مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره هفتم، شماره بیست و پنجم - زمستان ۱۳۹۵

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

ارتباط جهش در ژن‌های *gyr A* و *par C* و مقاومت نسبت به فلوروکینولون‌ها در سویه‌های *E.coli* جدا شده از عفونت‌های ادراری

الهام سیاسی *، فرزانه حسینی، پویه رحیمی نیا

گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی ، واحد تهران شمال ،تهران ، ایران.

چکیده :

سابقه و هدف: عفونت ادراری از شایع‌ترین بیماری‌هایی است که باکتری‌های خانواده *انتروباکتریاسه* ایجاد می‌نمایند و از این باکتری‌ها، *E.coli* ۹۰٪ موارد را شامل می‌شود. هدف یافتن علل مقاومت به فلوروکینولون‌ها که رایج‌ترین آنتی بیوتیک در درمان این عفونت‌ها است، می باشد.

مواد و روش‌ها: ۱۰۰ نمونه ادراری جمع آوری شد و با آزمون‌های بیوشیمیایی بررسی شدند. سپس برای نمونه‌های *E.coli* ایزوله شده تست مقاومت آنتی بیوتیکی انجام شد و میزان مقاومت آن‌ها به آنتی بیوتیک‌های فلوروکینولونی سنجیده شد. سپس سویه‌های مقاوم برای وجود جهش در ژن‌های کروموزومی *gyr A* و *par C* با روش PCR و Sequencing بررسی شدند.

یافته‌ها: از میان ۱۰۰ نمونه، ۷۰ مورد باکتری *E.coli* و ۳۰ مورد باکتری *کلبسیلا* جدا سازی شد. با انجام تست آنتی بیوگرام روی ۷۰ مورد باکتری *E.coli*، حدود ۴۵ نمونه (۶۴/۲۸ درصد) به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون‌ها مقاوم بودند. تکثیر و تعیین توالی ژن‌های *gyr A* و *par C* در نمونه‌های مقاوم، به ترتیب حضور ۵ و ۲ جهش را در ناحیه خاصی از ژن‌های مذکور نشان داد.

نتیجه‌گیری: آنتی بیوتیک‌های فلوروکینولونی از داروهای مؤثر در درمان عفونت‌های ادراری هستند و جهش در ژن‌های کد کننده DNA ژیراز و توپوایزومراز IV در *E.coli* با ایجاد مقاومت به فلوروکینولون‌ها مرتبط است. نتایج این تحقیق نشان داد که بین مقاومت به کینولون‌ها و جهش در ناحیه خاص ژن‌های *gyr A* و *par C* از *E.coli* ارتباط معنی‌داری وجود دارد.

کلمات کلیدی: ژن *gyr A* و *par C* ، فلوروکینولون‌ها، عفونت ادراری، *E.coli* .

مقدمه

عفونت ادراری یکی از شایع‌ترین بیماری‌هایی است که هر فردی در طول زندگی خود احتمال دارد به آن مبتلا شود.

نویسنده مسئول :
گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی ، واحد تهران شمال ،تهران ، ایران
پست الکترونیکی:emi_biotech2006@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۹/۵
تاریخ پذیرش:۱۳۹۵/۲/۲۲

باکتری‌های خانواده *انتروباکتریاسه* از عوامل اصلی ایجاد این عفونت هستند و در میان آن‌ها باکتری *E.coli*[1] حدود ۹۰ درصد را شامل می‌شود (۸، ۱۵). *اشریشیاکلی* بخشی از فلور طبیعی روده انسان و حیوان‌ها است. ولی گاهی توسط فاکتورهای بیماری زایی خود، توانایی بیماری زایی پیدا می-کند. این ارگانیسم عامل اصلی عفونت‌های مجاری ادراری (UTI)[1]، مننژیت و گاستروانتریت می‌باشد (۱۴). یکی از انواع داروهایی که برای درمان عفونت‌های حاصل از این خانواده-های باکتریایی و به خصوص *E.coli* مورد استفاده قرار می-گیرد، کینولون‌ها و فلوروکینولون‌ها می‌باشند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.7.1]

