Qom University of Medical Sciences Journal

May 2021. Volume 15. Number 3

Research Paper

Detecting Efflux Pumps Genes in the Fluoroquinolones Resistant and Sensitive Strains of Escherichia coli in Patients With Urinary Tract Infection in Qom, Iran

Ebrahim Eshaghi[1], Alireza Shahvaroughi Farahani[2], Sara Mousae[1], Mohammad Khalifeh-Gholi[3,4], Seyyed Jafar Adnani Sadati[3,4], *Roohollah Fateh[3,4]

1. Department of Biology, Nour Danesh Institute of Higher Education, Meymeh, Isfahan, Iran.
2. Department of Biology, Islamic Azad University Qom Branch, Qom, Iran.
3. Cellular & Molecular Research Center, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.
4. Department of Microbiology & Immunology, Faculty of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Eshaghi E, Shahvaroughi Farahani A, Mousae S, Khalifeh-Gholi M, Adnani Sadati SJ, Fateh R. Detecting Efflux Pumps Genes in the Fluoroquinolones Resistant and Sensitive Strains of Escherichia coli in Patients With Urinary Tract Infection in Qom, Iran. Qom University of Medical Sciences Journal. 2021; 15(3):210-221. https://doi.org/10.52547/qums.15.3.210

https://doi.org/10.52547/qums.15.3.210

CC BY NC

Received: 05 Mar 2021

Accepted: 18 Apr 2021

Available Online: 01 Jun 2021

Keywords:
Escherichia coli, Efflux pump, Ciprofloxacin, Norfloxacin, Ofloxacin, Levofloxacin, AcrA protein E coli, AcrB protein E coli

ABSTRACT

Background and Objectives: Efflux pumps are among the main mechanisms for antibiotic resistance in Escherichia coli (E.coli) strains. The present study aimed to investigate the relationship between 5 efflux pump genes; acrA, acrB, emrA, emrB, and mdtk and fluoroquinolone resistance in E.coli isolated from patients with urinary tract infections.

Methods In this descriptive cross-sectional study, clinical samples were collected from several medical centers in Qom City, Iran, from June 2017 to September 2017. After the detection and primary identification of E.coli isolations using culture and biochemical tests, the antimicrobial susceptibility strains to the fluoroquinolones, such as Ciprofloxacin, Norfloxacin, Ofloxacin, and Levofloxacin were determined by disk diffusion method according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines. Identifying the genes encoding efflux pumps was performed in sensitive and resistant strains by Polymerase Chain Reaction (PCR) technique.

Results Of the collected 170 clinical samples, 100 strains of E.coli were isolated and identified based on phenotypic characteristics. Evaluating antibiotic susceptibility of the strains demonstrated that 63(63%) isolates presented resistance to fluoroquinolones. PCR assay demonstrated that the prevalence of acrAB, emrAB, and mdtk genes among fluoroquinolones resistant isolates were equal to 100%, 98%, and 94%, respectively. Furthermore, the frequency of the mentioned genes in fluoroquinolone-sensitive isolates was measured to be 34.2%, 27.02%, and 13.5%, respectively.

Conclusion The present research results revealed that the presence of acrAB, emrAB, and mdtk efflux pumps genes is potentially a factor in resistance to fluoroquinolone antibiotics. The presence of these genes in sensitive strains may indicate that the genes are not transcribed or translated. According to the high resistance of E.coli strains to fluoroquinolone antibiotics, it is recommended that antibiotic susceptibility testing be performed before starting treatment.

**** Corresponding Author:***
Roohollah Fateh
Address: Cellular & Molecular Research Center, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.
Tel: +98 (912) 4510629
E-Mail: rfateh59@gmail.com

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم
خرداد ۱۴۰۰ . دوره ۱۵ . شماره ۳

مقاله پژوهشی

ردیابی ژن‌های پمپ‌های افلاکس در سویه‌های مقاوم و حساس به فلوروکینولون باکتری *اشریشیا کلای* جداشده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در شهر قم، ایران

ابراهیم اسحقی[۱]، علیرضا شاهواروقی فراهانی[۲]، سارا موسائی[۱]، محمد خلیفه‌قلی[۲،۳]، سید جعفر عدنانی ساداتی[۲،۳]، *روح‌اله فاتح[۲،۳]

۱. گروه زیست‌شناسی، مؤسسه آموزش عالی نور دانش، میمه، اصفهان، ایران.
۲. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران.
۳. مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم‌پزشکی قم، قم، ایران.
۴. گروه میکروب‌شناسی و ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم‌پزشکی قم، قم، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۵ اسفند ۱۳۹۹
تاریخ پذیرش: ۲۹ فروردین ۱۴۰۰
تاریخ انتشار: ۱۱ خرداد ۱۴۰۰

چکیده

زمینه و هدف پمپ‌های خروج دارو یکی از مکانیسم‌های اصلی مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها در سویه‌های *اشریشیا کلای* هستند. هدف از این مطالعه بررسی رابطه حضور ۵ ژن مختلف پمپ خروج دارو *mdtk*، *emrB*، *emrA*، *acrB*، *acrA* و مقاومت فلوروکینولونی در ایزوله‌های *اشریشیا کلای* جداشده از بیماران مبتلا به عفونت‌های دستگاه ادراری در شهر قم است.

روش بررسی در این مطالعه توصیفی ـ مقطعی، نمونه‌ها از چند مرکز درمانی از تیرماه سال ۱۳۹۶ تا مهرماه سال ۱۳۹۶ جمع‌آوری شد. پس از جداسازی و تشخیص اولیه ایزوله‌های *اشریشیا کلای* با استفاده از کشت و تست‌های بیوشیمیائی، تست‌های حساسیت ضدمیکروبی سویه‌های جداشده نسبت به خانواده فلوروکینولون‌ها مانند سیپروفلوکساسین، نورفلوکساسین، اوفلوکساسین و لووفلوکساسین با استفاده از روش دیسک دیفیوژن و براساس دستورالعمل CLSI انجام شد. شناسایی ژن‌های کدکننده پمپ‌های خروج دارو با استفاده از روش PCR در سویه‌های حساس و مقاوم صورت گرفت.

یافته‌ها از ۱۷۰ نمونه بالینی، تعداد ۱۰۰ سویه *اشریشیا کلای* با استفاده از روش‌های فنوتیپی جداسازی و تعیین هویت شدند. ارزیابی حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها نشان‌دهنده مقاومت (۶۲/۲۵ درصد) جدایه نسبت به فلوروکینولون‌ها بود. نتایج PCR نشان داد که شیوع ژن‌های *emrAB*، *acrAB* و *mdtk* در میان ایزوله‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های فلوروکینولون به ترتیب برابر با ٪ ۱۰۰، ٪۹۸ و ٪۹۴ فراوانی ژن‌های نامبرده در ایزوله‌های حساس به آنتی‌بیوتیک فلوروکینولونی نیز به ترتیب برابر با ۳۴/۲، ۲۷/۰۲ و ۱۳/۵ بود.

