد و ژن *aac (3)IIa* در ۱۵ ایزوله با فراوانی۲۹/۴۱ درصدگزارش گردید. نتایج در جدول ۳ و نمودار۲ نشان داده شده است.

در تجزیه و تحلیل آماری با آزمون کای دو بین مقاومت آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و ژن‌های *tet A* و *tet B* ارتباط آماری معنی داری مشاهده گردید.

[1] Kirby Bauer

جدول۱- پرایمر های مورداستفاده جهت تکثیر ژن *16srRNA* و ردیابی ژن‌های کد کننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی

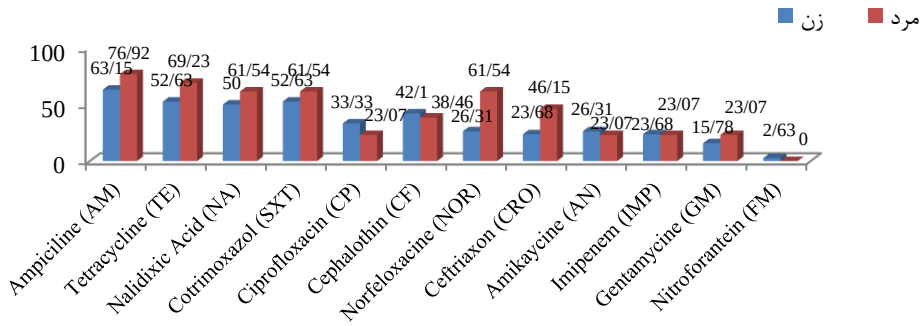
آنتی‌بیوتیک	ژن هدف	توالی پرایمر	طول محصول(bp)	دمای تکثیر	زمان	منبع
Tetracycline	*tetA*	GTGAAACCCAACATACCCC GAAGGCAAGCAGGATGTAG	۸۸۸	۵۵	۶۰S	۱۸
Tetracycline	*tetB*	CCTTATCATGCCAGTCTTGC ACTGCCGTTTTTTCGCC	۷۷۴	۵۵	۶۰S	۱۸
Fluoroquinolone	*qnrA*	ATTTCTCACGCCAGGATTTG GATCGGCAAAGGTTAGGTCA	۵۱۶	۵۵	۶۰S	۱۹
Gentamicin	*aac (3)IIa*	CGGAAGGCAATAACGGAG TCGAACAGGTAGCACTGAG	۷۴۰	۵۵	۶۰S	۱۸
Sulfonamide	*Sul1*	CGGCGTGGGCTACCTGAACG GCCGATCGCGTGAAGTTCCG	۴۳۳	۶۵	۶۰S	۱۵
-	*16srRNA*	16S-F, GCGGACGGGTGAGTAATGT 16S-R, TCATCCTCTCAGACCAGCTA	۲۰۰	۵۵	۶۰S	۱۵

جدول ۲- تعداد و درصد بیماران دیابتیک مبتلابه عفونت ادراری بر اساس جنسیت

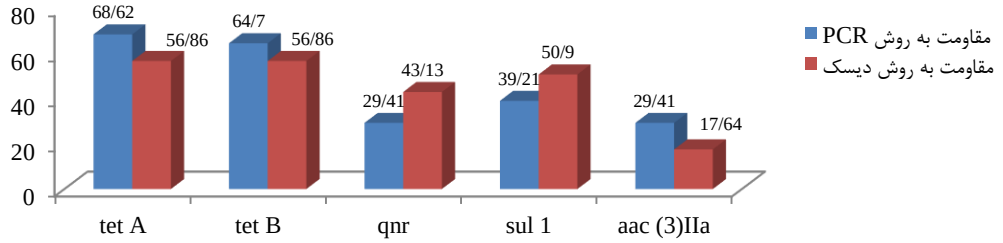
جنسیت	بیماران دیابتی مبتلابه UTI		بیماران دیابتی عدم مبتلا به UTI		p-value
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
زن	۷۰	۷۰	۱۱۰	۵۵	۰/۰۱۲
مرد	۳۰	۳۰	۹۰	۴۵	

جدول ۳- فراوانی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های *اشریشیا کلی*

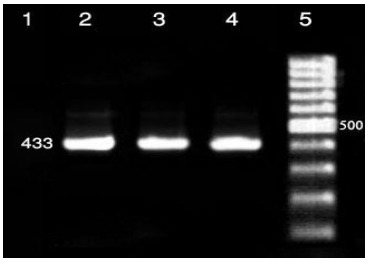
نوع ژن	آنتی‌بیوتیک	مقاومت به روش PCR	مقاومت به روش دیسک	p-value
tet A	تتراسایکلین	۳۵ (٪ ۶۲/۶۸)	۲۹(۸۶/۵۶ ٪)	۰/۰۰۰
tet B	تتراسایکلین	۳۳(٪ ۷/۶۴)	۲۹(٪۸۶/۵۶)	۰/۰۰۰
qnr	کینولون ها	۱۵(٪ ۴۱/۲۹)	۲۲(٪۱۳/۴۳)	۰/۳۵۶
sul 1	سولفونامیدها	۲۰(٪ ۲۱/۳۹)	۲۶(٪۹۰/۵۶)	۰/۳۵۶
aac (3)IIa	جنتامایسین	۱۵(٪ ۴۱/۲۹)	۹(٪۶۴/۱۷)	۰/۳۵۶