کینولون‌ها و فلوروکینولون‌ها، آنتی‌بیوتیک‌های وسیع الطیفی می‌باشند که هم در انسان و هم در حیوان‌ها و دامپزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این خانواده از داروها بر روی طیف وسیعی از باکتری‌ها تأثیر می‌گذارند (۱). در سال‌های اخیر استفاده از داروهای ضد میکروبی به ویژه خانواده فلوروکینولون‌ها از جمله سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید برای درمان عفونت‌های مجاری ادراری در اکثر کشورها در حال افزایش است و استفاده بیش از حد مجاز این داروها منجر به ایجاد مقاومت و ناموفق بودن درمان شده است. ظهور مقاومت‌های آنتی بیوتیکی در میان پاتوژن‌ها به ویژه در مراکز درمانی و بیمارستان‌ها به معضل بزرگ در رابطه با سلامت عمومی تبدیل شده است (۲،۱). مکانیسم مقاومت در *E.coli* برای داروهای ضد میکروبی مختلف، متفاوت است ولی مطالعه‌های اخیر نشان می‌دهد که این باکتری در بیش‌تر مواقع به اغلب آنتی بیوتیک‌ها به خصوص کینولون‌ها مقاوم شده‌اند. علت اصلی ایجاد مقاومت به آنتی بیوتیک‌های فلوروکینولونی جهش در ژن-های کد کننده زیر واحدهای A وB، در دو آنزیم DNA ژیراز و توپوایزومراز IV است، بنابراین چنین نتیجه می‌شود که این دو آنزیم هدف اصلی فلوروکینولون‌ها هستند که در باکتری *E.coli* مربوط به تغییر اهداف آنزیمی فلوروکینولون‌ها در اثر جهش می‌باشد (۴). DNA ژیراز یک آنزیم تترامریک می‌باشد که دارای دو زیر واحد A و دو زیر واحد B می‌باشد که به ترتیب توسط ژن‌های *gyr A* و *gyr B* کد می‌شوند و باعث باز شدن پیچش منفی DNA می‌شود. توپوایزومراز IV نیز یک آنزیم تترامریک بوده و از دو زیر واحد C و دو زیر واحد E تشکیل شده است که به ترتیب توسط ژن‌های *par C* و *par E* کد می‌شوند و نقش آن‌ها شرکت در جدا شدن کروموزوم دختری در همانند سازی ژنوم می‌باشد (۷،۵). مقاومت ناشی از موتاسیون‌های نقطه‌ای که به صورت خود به خودی ایجاد می‌شوند و باعث تعویض آمینواسیدها در ژن‌های DNA ژیراز و توپوایزومراز IV می‌شود، اغلب هم زمان با کاهش بیان منافذ ورودی غشاء و بیان بیش از اندازه سیستم پمپ‌های انتشار همراه است. این عمل به این علت صورت می‌گیرد که میکروارگانیسم سعی دارد تا غلظت ماده آنتی بیوتیکی را در قسمت داخل سلول به حداقل رساند. مطالعه‌ها نشان داده اند که جهش‌هایی که باعث القای مقاومت به کینولون‌ها می‌شوند در زیر واحد A، DNA ژیراز صورت پذیرفته است. این جهش‌ها بسیار در ناحیه‌ای که منطقه تعیین مقاومت به کینولون(QRDR) [1] نام دارد یافت می‌شوند (۹،۶). *E.coli* یک باکتری حساس نسبت به فلوروکینولون‌ها محسوب می‌شود اما به تازگی روند مقاوم شدن را در پیش گرفته است. در سال ۲۰۰۰ حدود ۷ درصد از نمونه‌های *E.coli* گرفته شده از ایالات متحده امریکا نسبت به ۳۰ مورد از این داروها مقاومت نشان دادند و حدود ۳ درصد تا ۴ درصد از آن‌ها نسبت به سیپروفلوکساسین مقاوم شناخته شده‌اند. مقاومت نسبت به فلوروکینولون‌ها در اسپانیا در طی سال‌های ۱۹۹۰ تا ۱۹۹۸ در *E.coli* جدا شده از نمونه عفونت ادراری از ۳ درصد به ۲۳ درصد افزایش یافته بود. در کشور تایوان ۱۱ درصد از ۱۲۰۰ نمونه جدا سازی شده به فلوروکینولون‌ها مقاوم بوده اند و ۲۲ درصد از نمونه‌ها، حساسیت‌شان به این داروها کاهش یافته بود (۱۰ ، ۱۳). در باکتری‌های گرم منفی نظیر *E.coli* و *کلبسیلا*، فلوروکینولون‌ها به طور عمده مانع از عمل DNA ژیراز می‌شوند، در حالی‌که در ارگانیسم‌های گرم مثبت مثل *استافیلوکوکوس اورئوس*، توپوایزومراز IV هدف اصلی می‌باشد. در *E.coli* میزان مورد نیاز از فلوروکینولون ها که بتواند فعالیت DNA ژیراز را ۵۰ درصد کاهش دهد ۴ تا ۸ برابر کم‌تر از میزانی است که برای جلوگیری از فعالیت توپوایزومراز IV مورد نیاز است. در هر دسته از میکرو ارگانیسم ها میزان حداقل غلظت جلوگیری کننده از رشد، بسیار نزدیک به میزان دارویی است که برای کاهش ۵۰ درصد فعالیت آنزیم نیاز است، پس نتیجه می‌شود که MIC فلوروکینولون‌ها به وسیله فعالیت آن‌ها بر علیه هدف اولیه آن‌ها مشخص می-شود (۱۳، ۱۷).

هدف از این تحقیق بررسی ارتباط بین مقاوم شدن باکتری *E.coli* ایجاد کننده عفونت‌های ادراری نسبت به آنتی بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون‌ها و حضور جهش در دو ژن *gyr A* و *par C* که دارای نواحی مقاومت نسبت به کینولون‌ها هستند، می‌باشد.

مواد و روش‌ها

۱- جمع آوری نمونه ادراری: در این مطالعه پژوهشی، تعداد ۱۰۰ نمونه مبتلا به عفونت ادراری از مراکز درمانی، بیمارستان‌ها و آزمایشگاه‌های دولتی و خصوصی شهر تهران

1 - Quinolone Resistance Determining Region

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.7.1]

جمع آوری شد. نمونه‌گیری‌ها از بیمارستان شهید لبافی نژاد، بیمارستان شهید چمران، بیمارستان خاتم الانبیاء، بیمارستان مدرس، درمانگاه الغدیر، آزمایشگاه خصوصی قلهک و آزمایشگاه خصوصی نیک، در مدت ۲ ماه انجام پذیرفت.

۲-کشت و جدا سازی : جهت کشت از محیط هایی مانند بلاد آگار و محیط های افتراقی از قبیل اندول، مک کانکی، ائوزین متیلین بلو، سیمون سیترات، اوره از، MR-VP ، SIM، TSI، BHI و مولر هینتون آگار استفاده شد. محیط های کشت برای ایجاد کلنی باکتری‌ها به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند.

۳- سنجش میزان مقاومت آنتی بیوتیکی: بعد از حصول اطمینان از نوع باکتری مورد نظر سنجش مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون‌ها تعیین گردید. آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش از خانواده فلوروکینولون‌ها عبارت بودند از: نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین، نورفلوکساسین، افلوکساسین، لووفلوکساسین که پس از تهیه و آماده سازی دیسک های آنتی بیوتیکی و تهیه کشت ۲۴ ساعت ار نمونه‌های جمع آوری شده تست آنتی بیوگرام انجام گرفت. برای این منظور از روش دیسک گذاری استفاده شد که با سوآپ به صورت کامل متراکم از نمونه‌های باکتری مورد نظر در محیط مولر هینتون آگار، کشت داده شد. پس از اتمام کشت، دیسک‌های مورد نظر را در کنار شعله با یک پنس استریل روی محیط کشت با فواصل مناسب از هم که قطر هاله‌ها در هم ادغام نشود، قرار داده شد. سپس پلیت‌ها به صورت وارونه در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شد. بعد از این زمان اندازه قطر هاله‌های عدم رشد در پلیت‌ها اندازه‌گیری گردید و با پروتکل استاندارد CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute guidelines) ۲۰۱۱ مقایسه گردید. در نهایت مقاومت باکتری‌های *E.coli* جدا شده نسبت به آنتی بیوتیک‌ها سنجیده شد.

۴- استخراج ژنوم باکتری: در این تحقیق ژنوم باکتری به وسیله کیت استخراج ژنوم MBST از درون سلول، استخراج و خالص سازی شدند. این کیت مخصوص استخراج ژنوم از سلول‌های پروکاریوت بوده و نکته مهم در مورد این کیت عدم نیاز به استخراج به وسیله فنول و کلروفرم و هم‌چنین رسوب اتانل است. این روش یک راه سریع، آسان و دقیق برای استخراج و خالص سازی ژنوم را فراهم آورده است.