نتیجه‌گیری نتایج نشان داد که وجود ژن‌های پمپ خروج دارو *emrAB*، *acrAB* و *mdtk* به طور بالقوه عاملی مؤثر در مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های فلوروکینولونی است. وجود چنین ژن‌هایی در سویه‌های حساس ممکن است نشان‌دهنده نبود رونویسی یا ترجمه ژن‌های مذکور باشد. همچنین با توجه به مقاومت بالای سویه‌های *اشریشیا کلای* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های فلوروکینولونی، توصیه می‌شود قبل از شروع درمان آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی انجام شود.

کلیدواژه‌ها:
اشریشیا کلای، پمپ خروج دارو، سیپروفلوکساسین، نورفلوکساسین، اوفلوکساسین، لووفلوکساسین، AcrA پروتئین اشریشیاکلای، AcrB پروتئین اشریشیاکلای

مقدمه

اشریشیا کلای[۱] عامل اصلی عفونت مجاری ادراری و جزء عوامل مهم ایجادکننده پنومونی بیمارستانی به ویژه در بیمارانی است که به مدت طولانی در بیمارستان بستری می‌شوند [۱]. میزان آلودگی به این باکتری در دهه گذشته دوبرابر شده است و سالیانه بیش از ۱۷ هزار مورد ابتلا به این باکتری در بیمارستان‌ها گزارش می‌شود.

عفونت دستگاه ادراری یکی از شایع‌ترین عفونت‌ها در تمام گروه‌های سنی است که اغلب به وسیله باکتری‌هایی که به طور طبیعی در کولون ساکن هستند، ایجاد می‌شود. این بیماری در زنان بیش از مردان مشاهده شده است، به طوری که نصف جمعیت زنان حداقل یک مرتبه در عمر خود، به این عفونت دچار می‌شوند. همچنین احتمال بروز این عفونت با افزایش سن بیشتر

1. Escherichia coli

* نویسنده مسئول:
روح‌الله فاتح
نشانی: ایران، قم، دانشگاه علوم‌پزشکی قم، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی.
تلفن: ۴۵۱۰۶۲۹ (۹۱۲) ۹۸+
رایانامه: rfateh59@gmail.com

می‌شود. بررسی‌های انجام‌شده در جوامع مختلف نشان می‌دهد که اغلب عوامل اتیولوژیک[2]، جزء باکتری‌های خانواده *اشریشیا کلای* هستند و پس از آن، دیگر اعضای خانواده انتروباکتریاسه هستند [۲].

مقاومت به عوامل ضدمیکروبی یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی در سراسر جهان امروز است [۳]. افزایش ظهور مقاومت‌های چندداروییی در میان عفونت‌های بیمارستانی از جمله *اشریشیا کلای*، راهکارهای درمانی را برای این نوع سویه‌ها با مشکل مواجه کرده است. این باکتری‌ها از موارد مهم عفونت‌های اکتسابی از جامعه و بیمارستان هستند [۴]. اگرچه فلوروکینولون‌ها داروهای مناسب برای درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی هستند، اما متأسفانه مقاومت دارویی به این آنتی‌بیوتیک‌ها در حال افزایش است [۱]. مهم‌ترین مکانیسم‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *اشریشیا کلای* شامل بتالاکتامازها، جهش در پورین‌ها و نیز پمپ‌های خروج دارو هستند که این پمپ‌ها به عنوان یکی از موارد اصلی دفاع این باکتری در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها محسوب می‌شوند. پمپ‌های خروج دارو پروتئین‌های انتقال‌دهنده‌ای هستند که سبب خروج مواد سمی (تقریباً تمامی گروه‌های آنتی‌بیوتیک‌های بالینی) از درون سلول‌ها به خارج از آن‌ها می‌شوند. این پروتئین‌ها در هر دو گروه باکتری گرم مثبت و گرم منفی و همچنین در یوکاریوت‌ها یافت می‌شود [۵]. این پمپ‌ها ممکن است فقط برای یک سوبسترا به طور کاملاً اختصاصی عمل کنند و یا اینکه شامل طیف وسیعی از سوبستراها (آنتی‌بیوتیک‌های گروه‌های مختلف، بایوسیدها و غیره) شوند که آن‌ها را پمپ‌های مقاومت چندداروییی[3] می‌نامند [۶،۱].

Mdtk، EmrAB، AcrAB از جمله مهم‌ترین پمپ‌های خروج دارو هستند که باعث مقاومت سویه‌های *اشریشیا کلای* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولونی می‌شوند. ژن‌های مربوط به این پمپ‌ها بر روی کروموزوم قرار دارند و یک پمپ خروج دارو چندداروییی را کد می‌کنند که در اکثر باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه وجود دارد. پمپ‌های نامبرده جزء پمپ‌های اصلی ایجادکننده مقاومت ذاتی سویه‌های اشریشیاکلای علیه فلوروکینولون‌ها از طریق تغییر نفوذپذیری در غشای پروکاریوتی، دفع آنتی‌بیوتیک به محیط خارجی و کاهش غلظت داخلی آنتی بیوتیک هستند [۷].

این ژن‌ها قادرند از یک باکتری به باکتری دیگر، از یک انسان به انسان دیگر و حتی از یک کشور به کشور دیگر منتقل شوند و یک تهدید مهم در بیماران بستری‌شده در بیمارستان‌ها به شمار می‌روند. بعضی پاتوژن‌های حاوی این ژن‌ها به اشتباه ممکن است در تست‌های معمول آزمایشگاهی حساس در نظر گرفته شوند و در نتیجه تشخیص ندادن آن‌ها منجر به این می‌شود که بیماران، آنتی‌بیوتیک‌های غیرمؤثر را دریافت کنند و در نهایت پاتوژن‌های مقاوم‌تر به وجود آمده و گسترش یابند. اطلاعات کمی درباره فراوانی این ژن‌ها در مناطق مختلف ایران وجود دارد. از این‌رو، برای تشخیص سویه‌های *اشریشیا کلای* حاوی ژن‌های مقاومت به ویژه برای درمان بهتر بیماران و جلوگیری از انتشار این ژن‌ها به دیگر باکتری‌ها نیاز به بررسی دقیق میزان شیوع آن‌هاست. از این‌رو، هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پمپ‌های خروج دارو Mdtk، EmrAB، AcrAB مقاوم و حساس به فلوروکینولون‌ها در سویه‌های بالینی اشریشیاکلای جدا از بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری در شهر قم است.