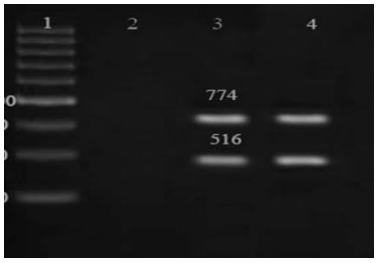
نمودار ۱- مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *اشریشیا کلی* جداشده از موارد عفونت ادراری بیماران دیابتی در شهرکرد در دو جنس زن و مرد



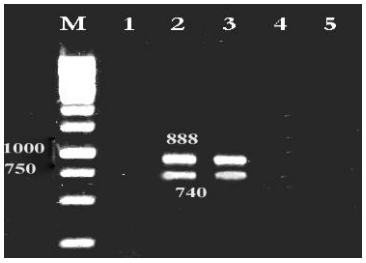
نمودار۲- فراوانی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های *اشریشیا کلی*



شکل ۳- الکتروفورز محصولات PCR. ستون ۵: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمنتاز. ستون های ۲ ، ۳ و ۴ باند ۴۳۳ جفت بازی مربوط به ژن *sul1*. ستون ۱: کنترل منفی



شکل ۲- الکتروفورز محصولات PCR. ستون ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمنتاز، ستون ۲: کنترل منفی، ستون های ۳ و ۴ باند ۷۷۴ جفت بازی مربوط به ژن *tetB*. و باند ۵۱۶ جفت بازی مربوط به ژن *qnr*



شکل ۱- الکتروفورز محصولات PCR. به ترتیب از چپ، ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمنتاز. ستون ۱: کنترل منفی ستون های ۲ و ۳ باند ۸۸۸ جفت بازی مربوط به ژن *tetA* و باند ۷۴۰ جفت بازی مربوط به ژن *aac (3)IIa*. ستون های ۴ و ۵: نمونه‌های منفی

بحث

اشریشیا کلی عامل بیش از ۸۰ درصد از موارد UTI می باشد. مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بر اساس الگوهای درمانی که در مناطق مختلف صورت می‌گیرد، متفاوت است. به عنوان مثال در مطالعه ما بیشترین مقاومت نسبت به آمپی سیلین (۶۶/۶۶ درصد) و کمترین مقاومت نسبت به نیتروفورانتئین (۱/۹۶ درصد) بود در این تحقیق مقاومت به تتراسیکلین ۵۶/۸۶ درصد، کوتریموکسازول ۵۴/۹۰ درصد، نالیدیکسیک اسید ۵۲/۹۴ درصد، کوتریموکسازول ۵۴/۹۰ درصد، سیپروفلوکساسین ۳۹/۲۱ درصد، سفالوتین ۴۱/۱۷ درصد، نورفلوکساسین ۳۵/۲۹درصد، سفتریکسون ۲۳/۵۲درصد، آمیکایسین ۲۵/۴۹درصد، ایمی پنم ۲۳/۵۲درصد، مقاومت به جنتامایسین ۱۷/۶۴درصد بر آورد گردید. در تحقیق انجام شده توسط عبدالهی خیرآبادی و همکاران که بر روی ۲۳۴ ایزوله *اشریشیاکلی* جداشده از بیماران سرپایی و بستری شده شهرستان فسا صورت گرفت، بیشترین میزان مقاومت به آموکسی‌سیلین (۸۰/۸درصد) و آمپی سیلین (۷۰/۵درصد) و بیشترین میزان حساسیت به ترتیب، آمیکاسین (۹۸درصد)، توبرامایسین و سفوکسیتین (۹۰/۲درصد)، ایمی پنم (۸۶/۹ درصد)، کانامایسین (۸۷/۶ درصد)، جنتامایسین (۸۷/۲ درصد)، سفتازیدیم (۸۶/۳ درصد) و سیپروفلوکساسین (۷۷/۳ درصد) گزارش گردید(۲۰). در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۹۰ توسط مهاجری و همکارانش در کرمانشاه منتشر شد، از ۲۰۰ سویه *اشریشیاکلی* مورد بررسی، ۲۷درصد نمونه‌ها به سفوتاکسیم، ۲۲/۵درصد نمونه‌ها به سفتازیدیم و ۲۶درصد نمونه‌ها به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند. مقاومت نمونه‌ها به کوتریموکسازول ۶۲/۵ درصد و در مورد جنتامایسین ۱۵ درصد بود و تمامی آن‌ها به ایمی پنم و آمیکاسین حساس بودند (۲۱). در مطالعه‌ی دیگری که توسط فرشاد و همکارانش به‌منظور ارائه‌ی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *اشریشیاکلی*‌های جداشده از عفونت ادراری صورت گرفت، مقاومت نمونه-ها به کوتریموکسازول ۷۶درصد، تتراسایکلین ۷۰/۸