۵- واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز: برای انجام واکنش PCR و تکثیر ناحیه خاص از ژن‌های *gyr A* و *par C* که مقاوم به کینولون‌ها می‌باشد، مواد مورد نیاز برای واکنش PCR به حجم ۲۵ µl برای هر ویال تهیه گردید که شامل بافرهای مخصوص PCR ۵ µl، پرایمر راست و چپ هریک ۱ µl ، نمونه DNA ۱ µl ، آنزیم Taq پلیمراز۲/۵ µl و آب مقطر بود. برنامه دستگاه PCR برای تکثیر این ژن ها عبارت بود از، مرحله واسرشتگی اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۵ دقیقه، مرحله واسرشتگی ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال ۶۴ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه، مرحله طویل شدن ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۷۰ ثانیه و مرحله طویل شدن نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۱۰ دقیقه، که این برنامه ۳۵ چرخه تکرار شد. پس از انجام PCR برای مشاهده صحت سایز قطعه‌های حاصل از تکثیر ژن‌ها، از دستگاه الکتروفورز و ژل آگاروز ۱/۵٪ و رنگ آمیزی اتیدیوم برامید استفاده گردید (در این آزمون به علت این‌که ناحیه خاص از ژن‌های *gyr A* و *par C* که مقاوم به کینولون‌ها می‌باشد (QRDR) از نمونه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک تکثیر داده شده است، تشکیل باند مربوط به ژن‌های *gyr A* و *par C* در مقابل مارکر مولکولی تأئید حضور ژن‌های مذکور در نمونه‌های مقاوم می‌باشد (به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد) و از ویال PCR بدون نمونه DNA (که در آن به جای DNA همان حجم آب مقطر افزوده شده است) به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

جدول ۱- پرایمرهای مورد نظر برای دو ژن *gyr A* و *par C*

ژن	توالی پرایمرها در جهت `3 - `5	طول قطعه تکثیر یافته	رفرنس
gyr A	F-GAATCCGGGATACAGTAGAGGGATAG R-GGAATTTTGGTTGGCATGACGTCCGGA	۴۸۰bp	(۱۸)
par C	F-GTATGCGATGTCTGAACTGGGCCTG R-ACCGGGATTCGGTGTAACGCATTGC	235 bp	(۱۷)

۶- تعیین توالی ژن‌های *gyr A* و *par C* : قطعه‌های تکثیر شده از ژن‌های *gyr A* و *par C* با PCR، پس از

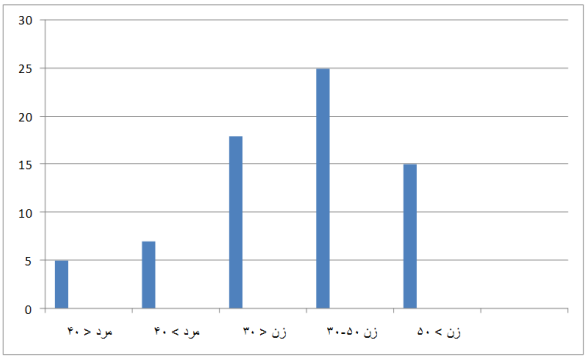
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.7.1]

خالص سازی همراه پرایمرهای ذکر شده در جدول ۱ برای تعیین توالی و بررسی حضور جهش‌ها در این نواحی، به شرکت سیناژن ارسال گردید.

یافته‌ها

۱-جدا سازی و شناسایی *E.coli* : در این تحقیق از ۱۰۰ نمونه ادراری بیماران مبتلا به عفونت ادراری، ۷۵ نفر (۷۵ درصد) زن با میانگین سنی ۳۵ سال و ۲۵ نفر (۲۵ درصد) مرد با میانگین سنی ۴۹ سال بودند. نتایج حاصل از کشت بر روی محیط های انتخابی و افتراقی نشان داد که از این تعداد ۷۰ نمونه (۷۰ درصد) از نظر *E.coli* مثبت بوده و ۳۰ نمونه (۳۰ درصد) از نظر *کبسیلا* مثبت بوده اند. در نمونه هایی که ازنظر *E.coli* مثبت بودند، ۵۸ نفر (۸۲/۸۵ درصد) زن و ۱۲ نفر (۱۷/۱۴ درصد) مرد بودند (نمودار۱).



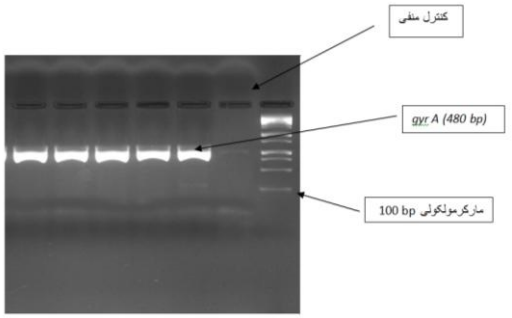
نمودار۱- تفکیک جنسی و سنی سویه های *E.coli* جدا شده در این پژوهش

۲- بررسی مقاومت به آنتی بیوتیک‌های فلوروکینولون در آنتی بیوگرام: در این مطالعه با استفاده از روش دیسک گذاری برای آنتی بیوگرام میزان مقاومت ۷۰ نمونه *E.coli*، نسبت به آنتی بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون‌ها نظیر سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید، افلوکساسین، نورفلوکساسین و لووفلوکساسین سنجیده شد، که نتایج در جداول ۴ نشان داده شده است.

جدول ۴- نتایج آنتی بیوگرام برای *E.coli* -*های ایزوله* شده نسبت به هر یک از آنتی بیوتیک‌های فلوروکینولونی مورد مطالعه

آنتی بیوتیک	سیپروفلوکساسین	نالیدیکسیک اسید	افلوکساسین	نورفلوکساسین	لووفلوکساسین
مقاوم	45 (64.28%)	47 (67.14%)	45 (64.28%)	45 (64.28%)	45 (64.28%)
حساس	13 (18.57%)	14 (20.0%)	15 (21.42%)	17 (24.28%)	14 (20.0%)
نیمه حساس	12 (17.14%)	11 (15.71%)	9 (12.85%)	8 (11.42%)	11 (15.71%)