روش بررسی

این پژوهش یک مطالعه توصیفی ـ مقطعی است که در کمیته اخلاق دانشگاه علوم‌پزشکی قم با شناسه IR.MUQ.REC.1397.114 به تصویب رسیده است. نمونه‌های بررسی‌شده در یک دوره ۴ ماهه از تیرماه سال ۱۳۹۶ تا مهرماه سال ۱۳۹۶ تعداد ۱۷۰ نمونه ادرار به روش جریان میانی ادرار از آزمایشگاه‌های بیمارستان‌های علی‌بن‌ابیطالب (ع)، نکوئی ـ هدایتی و درمانگاه امام صادق (ع) در شهر قم تهیه شد. از این تعداد ۳۰ نمونه از مردان و ۱۴۰ نمونه از زنان تهیه شد. رنج سنی مبتلایان به عفونت ادراری بین ۲۰ تا ۶۳ سال بود. عفونت ادراری توسط کادر پزشکی بیمارستان و بر پایه تظاهرات کلینیکی و تفسیر تست‌های آزمایشگاهی تشخیص داده شد. معیار آزمایشگاهی UTI یک کشت مثبت از ارگانیسم با حداقل 10^5cfu/ml در نظر گرفته شد. سویه‌های بیماری‌زا از موارد فلور نرمال بر اساس شمارش سلولی (تعداد 10^5cfu/ml) به همراه علائم بالینی گزارش شده پزشک افتراق داده شدند. نمونه‌های ادرار، قبل از شروع درمان آنتی‌بیوتیکی جمع‌آوری شد. نمونه‌ها براساس روش‌های استاندارد نمونه‌گیری تهیه و به آزمایشگاه مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم‌پزشکی قم انتقال داده شد. از تمامی بیماران مراجعه‌کننده به مراکز فوق، یک‌بار نمونه‌گیری انجام شد و بیماران با سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک طی یک‌ماه اخیر از مطالعه حذف شدند.

به منظور جداسازی سویه‌های اشریشیاکلی، هرکدام از نمونه‌ها به طور مجزا روی محیط‌های افتراقی شامل مک‌کانکی آگار، بلاد آگار و ائوزین متیلن بلو آگار (مرک، آلمان) کشت داده شد. همچنین از تست‌های استاندارد بیوشیمیایی و میکروبیولوژی نظیر رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتلاز، اکسیداز و استفاده از محیط‌های افتراقی مانند SIM، TSI، MR-VP سیمون سیترات، اوره آز، تولید H2S، تست تخمیر قندها و احیای نیترات استفاده شد. از سویه رفرنس *اشریشیا کلای* ATCC 25922 برای کنترل کیفی استفاده شد.

در این مطالعه برای ارزیابی حساسیت آنتی‌بیوتیکی، روش

2. Urinary Tract Infection (UTI)
3. Multidrug Resistance Pumps (MDR)

جدول ۱. سکانس پرایمرهای اختصاصی رفت و برگشت برای تکثیر ژن‌های *emrB*، *emrA*، *acrB*، *acrA* و *mdtk*

نام پرایمر	سکانس پرایمر (۵'→۳')	طول قطعه تکثیر شده
acrA -F	CGC ATT GGT AAG TCG AAC GTG	۱۱۶ جفت نوکلئوتید
acrA -R	TTG CTG GAC TGG GTC ACA TC	
acrB-F	TGG CAA TCG GTT TCA GCA TG	۳۴۵ جفت نوکلئوتید
acrB-R	GCT TCT CGA TAA ACA CGC TAA C	
emrA-F	CTGATTGGTCGCGAAGAGCTG	۵۹۱ جفت نوکلئوتید
emrA-R	ACGGTTAGTGGTATTGACGCTC	
emrB-F	GTAACCGTAGACCTCCTGCAAC	۲۸۸ جفت نوکلئوتید
emrB-R	CTGGCACTGCTGGTTATTGG	
mdtk-F	GTTCTCATTATGCTGGTGCTGTG	۶۸۸ جفت نوکلئوتید
mdtk-R	TCAGGGTTGCCATACAGACAC	

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

استاندارد دیسک دیفیوژن (براساس دستورالعمل CLSI M۱۰۰) به کار برده شد [۸]. همچنین از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی خانواده فلوروکینولونی شامل سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، نورفلوکساسین (۱۰ میکروگرم)، اوفلوکساسین (۵ میکروگرم)، لووفلوکساسین (۵ میکروگرم) (پادتن طب، ایران) استفاده شد. نتایج آنتی‌بیوگرام پس از ۱۵-۲۰ ساعت گرماگذاری در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌صورت جدایه‌های حساس، نیمه‌حساس و مقاوم گزارش شد. به‌منظور تأیید صحت انجام آزمایش و کنترل کیفیت دیسک‌های استفاده‌شده، از سویه استاندارد *E.coli* (ATCC۲۵۹۲۲) استفاده شد.

برای بررسی ژنوتیپی پمپ‌های خروج دارو، در ابتدا DNA تمامی سویه‌های مقاوم و حساس به آنتی‌بیوتیک‌های فلوروکینولونی، با استفاده از کیت استخراج DNA (سیناکلون، ایران) استخراج شد. پرایمرهای اختصاصی ژن‌های *emrB*، *emrA*، *acrB*، *acrA* و *mdtk* با استفاده از نرم‌افزارهای CLC و Gene Runner طراحی (جدول شماره ۱) و سپس با تکنیک PCR در تمامی جدایه‌ها ردیابی و تکثیر شدند.

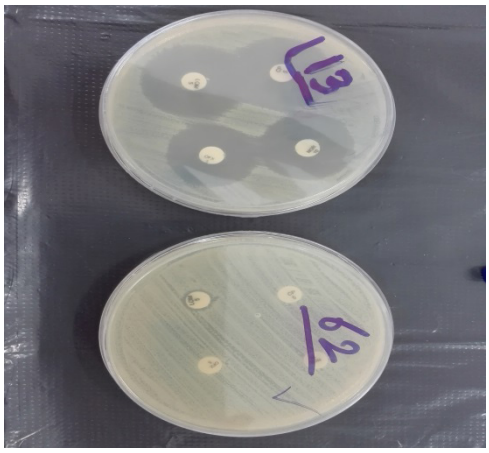
واکنش در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، به میزان ۱ میکرولیتر از DNA استخراج‌شده، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت ۱۰ پیکومول بر میکرولیتر، ۱۲/۵ میکرولیتر Taq DNA Polymerase 2x Master Mix Red (آمپلیکون، دانمارک) و ۹/۵ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر انجام شد. تکثیر ژن مورد نظر با استفاده از دستگاه ترموسایکلر با دمای واسرشت اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، پس از آن ۳۰ سیکل با دمای واسرشت ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال برای ژن‌های *emrAB* ، *acrAB* و *mdtk* به ترتیب برابر با ۵۷، ۶۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، بازآرایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و بازآرایی نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه صورت گرفت.