درصد، جنتامایسین ۱۵/۶درصد، آمیکاسین ۳درصد و سیپروفلوکساسین ۸/۳ درصدگزارش شد و مقاومتی نسبت به ایمی پنم مشاهده نشد که با نتایج حاصل از تحقیق ما متفاوت می‌باشد (۲۲). مباشر کارجدی و همکارانش در تبریز، مقاومت ایزوله‌ها به تمام آنتی‌بیوتیک‌ها به استثنای ایمی پنم (۱۰۰درصد حساس) را بیش از بررسی حاضر گزارش دادند (۲۳). در تحقیق انجام شده توسط نخعی مقدم و همکاران که بر روی ۱۰۹ ایزوله *اشریشیا کلی* عفونت ادراری انجام شد، مقاومت ایزوله‌ها نسبت به کوتریموکسازول، نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، پلی میکسین و نیتروفورانتوئین به ترتیب ۵۵/۰۵، ۳۴/۸۶، ۲۱/۱۰، ۱۲/۸۴، ۴/۷۵ و ۱/۸۳ درصد گزارش گردید. در این تحقیق بیشترین مقاومت نسبت به کوتریموکسازول و کمترین مقاومت نسبت به ایمی‌پنم گزارش گردید (۲۴). در تحقیق ما مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین و نورفلوکساسین به ترتیب ۵۲/۹۴، ۳۹/۲۱ و ۳۵/۲۹ درصد برآورد گردید در حالی که نخجوانی و همکاران در ۲۰۰۷ میزان مقاومت نسبت به نالیدیکسیک اسید و سیپروفلوکساسین را به ترتیب ۴۹/۳درصد و ۴۰/۲ درصد گزارش کردند. که با نتایج حاصل از تحقیق ما از مغایرت دارد که دلیل این تضادها می‌تواند در سال و محل اخذ نمونه‌گیری باشد (۲۴). در مطالعه‌ای که در آمریکا توسط سانچز و همکارانش به‌منظور بررسی میزان مقاومت ضد میکروبی *اشریشیاکلی* طی سال‌های ۲۰۰۲ تا ۲۰۱۰ انجام شد، مشخص گردید که میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین از ۳درصد به ۱۷/۱درصد افزایش یافته است و مقاومت به کوتریموکسازول از ۱۷/۹ به ۲۴/۲درصد صعود داشته است (۲۵).

منشا این تفاوت‌ها در نقاط مختلف را می‌توان تفاوت‌های ژنتیکی افراد، تفاوت‌های ژنتیکی سویه‌ها و تفاوت در زمینه‌های دیگر دانست که با توجه به این امر، الگوهای درمانی مورد استفاده در نقاط مختلف، متفاوت و براساس ویژگی‌های خاص هر منطقه تعریف می‌شود. بنابراین بایستی تحقیقات منظم و دنباله داری در نقاط مختلف جهان انجام شود. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه گیری کرد که حساسیت به این آنتی‌بیوتیک‌ها به دلیل عواملی ازجمله تجویز مکرر و غیر منطقی آنتی‌بیوتیک‌ها، جهش‌های آنزیماتیک و هم چنین انتقال مقاومت از طریق پلاسمیدها کاهش یافته است. با توجه به بررسی نتایج این مطالعه و دیگر تحقیقات و با توجه به افزایش روز افزون مقاوم تنها به انواع مواد ضد میکروبی ازجمله سیپروفلوکساسین و ایمی پنم که ازجمله شاخص‌های درمانی برای عفونت‌های *اشریشیا کلی* هستند، لزوم مطالعات بیشتر در این زمینه و هم چنین کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک و تجویز منطقی آن‌ها توسط پزشکان ضروری به نظر می‌رسد (۲۷ و ۲۶).