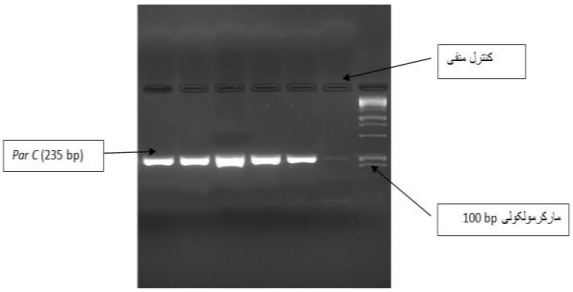
۳- نتایج تشخیص حضور جهش‌ها در دو ژن *gyr A* و *par C* با روش PCR و Sequencing: در نمونه‌های *E.coli* مقاوم نسبت به آنتی بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون‌ها (۴۵ نمونه از ۷۰ نمونه *E.coli* جدا شده)، قطعه‌های ویژه‌ایی از دو ژن *gyr A* و *par C* که شامل نواحی خاص مقاوم نسبت به کینولون‌ها هستند (QRDR)، با پرایمرهای اختصاصی تکثیر داده شده و در روی ژل الکتروفورز با تشکیل باندهای مربوط به ناحیه تکثیر شده ۴۸۰ bp برای ژن *gyr A* و ناحیه تکثیر شده ۲۳۵ bp برای ژن *par C* مقابل مارکر مولکولی ۱۰۰ bp حضور این ژن‌ها در نمونه های مقاوم به داروهای فلوروکینولونی تأئید شد (حضور این ژن‌ها در ۴۳ نمونه از ۴۵ نمونه *E.coli* مقاوم به داروها مشاهده شد) در شکل‌های ۱ و۲ نتایج مربوط به این موارد آورده شده است. سپس با تعیین توالی این نواحی، حضور ۵ جهش در ژن *gyr A* و ۲ جهش در ژن *par C* مشخص شد، که نتایج مربوط به حضور جهش-ها و تعیین ترادف توالی‌ها در جدول ۵ و شکل‌های ۳ و ۴ نشان داده شده است.



شکل ۱ - محصول PCR روی ژل الکتروفورز برای ژن *gyr A* در نمونه‌های مقاوم به فلوروکینولون‌ها.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.7.1]

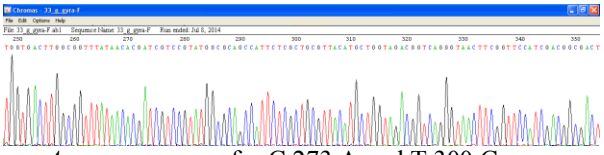


شکل ۲ – محصول PCR روی ژل الکتروفورز برای ژن *par C* در نمونه‌های مقاوم به فلوروکینولون‌ها.

جدول ۵- نتایج حضور جهش‌های دو ژن *gyr A* و *par C* در *E.coli* های مقاوم به فلوروکینولون ها

ژن	شماره کدن تغییر یافته	نوکلئوتید تغییر یافته	فراوانی٪
gyr A	۸۷	T ← G	٪ ۶۷/۵
gyr A	۱۰۷	C ←T	٪ ۹۳
gyr A	۲۴۸	T ←C	٪ ۹۳
gyr A	۲۷۳	A ←C	٪ ۸۶
gyr A	۳۰۰	C ←T	٪ ۸۶
par C	۸۰	A ← G	٪ ۵۱/۲
par C	۸۴	T ←C	٪ ۵۱/۲

C 248 T →



gyr A gene sequence for C 273 A and T 300 C →

241ATCCCCATGGTGACTTGGCGGTTTATAAC
ACGATCGTCCGTATGGCGCAGCCATTCTCGC
300

C 273 A

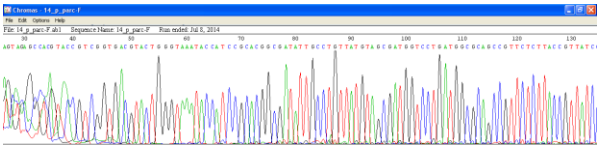
T 300 C
301TGCGTTACATGCTGGTAGACGGTCAGGG
TAACTTCGGTTCCATCGACGGCGACTCTGCG
G 360

شکل ۳- نتایج تعیین توالی قطعه ایی بطول 480 bp از ژن *gyr A* برای بررسی حضور ۵ جهش در این ژن.

a- جهش‌های G ← T در نوکلئوتید ۸۷ و C←T در نوکلئوتید ۱۰۷.

b- جهش T ←C در نوکلئوتید ۲۴۸.

c- جهش‌های A ← C در نوکلئوتید ۲۷۳ و C←T در نوکلئوتید ۳۰۰.

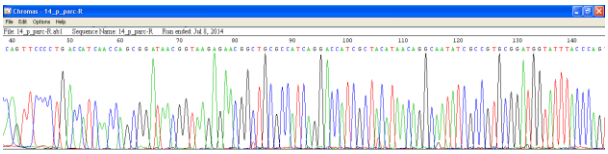


par C gene sequence for G 80 A →

1CCAAGCAAGATGTCCATTCTCGAGAGTAGA
GCCACGTACCGTCGGTGACGTACTGGGTAA
60
61ATACCATCCGCACGGCGATATTGCCTGTT
ATGTAGCGATGGTCCTGATGGCGCAGCCGTT
120

G 80 A

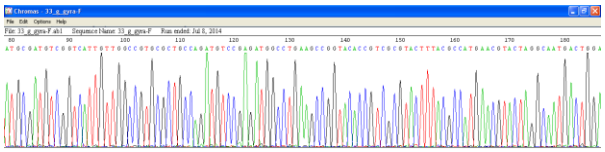
121CTCTTACCGTTATCCGCTGGTTGATGGTC
AGGGGAACTGGGGGGCGCCGGACGATCCGA
A 180



par C gene sequence for C 84 T →

1GTACGTCTCCGATCTGTAATAACGATAAGC
GCGTGCACCAGTTCCCCTGACCATCAACCA
60
61GCGGATAACGGTAAGAGAACGGCTGCGC
CATCAGGACCATCGCTACATAACAGGCAAT
AT 120

C 84 T →

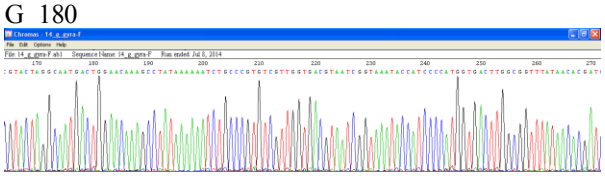


gyr A gene sequence for G 87 T and T 107 C →

1GCGCTGGAAGATCTGCCTATGCGAGTGCTC
GTACACCGGTCAACATTGAGGAAGAGCTGA
60
61AGAGCTCCTATCTGGATTATGCGATGTCG
GTCATTGTTGGCCGTGCGCTGCCAGATGTCC
120