پس از اتمام واکنش، محصول روی ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی رنگ فلورسنت DNA safe stain (سیناکلون، ایران)، با ولتاژ ۸۰ و به مدت ۹۰ دقیقه الکتروفورز شد و حضور یا عدم حضور باندهای اختصاصی بررسی شد. در این مطالعه از سویه استاندارد *E.coli* (ATCC۲۵۹۲۲) به‌عنوان کنترل مثبت در واکنش PCR استفاده شد [۹].

جدول ۲. الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های اشریشیاکلای جداشده

آنتی‌بیوتیک	تعداد (درصد)		
	تعداد سویه‌های حساس	تعداد سویه‌های حدواسط	تعداد سویه‌های مقاوم
سیپروفلوکساسین	۳۶(۳۶)	۱(۱)	۶۳(۶۳)
اوفلوکساسین	۳۸(۳۸)	-	۶۲(۶۲)
نورفلوکساسین	۳۸(۳۸)	-	۶۲(۶۲)
لووفلوکساسین	۳۸(۳۸)	-	۶۲(۶۲)

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم



تصویر ۱. هاله رشد نکردن ایزوله اشریشیا کلای توسط دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی خانواده فلوروکینولونی در روش آنتی‌بیوگرام در محیط مولرهینتون آگار
ایزوله حساس (بالا) ایزوله مقاوم (پایین).

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

یافته‌ها

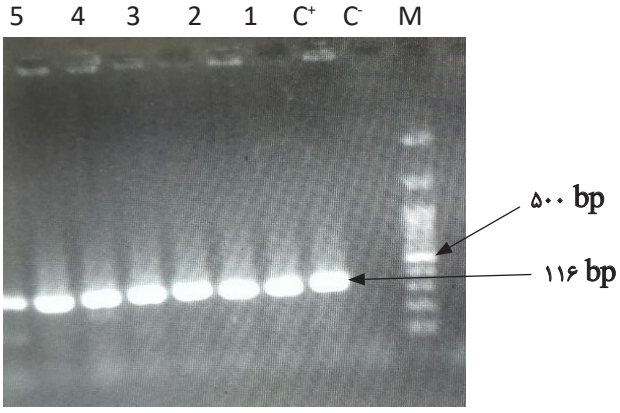
در مجموع ۱۷۰ نمونه بالینی مشکوک به عفونت ادراری تهیه و بررسی شد. از این تعداد بیمار ۳۰ نفر (۱۷/۶ درصد) مرد و ۱۴۰ نفر (۸۲/۴ درصد) زن بودند. بیشترین تعداد موارد کشت مثبت بیماری در سنین ۲۰ تا ۴۷ سال مشاهده شد. با استفاده از تست‌های معمول باکتری‌شناسی، ۱۰۰ سویه *اشریشیا کلای* (۵۸/۸۲ درصد) جدا شد و الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای تمامی ۱۰۰ سویه شناسایی‌شده تعیین شد (تصویر شماره ۱) که از این مقدار به طور میانگین ۶۲/۲۵ درصد مقاوم به خانواده فلوروکینولون‌ها و ۳۷/۵ درصد حساس به خانواده فلوروکینولون‌ها بودند (جدول شماره ۲).

از میان ۱۰۰ جدایه که در روش‌های فنوتیپی به‌عنوان *اشریشیا کلای* شناسایی شده بودند و در تمامی جدایه‌های حساس و مقاوم وجود ژن‌های *emrB*، *emrA*، *acrB*، *acrA* و *mdtk* بررسی شد (تصویرهای شماره ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶). در نهایت فراوانی ژن‌های emrAB، acrAB و mdtk در سویه‌های مقاوم به ترتیب ۱۰۰ درصد، ۹۸ درصد و ۹۴ درصد و همچنین فراوانی ژن‌های نامبرده در سویه‌های حساس به ترتیب ۳۴/۲ درصد، ۲۷/۰۲درصد و ۱۳/۵ درصد بود.

بحث

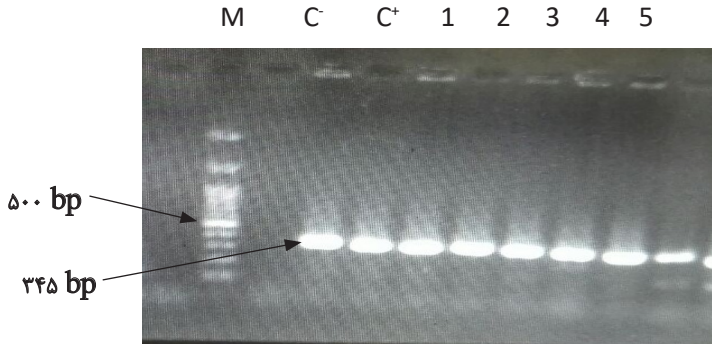
عفونت دستگاه ادراری[4] یکی از شایع‌ترین عفونت‌ها در بیماران سرپائی و بستری در بیمارستان است [۱۰]. مطالعات انجام‌شده در جوامع مختلف نشان می‌دهد باسیل‌های گرم منفی شایع‌ترین عامل اتیولوژیک UTI بوده و در بین آن‌ها اشرشیا کلای بیش از ۸۰ درصد موارد عفونت‌های حاد دستگاه ادراری را شامل می‌شود [۱۱]. افزایش خطر UTI در نوزادان، زنان باردار، افراد سالخورده، بیماران با آسیب‌های نخاعی و متعاقب استفاده از سوند ادراری، بیماران مبتلا به دیابت، مولتیپل اسکلروزیس[5] و بیماران دچار

4. Infection Tract Urinary
5. Multiple Sclerosis (MS)

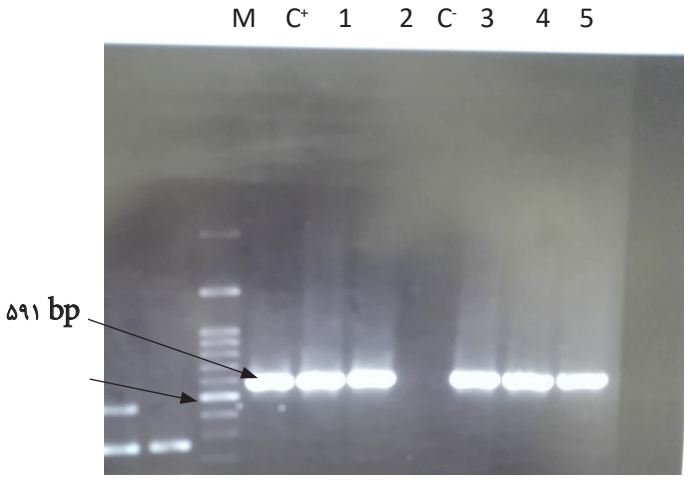


تصویر ۲. الکتروفورز محصول تکثیر ژن *acrA* روی ژل آگارز ۱/۵ درصد
ستون M مارکر ۱۰۰bp، ستون C- کنترل منفی، ستون C+ کنترل مثبت، ستون‌های ۱ تا ۵ ایزوله‌های بالینی مثبت.