امروزه به دلیل مقاومت آنتی بیوتیکی به داروهای خط اول، کینولون‌ها و فلوروکینولون‌ها داروهای انتخابی درمان عفونت‌های ادراری ناشی از این باکتری را تشکیل می‌دهند. ژن‌های *qnr* جزء عوامل مقاومت کینولونی وابسته به پلاسمید (PMQR) هستند که به دلیل قرار گیری بر روی اینتگرون‌های مختلف باعث گسترش بسیار سریع مقاومت در باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه می‌شوند. کینولون‌ها خانوادهای از آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف صناعی هستند. این عوامل به عنوان داروی انتخابی اول در درمان عفونت‌های دستگاه ادراری ناشی از باکتری‌های گرم منفی هوازی ازجمله *اشریشیا کلی* مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما به دلیل استفاده بی رویه از این داروها روز به روز میزان مقاومت نسبت به این داروها در حال افزایش می‌باشد به‌طوری که طی سال‌های اخیر مقاومت سطح بالا به داروهای با اهمیت فوق که در ارتباط با ژن‌های وابسته به پلاسمید *qnr* می‌باشند، بروز نموده و درمان*های* عفونت‌های ذکر شده را بسیار پیچیده نموده است مقاومت کینولونی وابسته به پلاسمید (PMQR) به دلیل گسترش سریع در بین انتروباکتریاسه‌ها نقش بسیار مهمی در مقاومت به این داروها دارد(۲۹و۲۸). در تحقیق انجام شده توسط سلیمانی اصل و همکاران که بر روی ۱۴۰ ایزوله *اشریشیا کلی* عامل عفونت ادراری در سال ۱۳۹۱ انجام گرفت مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید و سیپروفلوکساسین به ترتیب ۸۲/۸ درصد و ۴۳ درصد

گزارش گردید که نسبت به تحقیق ما از مقاومت بالاتری برخوردار می‌باشند. در این تحقیق مشخص گردید ۱۲/۱درصد از ایزوله‌های مقاوم به نالیدیکسیک اسید و ۱۴/۳درصد از ایزوله‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین دارای ژن *qnrA* می‌باشند (۱۹). ازجمله آنتی بیویک‌های کینولونی مورد استفاده در این تحقیق نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین و نورفلوکساسین بودند که میزان مقاومت به آن‌ها به ترتیب ۵۲/۹۴، ۳۹/۲۱ و ۳۵/۲۹درصد برآورد گردید. در این تحقیق در ایزوله مقاوم به آنتی‌بیوتیک هلی کینولونی ژن *qnr* در ۱۵ نمونه (۲۹/۴۱درصد) گزارش گردید. نتایج حاصل از فراوانی ژن *qnr* در تحقیق ما با نتایج سلیمانی اصل و همکاران تقریبا تطابق دارد. در مطالعه انجام شده در پاکستان در سال ۲۰۱۱ مقاومت در ایزوله‌های ادراری *اشریشیا کلی* نسبت به سیپروفلوکساسین و نالیدیکسیک اسید به ترتیب ۳۶/۴۵ و ۸۴/۱۶ درصدگزارش گردید (۳۰). مقاومت بالا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کینولونی می‌تواند ناشی از مصرف بی رویه و بدون نظارت داروهای فوق باشد. در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۰۶ در آمریکا مقاومت نسبت به کینولون‌ها ۲۱ درصد و مقاومت نسبت به فلوروکینولون‌ها ۱۲درصد گزارش شده است (۳۱). اختلاف نتایج مطالعه انجام شده در آمریکا با مطالعه حاضر از نظر میزان مقاومت مشاهده شده میتواند به دلیل وجود برنامه‌های نظارتی دقیق تر در آن کشور و در دسترس نبودن داروهای با در جدایه‌های اهمیت فوق باشد.. مطالعات حاکی از آن است که یک ارتباط مستقیم بین میزان مصرف کینولون‌ها و درصد مقاومت به این آنتی بیوتیک‌ها وجود دارد (۱۸). آمریکا و کانادا اکثریت جدایه‌های بالینی *اشریشیا کلی* به فلوروکینولون‌ها حساس اند، با این حال جدایه‌های مقاوم به این آنتی بیوتیک‌ها در حال افزایش اند (۲۷). افزایش مقاومت به سیپروفلوکساسین در انتروباکتریاسه با افزایش شیوع ژن‌های PMQR مرتبط است و این تغییر در مقاومت شامل افزایش در تنوع ژن‌های PMQR و شیوع جهش در ژنهای *par*C و gyrA یا هر دو در سویه‌های PMQR مثبت است.