G 87 T T 107 C →

121GAGATGGCCTGAAGCCGGTACACCGTCG
CGTACTTTACGCCATGAACGTACTAGGCAAT
G 180



gyr A gene sequence for C 248 T →

121ATGGCCTGAAGCCGGTACACCGTCGCGT
ACTTTACGCCATGAACGTACTAGGCAATGAC
T 180
181GGAACAAAGCCTATAAAAAATCTGCCCG
TGTCGTTGGTGACGTAATCGGTAAATACCAT
C 240
241CCCATGGTGACTTGGCGGTTTATAACACG
ATCGTCCGTATGGCGCAGCCATTCTCGCTGC
300

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.7.1]

121CGCCGTGCGGATGGTATTTACCCAGTAC
GTCACCGACGGTACGGGCCGATTTTTTAAAT
T 180

شکل ۴- نتایج تعیین توالی قطعه ایی به طول 235bp از ژن *par C* برای بررسی حضور دو جهش در این ژن.
-a- جهش G ← A در نوکلئوتید ۸۰ و -b- جهش C←T در نوکلئوتید ۸۴.

بحث

عفونت دستگاه ادراری (UTI) از مهم‌ترین عفونت‌هایی است که تاکنون شناخته شده است. *E.coli* یکی از عوامل ایجاد کننده عفونت ادراری در اغلب کشورهای دنیاست (۱۳). در رابطه با شناسایی باکتری *E.coli* بیش‌تر پژوهشگران از تست‌های بیوشیمیایی مربوط به این باکتری استفاده می‌کنند (۱).

در این تحقیق از ۱۰۰ نمونه جمع آوری شده، بعد از انجام آزمون‌های افتراقی ۷۰ نمونه (۷۰ درصد) مربوط به باکتری *E.coli* بود که این نشان دهنده شیوع بالای این باکتری و تأئید کننده نقش باکتری *E.coli* به عنوان عامل اصلی عفونت ادراری در بین مبتلایان است و تعداد ۳۰ نمونه مربوط به باکتری *کلبسیلا* بود که نسبت به باکتری *E.coli* سهم کم‌تری را به خود اختصاص داده است. از تمامی نمونه های *E.coli* جمع آوری شده نسبت به آنتی بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون‌ها تست آنتی بیوگرام انجام شد. در این مطالعه مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به پنج آنتی بیوتیک خانواده فلوروکینولون‌ها نظیر نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین، افلوکساسین، لووفلوکساسین و نورفلوکساسین بررسی شد که از بین ۷۰ نمونه باکتری *E.coli* جمع آوری شده، ۴۵ نمونه معادل ۶۴/۲۸ درصد به آنتی بیوتیک های مذکور مقاومت نشان دادند که مشخص‌گر ایجاد مقاومت زیاد نسبت به این داروها می-باشد.

بروز مقاومت نسبت به درمان با آنتی بیوتیک‌ها، از مسائلی است که توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود جلب کرده است. (۲۱) به دلیل وجود میزان بالای مقاومت *E.coli* به تری متوپریم-سولفامتوکسازول، فلوروکینولون‌ها به طور گسترده‌ای به عنوان درمان اولیه برای عفونت‌های ادراری تجویز می‌شوند. با این وجود، میزان فزاینده مقاومت *E.coli* به فلوروکینولون‌ها نگرانی‌های جدیدی را برانگیخته است (۲۲). آمار بالای مقاومت نسبت به این داروها در کشورمان به علت مصرف بی رویه در مقایسه با نتایج بسیاری از کشورها قابل توجه می‌باشد و بنا بر مطالعه‌های انجام شده بین ۱۰ تا ۳۰ درصد بالاتر می‌باشد. با توجه به تحقیق‌های انجام گرفته، استفاده از فلوروکینولون‌ها برای درمان عفونت ادراری به ازای هر ۱۰۰۰ ویزیت بیمار، از ۳/۱ نسخه در سال ۱۹۹۸ به ۱۲/۷ نسخه در سال ۲۰۰۵ افزایش یافته و در همین دوره استفاده از سولفونامید از ۲۴ به ۱۱/۷ نسخه در هر ۱۰۰۰ ویزیت کاهش یافته است. میزان مقاومت *E.coli* جدا شده از عفونت ادراری به لووفلوکساسین در سال ۱۹۹۹ از ۱ درصد به ۹/۴ درصد در سال ۲۰۰۵ افزایش یافته است و در میان ۴۱ نمونه جدا شده *E.coli* مقاوم به لووفلوکساسین، ۹۰ درصد از موارد به آموکسی سیلین – کلاوولانات حساس باقی مانده‌اند (۲۲ ، ۲۵). در تحقیقی که توسط ساتو و همکارانش در سال ۲۰۰۱ انجام شد، میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین و نالیدیکسیک اسید ۶۳/۳ درصد بوده است که این داروها از ناکارآمدترین آنتی بیوتیک‌ها در درمان عفونت ادراری مطرح شدند (۲۹). در مطالعه‌ای که توسط کمت و همکارانش در سال ۲۰۱۰ صورت گرفت میزان مقاومت به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید و لووفلوکساسین ۷۳/۱۱ بوده است (۲۴). در مطالعه‌ای که توسط سانچز و همکارانش در سال ۲۰۱۰ به منظور بررسی میزان مقاومت آنتی بیوتیکی *E.coli* صورت گرفت، میزان مقاومت نسبت به نورفلوکساسین ۶۶/۶۴ درصد و نسبت به لووفلوکساسین ۶۵/۱۷ درصد گزارش شده است (۳۰). در مطالعه‌های مختلف، سرعت افزایش مقاومت بین ۳ تا ۱۰ درصد گزارش شده ولی تفاوت‌های زیادی در بین نتایج مطالعه‌های در مورد عفونت ادراری و سرعت مقاومت نسبت به فلوروکینولون‌ها به ویژه سیپروفلوکساسین (حتی تا ۲۰ درصد) عنوان شده است (۱۹ ، ۲۰) . طبق تحقیق‌های کامپوز و کورنارد میزان مقاومت به نسبت به فلوروکینولون-ها در بین ۸ سال از ۳ درصد به ۲۳ درصد افزایش یافته است (۶ ، ۷). راز و همکارانش درمان عفونت ادراری را با فلوروکینولون‌ها پیشنهاد کردند و مقاومت بر علیه آن‌ها را ۱۰ تا ۲۰ درصد گزارش نمودند (۲۸). گزارش‌های زیادی در مورد مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج مورد استفاده در درمان عفونت ادراری در ایران و سراسر دنیا وجود دارد (۵). در ایران نیز، تحقیق‌های انجام شده نشانگر این است که مقاومت به فلوروکینولون‌ها به ویژه نسبت به