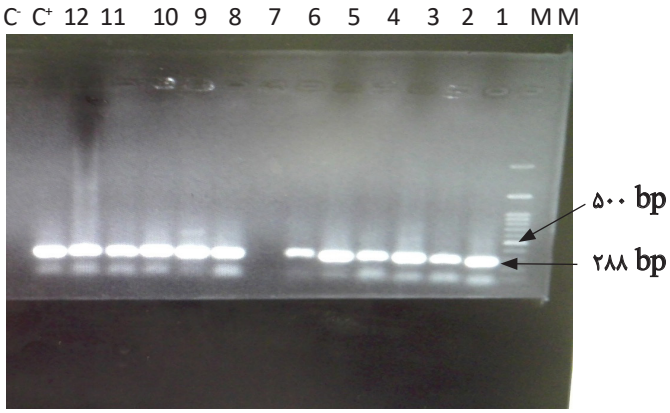
مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم



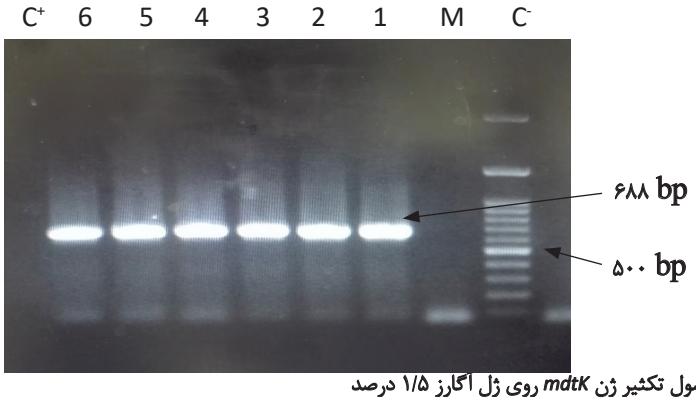
تصویر ۳. الکتروفورز محصول تکثیر ژن acrB روی ژل آگارز ۱/۵ درصد
ستون M مارکر bp ۱۰۰، ستون C^- کنترل منفی، ستون C^+ کنترل مثبت، ستون‌های ۱ تا ۵ ایزوله‌های بالینی مثبت.



تصویر ۴. الکتروفورز محصول تکثیر ژن emrA روی ژل آگارز ۱/۵ درصد
ستون M مارکر bp ۱۰۰، ستون C^- کنترل منفی، ستون C^+ کنترل مثبت، ستون‌های ۱ تا ۵ ایزوله‌های بالینی مثبت.



تصویر ۵. الکتروفورز محصول تکثیر ژن *emrB* روی ژل آگارز ۱/۵ درصد
ستون M مارکر bp ۱۰۰، ستون C^- کنترل منفی، ستون C^+ کنترل مثبت، ستون‌های ۱ تا ۶ و ۸ تا ۱۲ ایزوله‌های بالینی مثبت، ستون ۷ ایزوله بالینی منفی.



تصویر ۶. الکتروفورز محصول تکثیر ژن *mdtK* روی ژل آگارز ۱/۵ درصد
ستون M مارکر bp ۱۰۰، ستون C- کنترل منفی، ستون C+ کنترل مثبت، ستون‌های ۲ تا ۶ و ۸ تا ۱۲ ایزوله‌های بالینی مثبت، ستون ۱ ایزوله بالینی منفی

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

نقص سیستم ایمنی بیشتر گزارش می‌شود [۱۲].

تشخیص ندادن و درمان نکردن به موقع عفونت ادراری می‌تواند عوارض شدیدی همچون اختلالات دستگاه ادراری، فشار خون، اختلالات کلیوی، اورمی و در زنان حامله زایمان زودرس و حتی سقط جنین را موجب شود. میزان عفونت ادراری در کشورهای در حال توسعه حداقل ۲۵۰ میلیون نفر در سال تخمین زده شده است [۱۵-۱۳].

با توجه به شیوع اشکال مختلف عفونت ادراری در سطح جامعه (خصوصاً در جنس مؤنث) و مصرف متداول و گاه بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها به‌خصوص آنتی‌بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولونی برای درمان، به نظر می‌رسد که بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی در پاتوژن‌های ادراری هر جامعه امری بدیهی و پیش‌بینی‌پذیر بوده، بنابراین آگاهی از الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی این ارگانیسم‌ها در هر کشور یا شهر امری الزامی است [۱۶].

فلوروکینولون‌ها آنتی‌بیوتیک‌های شایعی در شروع درمان تجربی عفونت ادراری هستند. به همین خاطر بحث مقاومت به آن همیشه توجه و نگرانی جامعه بهداشتی و درمانی را برانگیخته است. در سال‌های اخیر، میزان مقاومت به فلوروکینولون‌ها به سرعت افزایش یافته. از میان خانواده آنتی‌بیوتیکی فلوروکینولونی، آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین خوراکی یا وریدی به خاطر جذب آسان و سریع و همچنین ترشح مناسب به داخل ادرار بیشترین کاربرد را در درمان عفونت ادراری دارد. بنابراین به وجود آمدن مقاومت به سیپروفلوکساسین به عنوان اولین آنتی‌بیوتیک در خط درمان، نگرانی‌هایی را به همراه خواهد داشت [۱۷].

مطالعه ما نشان داد که ۶۲/۲۵ درصد سویه‌های *اشریشیا کلای* مقاوم به فلوروکینولون‌ها بودند در حالی که این مقاومت در مناطق مختلف ایران بین ۸۶ درصد تا ۵۵ درصد است [۲۱-۱۸]. این مطلب نشان‌دهنده افزایش سویه‌های مقاوم نسبت به این گروه از خانواده آنتی‌بیوتیکی در مناطق مختلف ایران است.