Okten وهمکاران در سال ۲۰۰۷ در ترکیه ۳۴ ایزوله *اشریشیا کلی* ESBL مثبت را موردبررسی قر ار دادند در این تحقیق ۴۷/۴درصد ایزوله نسبت به نالیدیکسیک اسید حساس بودند و ۷۶/۸درصد ایزوله‌ها هم زمان به سیپروفلوکساسین و نالیدیکسیک اسید حساسیت داشتند. در این تحقیق ۶/۳درصد ایزوله حامل ژن *qnr* بودند که نسبت به تحقیق ما از فراوانی کمتری برخوردار بود (۲۹). Periera و همکاران در سال ۲۰۰۷ با بررسی ۱۴۴ ایزوله *اشریشیا کلی* جداشده از موارد عفونت ادراری مقاوم به سیپروفلوکساسین تنها در یک مورد ژن *qnr* گزارش کردند (۳۲). از آن جا 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. آمینوگلیکوزیدها طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های مفید علیه سویه‌های بیماریزای ادراری *اشریشیا کلی* می‌باشند مهم ترین سازوکار مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها ناشی از آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها مانند آمینوگلیکوزید استیل ترانسفرازهاست (ACs). آمینوگلیکوزید استیل ترانسفرازها یکی از چهار گروه آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی را استیله می‌کنند. این آنزیم‌ها را در باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌توان ردیابی کرد. این خانواده از چهار رده بزرگ، بر اساس مکان اختصاصی انتقال گروه استیل بر روی آمینوگلیکوزید، تشکیل شده است که شامل: AAC(6)، AAC(2) ، AAC(1)و AAC(3) می‌باشند. در این میان، استیل ترانسفرازهای AAC(3) ، شایع ترین آنزیم در خانواده انتروباکتریاسه به شمار می‌آیند. سوبسترای آنزیم AAC(3)-II جنتامیسین و توبرامایسین می‌باشد و سه ژن *aac(3)-IIa* و *aac(3)-IIb* و *aac(3)-IIc* کد کننده آنزیم‌های مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها هستند (۳۳). در تحقیق ما از ۵۱ ایزوله مورد بررسی مقاومت نسبت به جنتامایسین در ۹ مورد (۱۷/۶۵درصد) مشاهده گردید. این درحالی است که مومنی مفرد و همکاران در تحقیقی که بر روی ۱۰۰ ایزوله *اشریشیا کلی* جداشده از موارد عفونت‌های ادراری در شهرستان

دلفان لرستان انجام دادند، مقاومت به جنتامایسین را ۲۹درصد گزارش کردند. در این تحقیق فراوانی ژن *aac(3)-IIa* در ایزوله‌های مقاوم به جنتامایسین۹۲/۳درصد گزارش گردید. در مطالعه ای توسط Kong و همکاران در چین که بر روی فنوتیپ مقاومت به آمینوگلیکوزیدها و ژنوتایپینگ استیل ترانسفرازها بر روی ۴۴ ایزوله بالینی *اشریشیا کلی* انجام گرفت، درصد مقاومت به جنتامیسین، توبرامایسین وآمیکاسین به ترتیب ۵۶/۸۲، ۶۱/۳۶ و ۱۸/۱۸درصد گزارش گردید. هم چنین ژن *aac(3)-II* به عنوان شایع ترین ژنوتیپ (۵۲/۲۷درصد) در ارتباط با فنوتیپ مقاومت به جنتامیسن و توبرامایسین گزارش گردید (۳۴).

ازجمله دلایل تفاوت در فراوانی مقاومت به برخی از آمینوگلیکوزیدها در مطالعات فوق نسبت به مطالعه ما می‌تواند تفاوت در نوع ایزوله‌ها ادراری، بالینی، توزیع متنوع ژن‌های مقاومت در نواحی مختلف جغرافیایی و الگوی تجویز و مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها باشد به‌طور کلی توزیع فراوانی مقاومت به این داروهای کارآمد و ارزان از منطقه ای به منطقه دیگر متفاوت بوده و این امر لزوم انجام تست‌های حساسیت میکروبی قبل از شروع درمان را گوش زد می‌کند. علت مقاومت بالای مشاهده شده در ایزوله‌های *اشریشیا کلی* نسبت به سولفونامیدها می‌تواند به علت مصرف بی رویه و خودسرانه آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول (ترکیب تری متوپریم و سولفونامید) در موارد عفونت‌های انسانی و انتقال ژن مقاومتی به باکتری‌های دیگر باشد به‌طوری که موفقیت درمان با این آنتی‌بیوتیک در بیماران (مبتلابه عفونت‌های مجاری ادراری) رو به کاهش است. به این ترتیب انتقال ژن‌های مقاومت به باکتری‌های موجود در محیط می‌تواند باعث افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های *اشریشیا کلی* جداشده از محیط گردد. مقاومت نسبت به سولفونامیدها به واسطه پلاسمید بوده و با تغییر دی هیدروپتروات سنتتاز صورت می‌گیرد. پلاسمیدها عوامل ژنتیکی می‌باشند که در خارج از کروموزم میزبان قرار دارند و به‌صورت مستقل از کروموزم میزبان قادر به تکثیر می‌باشند و حاوی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌باشند. از خصوصیات ویژه پلاسمیدها انتقال ساده آن‌ها بین سلول‌ها می‌باشد (۳۵-۳۷).