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.7.1]

سیپروفلوکساسین، در عفونت‌های ادراری ایجاد شده با باکتری *E.coli* در حال افزایش است (۱۶ ، ۱۸، ۳۱ ، ۳۲). بعد از انجام تست آنتی بیوگرام روی ۷۰ نمونه از باکتری *E.coli* به دست آمده از ادرار حدود ۴۵ نمونه (۶۴/۲۸٪) مقاومت بالایی را به تمام آنتی‌بیوتیک‌های فلوروکینولون-های مورد استفاده در این تحقیق نشان دادند. بنابراین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها بسیار شایع و در حال افزایش است و این امر باید جدی گرفته شود. به جزء دلایل قبلی که از عوامل مهم بروز مقاومت بودند دلایلی چون عدم درمان صحیح، خود درمانی ، استفاده نادرست از آنتی بیوتیک‌ها و کامل نکردن دوره درمان نیز از دیگر عوامل هستند که می‌توانند پاسخ مناسبی به میزان بالای مقاومت گزارش شده در این تحقیق باشند. با توجه به شرایط بسیار سخت کشف آنتی بیوتیک‌های جدید که صرف هزینه‌های زیاد کشف، آزمایش‌های مختلف و صرف وقت طولانی است و از طرف دیگر با توجه به اثرهای جانبی استفاده از آنتی بیوتیک‌ها، بالا بردن دوز دارو راه حل مناسبی نیست. تنها و بهترین راه‌های پیش رو در مرحله اول پیش‌گیری از ابتلا با رعایت مسائل بهداشتی و در مرحله بعد استفاده صحیح از آنتی بیوتیک‌های رایج در صورت نیاز است. از سال‌ها قبل با توجه به استفاده بی رویه از انواع مختلف آنتی بیوتیک‌ها مقاومت به آن‌ها بروز پیدا کرده است. اما متأسفانه در سال‌های اخیر مقاومت چشم-گیری نسبت به این آنتی بیوتیک‌ها دیده شده است، اما هم‌چنان بسیاری از پزشکان بدون انجام تست مهم آنتی بیوگرام در صورت ابتلا فرد به عفونت ادراری داروهای این خانواده و به طور گسترده سیپروفلوکساسین را تجویز می-کنند. به هر حال مقاومت‌ها با دلایلی ژنتیکی از جمله موتاسیون خود به خودی یا انتقال افقی زیاد در حال بروز هستند. مکانیسم مقاومت در *E.coli* برای داروهای ضد میکروبی مختلف، متفاوت است. ولی مطالعه‌های اخیر نشان می‌دهد که این باکتری در بیش‌تر مواقع به اغلب آنتی بیوتیک‌ها مقاوم شده است. علت اصلی ایجاد مقاومت به آنتی بیوتیک‌های فلوروکینولونی جهش در ژن‌های کد کننده زیر واحدهای A وB، در دو آنزیم DNA ژیراز و توپوایزومراز IV است، بنابراین چنین نتیجه می‌شود که در باکتری *E.coli* این دو آنزیم هدف اصلی فلوروکینولون‌ها در اثر جهش می‌باشد (۴ ، ۲۷). از جمله عوامل مؤثر در مقاوم شدن باکتری *E.coli* به فلوروکینولون‌ها، بروز جهش در ژن‌های کروموزومی و پلاسمیدی این باکتری می‌باشد که با حضور تغییرها در این ژن‌ها مقاومت نسبت به داروهای فلوروکینولونی ایجاد می‌گردد (۲۰،۱۹). تحقیق حاضر مشخص نمود ارتباط معناداری بین حضور جهش در دو ژن *gyr A* و *par C* و ایجاد مقاومت به داروهای فلوروکینولونی در نمونه‌های آلوده به *E.coli* وجود دارد.

در مطالعه‌ای که توسط حیدری و همکاران در سال ۱۳۹۴ انجام گرفته مشخص شده است که بین بیان ژن‌های پروتئین‌های غشایی که جذب فلوروکینولون‌ها را به داخل باکتری *E.coli* تسهیل می‌کنند و بروز جهش در ژن *gyr A* در سویه‌های *E.coli* مقاوم به سیپروفلوکساسین ارتباط معنا داری وجود دارد به‌طوری‌که مقاومت به دارو باعث افزایش بیان ژن‌های این پروتئین‌های غشایی می‌گردد (۱۸). هم‌چنین در مطالعه انجام شده در سال ۱۳۹۳ توسط یوسفی و همکاران، بر روی ۳۰۹ نمونه ادراری آلوده به *E.coli*، ۱۳۹ نمونه مقاوم به سیپروفلوکساسین گزارش شده که در این نمونه‌ها بیش از ۷۰ درصد ژن پلاسمیدی مقاوم به فلوروکینولون‌ها حضور داشته است (۳۲). در تحقیق دیگری که در سال ۱۳۹۳ توسط حاکمی والا و همکارانش در ۱۰۰ نمونه‌های *E.coli* مقاوم به فلوروکینولون‌ها، جدا شده از ادرار بیماران بیمارستان امام خمینی تهران انجام گرفته است، ۷۷٪ به آموکسی کلاو، ۷۲٪ به سفتازیدیم، ۶۹٪ به سفوتاکسیم، ۶۳٪ به نالیدیکسیک اسید، ۵۱٪ به سیپروفلوکساسین، ۴۷٪ به سفکسیم، ۴۶٪ به سفتریاکسون، ۴۳٪ به سفالکسین مقاوم بوده‌اند که در بیش از ۳۹/۵٪ نمونه‌ها مقاومت به همراه حضور ژن‌های مقاوم به فلوروکینولون‌ها در باکتری، گزارش شده است (۱۶). مطالعه سلیمانی و همکاران که در سال ۱۳۹۲ روی عفونت‌های ادراری حاصل از باکتری *E.coli* مقاوم به کینولون‌ها انجام گرفته است مشخص نموده که ۸۲/۸٪ نمونه‌ها به نالیدیکسیک اسید و ۴۳٪ به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند و این مقاومت با حضور ژن-های پلاسمیدی مقاوم به دارو ارتباط داشته است (۳۱). بنابراین مقایسه مطالعه‌های نقاط مختلف جهان با ایران نشان داده است که در ایران نیز به همان سرعت دیگر نقاط جهان و گاهی سریع تر افزایش مقاوم شدن به داروها ایجاد شده است، که از علل آن می توان به مصرف بی رویه و زیاد و تجویز این آنتی بیوتیک‌ها به عنوان درمان علامتی و بی هدف، استفاده بیش از حد از آن‌ها برای پروفیلاکسی و در