در تحقیقی که توسط احسان حیدری سورشجانی در بیمارستان امام علی (ع) فرخ‌شهر در استان چهارمحال بختیاری انجام شد، از ۵۲ نفر آلوده به باکتری *اشریشیا کلای*، ۳۴ نفر (۶۵/۳۸ درصد) زن و ۱۸ نفر (۳۴/۶۲ درصد) مرد بودند. بر اساس نتایج آنتی بیوگرام بیشترین موارد مقاومت، به ترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین (۸۵/۷۱ درصد)، نالیدیسیک اسید (۷۸/۷۸ درصد) و سیپروفلاکسین (۴۶/۵۱ درصد) بود [۲۱]. همچنین مقاومت به سیپروفلوکساسین درگزارش‌هایی از تهران و تبریز به ترتیب ۵۸/۳۳ درصد و ۵۴ درصد بوده است [۲۰، ۱۹]. مقاومت‌های گزارش‌شده در این مطالعات کمتر از میزان مقاومتی است که ما در این مطالعه به دست آوردیم (۶۲/۲۵ درصد) که نشان‌دهنده افزایش مقاومت این باکتری نسبت به خانواده آنتی بیوتیکی فلوروکینولون‌هااست.

طی تحقیقاتی که درباره خطرات مقاومت آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین به *اشریشیا کلای* عامل عفونت ادراری اکتسابی در سالمندان انجام شد، این موضوع مطرح بود که مقاومت به سیپروفلوکساسین در ۱۰۸۰ باکتری اشریشیاکلای جداشده ۱۰/۲ درصد است. در حالی که تا یک سال قبل هیچ مقاومتی نسبت به سیپروفلوکساسین در محیط کشت دیده نشده بود. تحلیل چند متغیره نشان داد که سن بالاتر و استفاده از دو، سه و یا بیشتر از نسخه فلوروکینولون‌ها با مقاومت سیپرو فلوکساسین در ارتباط بودند [۱۷].

در مطالعات انجام‌شده در کشورهای دیگر بر اساس منطقه جغرافیایی، نتایج متفاوتی گزارش شده است؛ برای مثال پژوهشی در آمریکا نشان داد میزان مقاومت به فلورکینولون‌ها در سویه H۳۰ *اشریشیا کلای* به شکل معنی‌داری به خصوص در مورد سیپروفلوکساسین (۱۶/۸ درصد) و نوروفلوکساسین زیاد بوده است [۲۲]. این در حالی است که مقاومت به فلوروکینولون‌ها در چین از ۴۳ درصد در سال ۲۰۱۳ به ۴۸ درصد در سال ۲۰۱۵ افزایش یافته است [۲۳].

شایع‌ترین مکانیسم مقاومت به فلوروکینولون‌ها جهش در ژن‌های کروموزومی کد کننده DNA ژیراز و توپوایزومراز IV است [۲۴]. سایر مکانیسم‌های غیراختصاصی، نظیر کاهش تجمع داخل سلولی دارو که در اثر بیان بیش از حد پمپ‌های خروج دارو صورت می‌گیرد و یا کاهش نفوذپذیری دارو به داخل سلول که در اثر پورین‌ها ایجاد می‌شود نیز رایج است [۲۵].

در بررسی‌های ژنتیکی مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های فلوروکینولونی، به خصوص مطالعاتی درباره بررسی پمپ‌های خروج دارو، می‌توان به مطالعه هلالی و همکاران اشاره کرد، در این تحقیق میزان بیان پمپ‌های خروج دارو *acrAB* در *اشریشیا کلای* جداشده از غفونت‌های ادراری بررسی شد. در طی این مطالعه MIC آنتی‌بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون در سویه‌های مقاوم بررسی شد و مشخص شد که ۶۲ درصد از سویه‌ها جداسازی‌شده مقاوم به داروهای این دسته بودند که از این نظر نتایج مشابه با نتایج به دست آمده در این تحقیق بود. نتایج Real Time PCR سویه‌های مقاوم نیز نشان‌دهنده افزایش بیان ژن‌های *acrAB* در باکتری‌های *اشریشیا کلای* مقاوم به فلوروکینولون‌ها بود [۲۶]. در مطالعه‌ای که سوییک و همکاران در تگزاس انجام دادند، ۲۴۱ سویه *اشریشیا کلای* برای بررسی ارتباط بین پمپ‌های خروج دارو با عملکرد فلوروکینولون‌ها بررسی شد. برای تعیین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی فلوروکینولون‌ها MIC انجام شد. مقدار MIC با حذف در ژن‌های *acrB* و *acrA* کاهش یافت. نتیجه به دست آمده نشان داد که افزایش بیان *acrA* و *acrB* به طور قطع مرتبط با مقاومت فلوروکینولونی است [۲۷].

با توجه به نتایج و مطالعات صورت گرفته به نظر می‌رسد که موقعیت جغرافیایی در نحوه پراکنش و توزیع این ژن‌ها مؤثرند، زیرا کشورهایی که به لحاظ موقعیت جغرافیایی به کشور ما نزدیک‌ترند، الگوی نسبتاً مشابهی از نظر توزیع ژن‌های *acrAB* *emrAB* و *mdtk* را نشان می‌دهند [۲۸، ۲۹].

در مطالعه حاضر، ژن‌های *emrAB*، *acrAB* و *mdtk* هم بر سویه‌های مقاوم و هم بر سویه‌های حساس بررسی شد و این اولین مطالعه‌ای است که حضور این ژن‌ها، علاوه بر سویه‌های مقاوم در سویه‌های حساس نیز بررسی شده است. از میان ژن‌های بررسی‌شده در ایزوله‌های مقاوم، بیشترین و کمترین فراوانی ژن‌های پمپ خروج دارو به ترتیب مربوط به ژن‌های acrAB با فراوانی ۱۰۰ درصدی و ژن‌های *mdtk* با فراوانی ۹۴ درصدی بود. این نتایج در میان سویه‌های حساس نیز تکرار شد. بدین‌صورت که بیشترین فراوانی مربوط به ژن‌های *acrAB* برابر با ۳۴/۲ درصد و کمترین فراوانی مربوط به ژن *mdtk* برابر با ۱۳/۵ درصد بود. در دیگر مطالعات انجام‌شده در ایران، تنها ایزوله‌های مقاوم بررسی شده‌اند. حیدری و همکاران [۱۸] در شهر تهران، فراوانی ژن‌های acrA و acrB در سویه‌های *اشریشیا کلای* را به ترتیب ۹۲ درصد و ۸۴ درصد به دست آوردند و نیز کمترین فراوانی را از ژن *QepA* با صفر درصد گزارش نمودند. همچنین در مطالعه‌ای که دوستی مهاجر و همکاران [۹] در کرمانشاه انجام دادند؛ فراوانی ژن‌های acrA برابر با ۹۹ درصد و acrB برابر با ۹۸ درصد بود. کمترین میزان فراوانی در این مطالعه نیز ژن *mdfA* با ۹۴ درصد گزارش شد.