سه ژن کد شونده به نام‌های *sul 1*، *sul 2* و *sul 3* شناخته شده است که باعث ایجاد مقاومت نسبت به سولفونامیدها در باکتری‌های پاتوژن می‌گردد. ژن *sul 1* به‌طور عمده همراه با اینتگرون کلاس ۱ می‌باشد در حالی که *sul 2* بیشتر روی پلاسمیدهای ناسازگار متعلق به گروه incQ یا پلاسمیدهای کوچک که پلاسمیدهای pBP1 نامیده می‌شوند قرار می‌گیرد. ممکن است این پلاسمیدها علاوه بر این ژن‌ها حامل ژن‌های مقاومت به دیگر گروه‌های آنتی‌بیوتیکی باشند. این پلاسمیدها به سهولت بین سویه‌ها و گونه‌های مختلف از پاتوژن‌های روده ای منتقل می‌شوند (۳۷).

با توجه به نقش ژن‌های *sul* در ایجاد مقاومت به سولفونامیدها مطالعه حاضر بر روی ۵۱ ایزوله *اشریشیا کلی* عامل عفونت ادراری در بیماران دیابتی انجام گرفت. در این تحقیق فراوانی ژن *sul 1* ۳۹/۲۱ درصدگزارش گردید.

Bean و همکاران در مطالعه ای که بر روی ۳۹۱ ایزوله *اشریشیا کلی* جداشده از موارد عفونت‌های ادراری در بیمارستان رویال لندن انجام دادند، مقاومت به سولفونامیدها را ۴۵/۵ درصد گزارش کردند و فراوانی ژن *sul 2* در ایزوله‌های *اشریشیا کلی* مقاوم ۸۱ درصد گزارش گردید که نسبت به تحقیق ما از فراوانی بالاتری برخوردار می‌باشد (۳۷). در تحقیق انجام شده توسط Norouzi و همکاران که به‌منظور ردیابی ژن *sul 2* در باکتری‌های *اشریشیا کلی* جداشده از موارد عفونت ادراری مراجعه‌کننده به مراکز کلینیکی شهر خوی بر روی ۳۰۰ بیمار انجام گرفت، مقاومت به کوتریموکسازول ۷۱ درصد و فراوانی ژن *sul 2* ۸۰ درصد گزارش گردید که نسبت به تحقیق ما از فراوانی بالاتری برخوردار می‌باشد (۳۸). کولجالگ و همکارانش به بررسی ۷۸ ایزوله *اشریشیا کلی* جداشده از کودکان مبتلا به عفونت مجاری ادراری پرداختند که میزان مقاومت به کوتریموکسازول را ۴۰ درصدگزارش کردند. در این تحقیق فراوانی ژن *sul 2* در ایزوله‌های مقاوم به

کوتریموکسازول ۴۰ درصد گزارش گردید (۳۹). Al-Agamy میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول را در ۱۰۰ ایزوله *اشریشیا کلی* جداشده از موارد عفونت ادراری را ۶۲ درصد گزارش کرد و فراوانی ژن *sul* 2 در ایزوله‌های مقاوم به کوتریموکسازول ۸۶/۳۶ درصدگزارش گردید (۳۸). به این ترتیب مشخص می‌گردد که در تمامی تحقیقات انجام شده توسط محقیقین مختلف ژن *sul* 2 نسبت به ژن‌های *sul* 1 و *sul* 3 از فراوانی بالاتری برخوردار می‌باشد.

نتیجه گیری کلی

جلوگیری از انتشار مقاومت‌های دارویی یکی از مسائل مهم درمان عفونت‌ها در جامعه محسوب می‌شود .با توجه به افزایش شیوع مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌ها، تشخیص سریع و به موقع سویه‌های مقاوم به‌منظور انتخاب گزینه‌های درمانی مناسب و جلوگیری از گسترش مقاومت، امری ضروری به نظر می‌رسد. هم چنین پیشنهاد می‌شود، درمان عفونت‌های ادراری که از اهمیت خاصی برخوردار است، با توجه به الگوی حساسیت و مقاومت منطقه صورت گیرد تا از ایجاد پدیده مقاومت دارویی و شکست‌های درمانی که منجر به عارضه دارشدن عفونت می‌گردد، جلوگیری شود.