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.7.1]

دسترس بودن زیاد آن‌ها در بین بیماران اشاره نمود (۱۱ ، ۲۶). سایر تحقیق های انجام شده در نقاط مختلف دنیا نیز بیان می‌کند بین مقاومت به داروهای فلوروکینولونی و حضور جهش در ژن‌های کد کننده دو آنزیم DNA ژیراز و توپوایزومراز IV در *E.coli* های ایجاد کننده عفونت‌های ادراری ارتباط وجود دارد. از جمله مطالعه کمت و همکارانش در سال ۲۰۱۰ نشان داده است که سویه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید و لووفلوکساسین دارای جهش‌های در دو ژن *gyr A* و *par C* بوده‌اند (۲۴). در تحقیق‌های به عمل آمده توسط زاوو و همکاران در سال ۲۰۰۵ در بررسی ۴ ژن *gyr A* ، *gyr B* ، *par E* و *par C* نشان داده شده است که شیوع جهش در دو ژن *gyr A* و *par C* به ترتیب ۹۳ درصد و ۸۵ درصد بوده است (۳۳). در مطالعه که گیوود و همکارانش در سال ۲۰۰۱ بر روی جهش در ژن‌های *gyr A* ، *gyr B* ، *par E* و *par C* انجام شد مشخص گردید که هیچ‌گونه جهشی در دو ژن *gyr B* و *par E* رخ نداده و شیوع جهش در ژن‌های *gyr A* و *par C* حدود ۸۳/۳۳ درصد گزارش شده است (۱۲). در مطالعه کارلوسکی و همکاران در سال ۲۰۰۳ حدود ۹۸ درصد نمونه‌های *E.coli* مقاوم به سیپروفلوکساسین و نالیدیکسیک اسید دارای جهش در دو ژن *gyr A* و *par C* بوده‌اند (۲۲) . در مطالعه کرن و همکاران در سال ۲۰۰۰، ۸۵ درصد از سویه های *E.coli* مقاوم به نالیدیکسیک اسید و سیپروفلوکساسین دارای جهش در دو ژن *gyr A* و *par C* می باشند (۲۳). بنابراین مقایسه نتایج تحقیق‌های انجام شده در ایران و سایر نقاط جهان با مطالعه حاضر نشان می‌دهد که ارتباط معنا داری بین حضور جهش در ژن‌های کروموزومی و پلاسمیدی باکتری *E.coli* به ویژه دو ژن کروموزومی *gyr A* و *par C* و پیدایش سویه‌های مقاوم به داروهای فلوروکینولونی در این باکتری وجود دارد.

نتیجه‌گیری

از مقایسه نتایج به دست آمده از این تحقیق با سایر پژوهش‌های انجام گرفته در این مورد چنین نتیجه می‌شود که هر سال بر تعداد گزارش‌های عفونت ادراری با عامل *اشریشیاکلی* در سراسر جهان افزوده می‌شود و ممکن است در آینده‌ای نزدیک در جامعه ما و در کشورهای در حال توسعه مشکل‌های زیادی را به وجود بیاورد بنابراین با انجام مطالعه‌های بیش‌تر و در جامعه آماری بزرگ‌تر و زمان بیش‌تر می‌توان در تکمیل تحقیق‌های اپیدمیولوژیک پرداخت و راه‌کارهای دقیق‌تری برای پیش‌گیری و درمان ارائه داد. هم‌چنین با اطلاع از این که در هر منطقه جغرافیایی سویه و سروتیپ خاصی عامل بیماری می‌باشد، با مطالعه‌های منطقه‌ای در هر منطقه از ایران علاوه بر تکمیل اطلاعات در مورد سویه و باکتری شایع می‌توان در طراحی واکسن های بومی برای افراد ضعیف و در معرض خطر راه‌کارهایی ارائه نمود. با توجه به نتایج این تحقیق میزان مقاومت به داروهای آنتی بیوتیکی به ویژه داروهای معمول در درمان عفونت‌های رایج در جوامع، هم‌چون عفونت ادراری ایجاد شده با میکروارگانیسم‌های پاتوژن رو به افزایش می‌باشد که در این ضمن مصرف بی رویه و تجویز غیر ضروری یا افزون بر میزان مورد نیاز و عدم رعایت دوز مجاز برای مصرف بیماران، در ایجاد سویه‌های مقاوم به دارو نقش اساسی دارد. به ویژه پیدایش سویه‌های مقاوم با ایجاد جهش در ژن‌های مقاومت به داروهای آنتی بیوتیکی در عوامل میکروبی ایجاد کننده عفونت‌ها، همراه است که علاوه بر ایجاد مشکل‌هایی در درمان این چنین عفونت‌هایی، بر بار اقتصادی و اجتماعی و فرهنگی جامعه نیز تأثیر گذار می‌باشد. بنابراین به عنوان یک امر ضروری در مسائل پزشکی جوامع باید به این موضوع‌های مهم پرداخته شود. هم‌چنین با توجه به مقاومت بالای آنتی بیوتیکی به دست آمده در این تحقیق پیشنهاد می‌گردد جهت درمان عفونت ادراری با منشأ باکتری *E.coli*، قبل از تجویز هر نوع آنتی بیوتیک تست آنتی بیوگرام انجام گیرد و از تجویز بی رویه داروهای کینولونی پرهیز گردد زیرا که شیوع مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون‌ها مطابق با تحقیق‌های محققان در ایران و سایر مناطق جهان در حال پیشرفت می‌باشد و خطری جدی برای جامعه پزشکی و داروسازی به شمار می‌آید.