آیکا و همکاران [۳۰] در کرمانشاه فراوانی ژن *acrAB* را در ایزوله‌های مقاوم اشریشیاکلای بررسی کردند که نتایج این تحقیق مشابه نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر بود.

بر اساس نتایج PCR، درصد بالایی از سویه‌ها سیستم مقاومت چند دارویی را بر روی کروموزوم خود دارند، به طوری که فراوانی فراوانی ژن‌های acrAB، emrAB و mdtk حتی در سویه‌های حساس نیز به ترتیب ۳۴/۲ درصد، ۲۷/۰۲ درصد و ۱۳/۵ درصد بود. در واقع با وجود اینکه سویه‌های حساس واجد ژن‌های مذکور هستند، ولی طبق آزمایش‌های انجام‌شده حساس به آنتی‌بیوتیک‌های فلوروکینولون است.

علت اینکه برخی از سویه‌ها با وجود اینکه ژن‌های پمپ افلاکس را دارا هستند اما همچنان به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون حساس هستند را می‌توان در سطح RNA و بیان پروتئین‌ها جست‌وجو کرد. در واقع با وجود اینکه باکتری ژن پمپ خروج دارو دارد اما ممکن است رونویسی از ژن و یا تولید پروتئین صورت نگیرد. از دلایل احتمالی دیگر می‌توان به وجود تعداد پمپ‌های لازم برای ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی اشاره کرد. تعداد کپی‌های بیان‌شده توسط باکتری از این ژن که برای ایجاد مقاومت مورد نیاز هستند، به میزان کافی نبوده است. این انتظار وجود دارد که این سویه‌ها در چندین نسل بعد به سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک فلوروکینولونی تبدیل شوند.

برای به دست آوردن نتیجه دقیق‌تر پیشنهاد می‌شود که بیان ژن تا سطح پروتئین نیز بررسی شود. همچنین مقایسه تعداد کپی‌های این پمپ‌ها در سویه‌های مقاوم و حساس نسبت به یکدیگر با انجام Absolute Real Time PCR بررسی شود.

نتیجه‌گیری

مقاومت به سیپروفلوکساسین روزبه‌روز در سویه‌های *اشریشیا کلای* در حال افزایش است. از عوامل بروز مقاومت آنتی‌بوتیکی می‌توان به تجویز بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها توسط پزشکان، استفاده ناصحیح از آنتی‌بیوتیک‌ها توسط بیماران در موارد غیر لازم، استفاده در غذای دام و طیور، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در شوینده‌های خانگی و صابون‌ها و غیره اشاره کرد که می‌تواند منجر به حذف سویه‌های حساس، تبدیل سویه‌های حساس به مقاوم و انتخاب، تکثیر و ازدیاد سویه‌های مقاوم شوند. همچنین وجود سویه‌های حساس واجد ژن‌های پمپ خروج دارو در این مطالعه نشان‌دهنده این موضوع خواهد بود که چنین سویه‌هایی

می‌توانند در آینده نه چندان دور به سویه‌های مقاوم تبدیل شوند. بنابراین لزوم استفاده صحیح و درست از آنتی بیوتیک‌ها و همچنین آگاهی از مسیرهای مقاومتی و مکانیسم‌های مقاومت ضروری به نظر می‌رسد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این پژوهش که در کمیته اخلاق دانشگاه علوم‌پزشکی قم با شناسه IR.MUQ.REC.1397.114 به تصویب رسیده است.

حامی مالی

این پژوهش حامی مالی نداشته است.

مشارکت‌نویسندگان

تمامی نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش همه بخش‌های پژوهش حاضر به یک اندازه مشارکت داشته اند.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تضاد منافعی برای نویسندگان این مقاله وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

محققین از همکاری معاونت محترم پژوهشی دانشگاه، مسئولین و استادان دانشکده پزشکی دانشگاه علوم‌پزشکی قم کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

[1] Livermore DM. Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens. Korean J Intern Med. 2012; 27(2):128-42. [DOI:10.3904/kjim.2012.27.2.128] [PMID] [PMCID]

[2] Khalili MB, Sharifi Yazdi MK, Ebadi M, Sadeh M. [Correlation between urine analysis and urine culture in the diagnosis of urinary tract infection in Yazd central laboratory (Persian)]. Tehran Univ Med J. 2007; 65(9):53-8. http://tumj.tums.ac.ir/article-1-731-en.html

[3] Binder S, Levitt AM, Sacks JJ, Hughes JM. Emerging infectious diseases: Public health issues for the 21st century. Science. 1999; 284(5418):1311-3. [DOI:10.1126/science.284.5418.1311] [PMID]

[4] Yang J, Ye L, Wang W, Luo Y, Zhang Y, Han L. Diverse prevalence of 16S rRNA methylase genes armA and rmtB amongst clinical multidrug-resistant Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates. Int J Antimicrob Agents. 2011; 38(4):348-51. [DOI:10.1016/j.ijantimicag.2011.04.021] [PMID]

[5] Van Bambeke F, Balzi E, Tulkens PM. Antibiotic efflux pumps. Biochem Pharmacol. 2000; 60(4):457-70. [DOI:10.1016/j.ijantimicag.2011.04.021] [PMID]

[6] Lomovskaya O, Warren MS, Lee A, Galazzo J, Fronko R, Lee M, et al. Identification and characterization of inhibitors of multidrug resistance efflux pumps in Pseudomonas aeruginosa: Novel agents for combination therapy. Antimicrob Agents Chemother. 2001; 45(1):105-16. [DOI:10.1128/AAC.45.1.105-116.2001] [PMID] [PMCID]

[7] Sulavik MC, Houseweart C, Cramer C, Jiwani N, Murgolo N, Greene J, et al. Antibiotic susceptibility profiles ofescherichia coli strains lacking multidrug efflux pump genes. Antimicrob Agents Chemother. 2001; 45(4):1126-36.[DOI:10.1128/AAC.45.4.1126-1136.2001] [PMID] [PMCID]

[8] Patel JB, editor. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Annapolis Junction, MD: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017. https://books.google.com/books?id=4Xq6swEACAAJ&dq

[9] Doosti Mohajer M, Pajavand H, Abiri R, Alvandi A. [Phenotypic and genotypic efflux pumps in resistance to fluoroquinolones in E. coli isolated from inpatients in Kermanshah hospitals in 2013 (Persian)]. J Arak Univ Med Sci. 2017; 20(9):22-32. http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-5024-fa.html