منابع

1. Demirci M, Ünlü Ö, Tosun Aİ. Detection of O25b-ST131 clone, CTX-M-1 and CTX-M-15 genes via real-time PCR in Escherichia coli strains in patients with UTIs obtained from a university hospital in Istanbul. J Infect Public Health 2019; 12(5):640–644.
2. Xia P, Zou Y, Wang Y, Song Y, Liu W, Francis DH, Zhu G. Receptor for the F4 mbriae of enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC). Appl Microbiol Biotechnol. 2015; 99:4953–9.
3. Hassan Mumtaz. Fatemeh Reisi 2, Zahra Bamzadeh. Molecular typing of uropathogenic Escherichia coli strains (UPEC) in the province Isfahan and Genetic classification of O25 serogroup isolates by ERIC-PCR method. Journal of Applied Biology. 2019; 9(1).31-42.
4. Maiese K, New insights for oxidative stress and diabetes mellitus. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2015; 2015: 1-17
5. AsmatU, Abad K, Ismail K, Diabetes mellitus and oxidative stress -A concise review. Saudi Pharm J., 2016; 24(5): 547-553.
6. Szablewski L, Sulima A, The structural and functionalchanges of blood cells and molecular components indiabetes mellitus. Biol Chem., 2017; 398(4): 411-423.
7. Fünfstück R, Nicolle LE, Hanefeld M, Naber KG, Urinary tract infection in patients with diabetes mellitus. Clin Nephrol., 2012; 77(1): 40-48.
8. Wang MC, Tseng CC, Wu AB, Lin WH, Teng CH, Yan JJ, Wu JJ, Bacterial characteristics and glycemiccontrol in diabetic patients with Escherichia coliurinary tract infection. J Microbiol Immunol Infect., 2013; 46(1): 24-29.
9. Zaha DC, Jurca CM, Daina LG, Vesa CM, Popa AR, Jurca AD. Muresan M. Micle O. Prevalence of urinary tract infection and antimicrobial susceptibily among diabetic patients farmacia; 2020, Vol. 68, 2. 20-255.
10. Erb A, Sturmer T, Marre R, Brenner H. Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli*: overview of geographical, temporal, and methodological variations. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2007;26: 83–90.
11. Erfaneh Jafari, Mana Oloomi and Saeid Bouzari. Characterization of antimicrobial susceptibility, extended-spectrum β-lactamase genes and phylogenetic groups of Shigatoxin producing *Escherichia coli* isolated from patients with diarrhea in Iran. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials; 2021: 20:24. .
12. Golnar Rahimzadeh1, Mohammad Sadegh Rezai2, Elaheh Ahmad. Lytic Activity of Isolated Phage from Milk Against Extended-Spectrum Beta-LactamaseEscherichia col. Journal of Mazandaran *University* of *Medical Sciences* JMUMS; 2021: 192. 139-144 (In persion)