سپاسگزاری

از کلیه مسئولین محترم در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال به ویژه دانشکده علوم زیستی و آزمایشگاه دانشکده علوم زیستی (محمودیه) و مسئولین مراکز درمانی که در انجام کارهای آزمایشگاهی و تهیه نمونه‌های این تحقیق کمال همکاری و مساعدت لازم را مبذول فرموده‌اند، سپاسگزاری فراوان می‌گردد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.7.1]

منابع

1-Aguiar JM, Chacon J, Canton R, Baquero F. The emergence of highly fluroquinolone-resistant *Escherichia coli* in community-acquired urinary tract infections. *J Antimicrob Chemo,* 1992; 29: 349-350.
2-Al-Agamy MHM, Hefny HM, Fouda SI, Mansy MSM, Ashour MSE. Studies on microbial infections of the urinary tract in diabetic patients. *Az J Microb,* 1999; 44: 107-121.
3-AL-Agamy MHM, Zaki S. Mechanisms of fluoroqinolones resistance in *Escherichia coli* isolates from Saudi Arabia. *African J Microb Res,* 2012; 6(1): 155-9.
4-Bagel S, Hüllen V, Wiedemann B, Heisig P. Impact of *gyrA* and *parC* mutations on quinolone resistance, doubling time, and supercoiling degree of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agent Chemo,* 1999; 40: 868-75.
5-Cambau, E, Gutmann L. Mechanisms of resistance to quinolones. *Drug,* 1993; 45(3): 15–23.
6-Chapman JS, Georgopapdokou NH. Routes of quinolone permeation in *Escherichia coli. Antimicrob Agent Chemo,* 1988; 32: 438-442.
7- Conrad S, Oethinger M, Kaifel K, Klotz G, Marre R, Kern WV**.** *gyrA* mutations in high-level fluoroquinolone-resistant clinical isolates of *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemo,* 1996; 38 : 443–5.
8- Dielubanza E.J, Schaeffer A.J. Urinary tract infections in women. *Med Clin North AM*, 2011; 95(1): 27-41.
9-Drlica K, Zhao X. DNA gyrase, topoisomerse IV and the 4-quinolone. *Microb Molecul Bio Rev,* 1997; 61: 377-92.
10- El-Kholy A, Baseem H, Hall GS, Procop GW, Longworth DL. Antimicrobial resistance in Cairo, Egypt 1999-2000: a survey of five hospitals. *J Antimicrob Chemo,* 2003; 51: 625-30.
11-Farshad Sh, Ranjbar R, Anvarinejad M, Amin Shahidi M, Hosseini M. Emergence of Multi Drug Resistant Strains of *Eschetichia coli* Isolated from Urinary Tract Infection. *Open Conf Proceed J,* 2010; 1: 192-6.
12- Giraud E, Leroy-Setrin S, Flaujac G, Cloeckaert A, Dho-Moulin M, Chaslus-Dancla E. Characterization of high-level fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli* O78:K80 isolated from turkey. *J Antimicrob Chemo,* 2001; 47: 341-3.
13-Gniadkowski M, Schneider I, Paluchna A, Iungwirth R, Mikiewiez B, Bauernfeind A. Cefotaxime-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from a hospital in Warsaw, Poland: identification of new CTX-M-3 cefotaxime hydrolyzing β-lactamase that closely related to CTX-M-1/MEN-1 enzyme. *Antimicrob Agent Chemo,* 1998; 42: 827-832.
14- Goettsch W, Chander R, Freudeniem J. Increasing resistance to floquinolons in coliform UTI in Netherland. *J. Antimicrobial. Chemoter*, 2000; 46(2) : 226-8.
15-. Grossman Z, Miron D. Imaging and follow-up of children with first febrile Urinary Tract Infection (UTI). *Harefuah*, 2009; 148(10): 716-20.
16-Hakemi Vala M, Abdi Sh, Ranjbar R, Bejestani Bagheri O ,Bejestani Bagheri F. qnr gene divercity of fluoroquinolon resistant *E.coli* isolated from patient's urin of Imam Khomaini hospital. *Iranian J Infec Dis Trop Med,*2014; 19(64): 63-6.
17-Hawkey PM. Mechanisms of quinolone action and microbial response. *J Antimicrob Chemo,* 2003; 51(1): 29-35.
18-Heidari F, Pourahmad R, Shareghi B. Expression of *ompF* gene in *E. coli* mutants resistant to ciprofloxacin and
Tetracycline. *J Genetic Novin*, 2015; 10(1): 123-8.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.7.1]

19-Heisig P. Genetic evidence for a role of *parC* mutations in development of high level fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother,* 1993; 40: 879-85.

20-Heisig P, Schedletzky H, Falkenstein-Paul H. Mutations in the *gyrA* gene of a highly fluoroquinolone-resistant clinical isolate of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agent Chemo, 1993;* 37: 696–701.

21-Jonas D, Biehler K, Hartung D, Spitzmuller B, Dashner FD. Plasmid mediated quinolone resistance in isolates obtained from German intensive care unites. *Antimicrob Agent Chemo,* 2005 49: 773-5.

22-Karlowsky JA, Thornsberry C, Jones ME, Sahm DF. Susceptibility of Antimicrobial-Resistant Urinary *Escherichia coli* Isolates to Fluoroquinolones and Nitrofurantoin . *Clin Infec Dis,* 2003; 36: 183-7.

23- Kern WV, Oethinger M, Jellen-Ritter AS, Levy SB. Non-target gene mutations in the development of fluoro-quinolone resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agent Chem,* 2000; 44: 814–20.

24- Kmet V, Kmetova M. High level of quinolone resistance in *Escherchia coli* from healthy chicken broiler. *Folia Microb,* 2010; 55(1): 79-82.

25-Kresken M, Wiedemann B. Development of resistance to nalidixic acid and the fluroquinolones after the introduction of norfloxacin and ofloxacin. *Antimicrob Agent Chemo,* 1988; 32: 1285-8.

26-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.

27- Oram M, Fisher LM. 4-Quinolone resistance mutations in the DNA gyrase of *Escherichia coli* clinical isolates identified by using the polymerase chain reaction. *J Anitimicrob Agent Chemo,* 1991; 35: 387-9.

28-Ruiz J. mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. *J Antimicrob Agent,* 2003; 46: 2656-61.

29- Saenz Y, Zarazaga M, Brinas L, Lantero M, Ruiz-Larrea F, Torres C. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates obtained from animals, foods, and humans in Spain. *Int J Antimicrob Agent,* 2001; 18: 353–8.

30-Sanchez GV, Master RN, Karlowsky JA, Bordon JM. Invitro antimicrobial resistance of urinary *Escherichia coli* isolates among U.S. outpatients from 2000 to 2010. *Antimicrob Agent Chemo,* 2012; 56(4): 2181-3.

31-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. *J Kashan Univ Med Sci,* 2013; 17(5): 488-94.

32- Yosofi S, Mojtahedi A, Shenaghari M, Atrkar Roshan Z. Association to qnr genes with ciprofloxacin resistant *E.coli*. *J Kordestan Univ Med Sci,* 2015; 20(5): 52-60.

33-Zhao S, Maurer J, Hubert J, De villena J, Mcdermott P. Antimicrobial susceptibility and molecular characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates. *Veter Microb,* 2005; 107: 215-24.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.7.1]