[10] Gonzalez CM, Schaeffer AJ. Treatment of urinary tract infection: What's old, what's new, and what works. World J Urol. 1999; 17(6):372-82. [DOI:10.1007/s003450050163] [PMID]

[11] Foxman B, Barlow R, D'arcy H, Gillespie B, Sobel JD. Candida vaginitis: Self-reported incidence and associated costs. Sex Transm Dis. 2000; 27(4):230-5.[DOI:10.1097/00007435-200004000-00009] [PMID]

[12] Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: Incidence, morbidity, and economic costs. Am J Med. 2002; 113(1 Suppl 1):5-13. [DOI:10.1016/S0002-9343(02)01054-9] [PMID]

[13] Beyene G, Tsegaye W. Bacterial uropathogens in urinary tract infection and antibiotic susceptibility pattern in Jimma University specialized hospital, southwest Ethiopia. Ethiop J Health Sci. 2011; 21(2):141-6. [DOI:10.4314/ejhs.v21i2.69055] [PMID]

[14] Ronald AR, Nicolle LE, Stamm E, Krieger J, Warren J, Schaeffer A, et al. Urinary tract infection in adults: Research priorities and strategies. Int J Antimicrob Agents. 2001; 17(4):343-8. [DOI:10.1016/S0924-8579(01)00303-X] [PMID]

[15] Kothari A, Sagar V. Antibiotic resistance in pathogens causing community-acquired urinary tract infections in India: A multicenter study. J Infect Dev Ctries. 2008; 2(05):354-8. [DOI:10.3855/jidc.196] [PMID]

[16] Kahlmeter G, Menday P. Cross-resistance and associated resistance in 2478 Escherichia coli isolates from the Pan-European ECO·SENS Project surveying the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections. J Antimicrob Chemother. 2003; 52(1):128-31.[DOI:10.1093/jac/dkg280] [PMID]

[17] Mulder M, Kiefte-de Jong JC, Goessens WHF, de Visser H, Hofman A, Stricker BH, et al. Risk factors for resistance to ciprofloxacin in community-acquired urinary tract infections due to Escherichia coli in an elderly population. J Antimicrob Chemother. 2017; 72(1):281-9. [DOI:10.1093/jac/dkw399] [PMID]

[18] Heidary M, Bahramian A, Goudarzi H, Eslami G, Hashemi A, Khoshnood S. [To study the association between AcrAB and Qep A efflux pumps and ciprofloxacin resistance among Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae clinical strains (Persian)]. J Arak Uni Med Sci. 2016; 19(4):1-10. http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-4155-en.html

[19] Abdollahi Kheirabadi S, Najafipour S, Kafilzadeh F, Abdollahi A, Jafari S, Moravej A. [Evaluation of drug resistance pattern of escherichia coli strains isolated from Fasa Vali-e-Asr hospital patients (Persian)]. J Adv Biomed Sci. 2013; 2(4):273-8. http://jabs.fums.ac.ir/article-1-143-en.html

[20] Mahdavi A, Nahaei MR, Akhi MT, Nahaei M, Dibavar MA. [Antibiotic resistance pattern against fluoroquinolones among escherichia coli isolated from ICU and out- patient clinic admitted patients with urinary tract infection (Persian)]. Med J Tabriz Univ Med Sci. 2009; 31(3):91-6. https://mj.tbzmed.ac.ir/Article/6273

[21] Heidari-Soureshjani E, Heidari M, Doosti A. [Epidemiology of urinary tract infection and antibiotic resistance pattern of E. coli in patients referred to Imam Ali hospital in Farrokhshahr, Chaharmahal va Bakhtiari, Iran (Persian)]. J Shahrekord Univ Med Sci. 2013; 15(2):9-15. http://78.39.35.44/article-1-1272-fa.html

[22] Johnson JR, Johnston B, Kuskowski MA, Sokurenko EV, Tchesnokova V. Intensity and mechanisms of fluoroquinolone resistance within the H30 and H30Rx subclones of Escherichia coli sequence type 131 compared with other fluoroquinolone-resistant E. coli. Antimicrob Agents Chemother. 2015; 59(8):4471-80. [DOI:10.1128/AAC.00673-15] [PMID] [PMCID]

[23] Korona-Glowniak I, Skrzypek K, Siwiec R, Wrobel A, Malm A. Fluoroquinolone-resistance mechanisms and phylogenetic background of clinical Escherichia coli strains isolated in southeast Poland. New Microbiol. 2016; 39(3):210-5. [PMID]

[24] Sato T, Yokota SI, Uchida I, Okubo T, Usui M, Kusumoto M, et al. Fluoroquinolone resistance mechanisms in an Escherichia coli isolate, HUE1, without quinolone resistance-determining region mutations. Front Microbiol. 2013; 4:125.[DOI:10.3389/fmicb.2013.00125] [PMID] [PMCID]

[25] Yang Sh, Clayton SR, Zechiedrich EL. Relative contributions of the AcrAB, MdfA and NorE efflux pumps to quinolone resistance in Escherichia coli. J Antimicrob Chemother. 2003; 51(3):545-56. [DOI:10.1093/jac/dkg126] [PMID]

[26] Helaly GF, Shawky Sh, Amer R, Kader OA, El-Sawaf G, El Kholy MA. Expression of AcrAB efflux pump and role of mefloquine as efflux pump inhibitor in MDR E. coli. Am J Infect Dis Microbiol. 2016; 4(1):6-13. http://www.sciepub.com/AJIDM/abstract/5652

[27] Swick MC, Morgan-Linnell SK, Carlson KM, Zechiedrich L. Expression of multidrug efflux pump genes acrAB-tolC, mdfA, and norE in Escherichia coli clinical isolates as a function of fluoroquinolone and multidrug resistance. Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55(2):921-4. [DOI:10.1128/AAC.00996-10] [PMID] [PMCID]

[28] Nordmann P, Poirel L. Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother. 2005; 56(3):463-9. [DOI:10.1093/jac/dki245] [PMID]

[29] Andres P, Lucero C, Soler-Bistué A, Guerriero L, Albornoz E, Tran T, et al. Differential distribution of plasmid-mediated quinolone resistance genes in clinical enterobacteria with unusual phenotypes of quinolone susceptibility from Argentina. Antimicrob Agents Chemother. 2013; 57(6):2467-75. [DOI:10.1128/AAC.01615-12] [PMID] [PMCID]

[30] Akya A, Chegenelorestani R, Elahi A. [Effect of AcrAB efflux pump on ciprofloxacin resistance rate in Escherichia coli isolates (Persian)]. Qom Univ Med Sci J. 2018; 11(12):1-9. http://journal.muq.ac.ir/article-1-1214-en.html

This Page Intentionally Left Blank