13. Alonso, C.A.; Zarazaga, M.; Ben Sallem, R.; Jouini, A.; Ben Slama, K.; Torres, C. Antibiotic resistance inEscherichia coliinhusbandry animals: The African perspective.Lett. Appl. Microbiol; 2017: 64, 318–334.
14. Yusser Mahmoud Ragheb, Ali Hazim Abdulkarim. Phenotypic and Genotypic Detection Ampc β-Lactmase Producing *E.coli* Isolated from UTI in Anbar Governate. Annals of R.S.C.B; 2021: 25 (4): 1181 – 1192
15. 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 sulphonamide resistance. J Antimicrob Chemother; 2002: 50, 513–51.
16. Mohammadi J, Amini K. Detection of Virulence Genes in Uropathogenic *E. coli* (UPEC) Strains byMultiplex-PCR Method. Journal of Fasa University of Medical Sciences; 2017: 7(1). 128-133.
17. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): Methods for disk antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A5. Wayne, Pa: 2003.
18. Maynard C, Bekal S, Sanschagrin F, Levesque RC, Brousseau R, Masson L, Larivière S, Harel J. Heterogeneity among virulence and antimicrobial resistance gene profiles of extra intestinal *Escherichia coli* isolates of animal and human origin. J Clin Microbiol.; 2004: 42 (12):5444-52.
19. 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. 17(5): 488-495.
20. Akbari-Nakhjavani F, Mirsalehi A, Hamidian M, Kazemi B, Mirafshar M, Jabal Ameli F. 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.
21. Mohajeri P, Izadi B, Rezai M, Falahi B, Khademi H, Ebrahimi R. Assessment of the frequency of Extended Spectrum Beta Lactamases Producing Escherichia coli Isolated from urinary tract infections and its antibiotic resistance pattern in Kermanshah. J Ardabil Univ Med Sci; 2011: 11(1):86-94.
22. Farshad Sh Ranjbar R, Anvarinejad M, Shahidi M, Hosseini M. Emergence of Multi Drug Resistant Strains of *Eschetichia coli* isolated from Urinary Tract Infection. The Open Conference Proceedings Journal; 2010: 1(4): 192-196
23. Mobasher Kare Jeddi AR, Nahaei MR, Mobayyen H, Pornour M, Sadeghi J. Molecular study of extended-spectrum beta-lactamase (SHV type) in Esherichia coli and *Klebsiella pneumoniae* isolated from Medical Centers of Tabriz. Iranian J Med Microbiol; 2008: 2(3):9-17.
24. Nakhai Moghaddam M, Musharraf Sh. Determining the pattern of antibiotic resistance of Escherichia coli urinary isolates and the prevalence of broad-spectrum beta-lactamases among them. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences and Health Services; 2009; 4, 223-228. (In persion).
25. Sanchez GV, Master RN, Karlowsky JA, Bordon JM. In vitro antimicrobial resistance of urinary *Escherichia coli* isolates among U.S. outpatients from 2000 to 2010. Antimicrob Agents Chemother; 2012: 56(4):2181-2183.
26. Kausar J, Afia Z, Rumina H. Frequency and sensitivity pattern of extended spectrum beta lactamases – producing isolates in a tertiary care hospital laboratory of Pakistan. Pub Med Assoe; 2005: 55(10):436-439.
27. . Poole K. Resistanc to β– lactam antibiotic, cell Mol life; 2004: 61(17):2200 –2223.
28. Nazik H, Bektore B, Ongen B, Ozuyrt M, Baylan O, Haznedaroglu T. Co-expression of plasmid-mediated quinolone resistance-qnrA1 and blaVEB1 gene in Providensia staturii strain. New Microbiol; 2011: 34(2): 225-228.
29. Okten CA, Gales AC, Tognim MC, Munerato P, Dalla Costa LM. Quinolone-resistant clinical *Escherchia coli*. Braz J Infect Dis.; 2008: 12(1): 5-9.
30. 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): 462-466.
31. . Karlowsky JA, Hoban DJ, Decorby MR, Laing M L, Zhanel GG. Flouroquinolone 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): 2251-2254.
32. Pereira AS, Andrare 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): 40-43.
33. Momeni Mofrad S, Goodarzi Gh, Shakib P, Nowruzi c. Frequency of aac (3) - IIa gene in clinical isolates of Escherichia coli isolated from patients with urinary tract infections in Delfan city of Lorestan in 2010. Iranian Journal of Medical Microbiology; 2013: 7 (2): 26-20. (In persion)
34. Japoni A, Goudarzi M, Farshad Sh, Basiri E, Ziyaeyan M, *et al*. Assay for integrons and pattern of antibiotic resistance in clinical *Escherichia coli* strains by PCR-RFLP in southern Iran. Jpn J Infect Dis; 2008: 61(1):85-8.
35. Carattioli A. Resistance plasmide families in *Enterobacteriaceae.* J Antimicrob Chemother. 2009: 53: 2227-2238.
36. Mulvey M, Simor A. Antimicrobial resistance in hospitals: How concerned should we be? CMAJ; 2009: 180: 408-415.
37. Bean DC, Livemore D, Hall LM. *E.coli* implications for Plasmids imparting sulfonamide resistance in persistence. Antimicrob Agents Chemother*;* 2009: 53 (5): 1088-1093
38. Al-Agamy M. Molecular resistance mechanisms to older antimicrobial agents in *Escherichia coli* isolates. J African Microbiol; 2012: 6: 106-111.
39. Hammerum A, Sandvaye D, Andersen SR. Detection of *sul1, sul2, sul3*, in sulfonamide resistant *Escherichia coli* isolates obtained from healthy humans pork and pigs in Denmark. Int J Food Microbiol; 2006: 106 (4): 235-239.

Determination of phenotypic and genotypic pattern of antibiotic resistance in Escherichia coli isolates isolated from diabetic patients in Shahrekord

Fatemeh Khodaverdipour[1] ,*Amin Roozbehi[1]

1.Ph.D Student,Department of Microbiology, Faculty of Basic Siences, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.

amin.roozbehi.1370@gmail.com ***Corresponding author**:*

Abstract

Preventing the spread of drug resistance is one of the most important issues in society. Escherichia coli is one of the most common bacterial agents isolated from the urinary tract and nosocomial infections. Treatment of infections due to it is difficult due to the acquisition of resistance genes. This study aimed to investigate the phenotypic and genotypic pattern of antibiotic resistance in clinical uropathogenic strains isolated from diabetic patients.A total of 51 *E. coli* isolates from urinary tract infection in diabetic patients obtained from clinical, were used in this study. Isolates were confirmed by chemical tests and molecular techniques based on tracking of the *16srRNA* gene. Antimicrobial resistance assessment of isolates was done using molecular methods base on *(qnrA, tet A, tet B, aac (3)IIa, sul*1) and disk diffusion. Most resistance r to ampicillin (66.66%) and the lowest resistance to Nitrofurantoin (1.96%) were reported. The frequency of *tet A, tet B, qnr A, sul 1 and aac (3) IIa* genes reported 68.62%, 64.7%, 29.41%, 39.21%, and 29.41% respectively. The statistical analysis shows a significant relationship between resistance to the antibiotic tetracycline and the gene *tet A, tet B* statistically.Early detection of resistant strains to select the most appropriate treatment options is essential to prevent the spread of resistance. It is suggested, as treatment for urinary tract infections is important, so to prevent drug resistance and treatment failure, it should be done according to the resistance pattern in the region.

Keywords: Antibiotic resistance, Diabetic patients, Uropathogenic *E. coli*