مقاله پژوهشی

مقاومت به کینولون‌ها با واسطه پلاسمید در *شیگلا سونئی* و *شیگلا فلکسنری* جدا شده از اسهال کودکان

نویسندگان:

محسن جعفری[۱]، لیلا قاسمی کیا[۲]، محسن محمدی[۳]، حسین علیمددی[۴]، آرش عباسی[۵]، اباذر پورنجف[۶]، رامین کفشگری[۷]، کتایون برهانی[۸]، محمود خدابنده[۸]*

۱- بخش بیماری‌های عفونی اطفال، بیمارستان کودکان بهرامی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲- بخش میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بروجرد، بروجرد، ایران
۳- مرکز تحقیقات بیماری‌های غیر واگیر کودکان، موسسه تحقیقات سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
۴- مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد اطفال، مرکز طبی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۵- مرکز تحقیقات بیماری‌های مزمن کلیه اطفال، مرکز طبی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۶ -بخش میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
۷- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
۸- بخش بیماری‌های عفونی کودکان، مرکز طبی کودکان، قطب علمی اطفال کشور، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.17, No.1, Spring 2019

چکیده:

مقدمه: فلوروکینولون‌ها یکی از آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان عفونت‌های ناشی از شیگلا در سراسر جهان است. وجود پلاسمیدهای حمل‌کننده ژن‌های مقاومت به کینولون یکی از مهم‌ترین سازوکارهای بروز مقاومت به این داروها است. از این رو، هدف از مطالعه حاضر تعیین وجود ژن‌های پلاسمیدی مقاومت به کینولون‌ها (qnr) در شیگلا سونئی و شیگلا فلکسنری جداشده از اسهال کودکان بود.

روش کار: در یک دوره ده ماهه، از ابتدای خرداد لغایت انتهای اسفند سال ۱۳۹۶، ۹۱ جدایه شیگلا از مجموع ۳۵۸ نمونه‌های مدفوعی اسهالی غیرتکراری به دست آمد. پس از شناسایی و تائید جدایه‌های شیگلا، آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی بر اساس دستورالعمل CLSI انجام شد. آزمون مولکولی PCR به منظور تکثیر ژن‌های qnrA، qnrB، qnrC، qnrD و qnrS انجام شد.

یافته‌ها: آزمون اگلوتیناسیون اسلایدی نشان داد که شیوع شیگلا سونئی و شیگلا فلکسنری به ترتیب برابر ۶۹/۲ و ۳۰/۸ درصد است. آزمون انتشار از دیسک نشان داد که تمامی جدایه‌های شیگلا فلکسنری به لووفلوکساسین حساس هستند، در حالی که اکثر سویه‌های شیگلا سونئی به استرپتومایسین مقاوم اند. درصد فراوانی ژن‌های qnrA، qnrB و qnrS به ترتیب برابر ۲۶/۴، ۷۴/۷ و ۴۶/۲ بود. تمامی سویه‌ها از نظر وجود ژن‌های qnrC و qnrD منفی بودند.

نتیجه‌گیری: ژن qnrB شایع‌ترین ژن PMQR (Plasmid-mediated quinolone resistance) در مراکز درمانی ایران می‌باشد. به دلیل منشأ پلاسمیدی این ژن‌ها، قابلیت انتقال و توانایی بالایی برای انتشار به سایر جدایه‌ها است. به دلیل تغییر مداوم الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی، انجام آزمون حساسیت دارویی ضروری به نظر می رسد.

واژگان کلیدی: کینولون، پلاسمید، شیگلاسونئی، شیگلافلکسنری، اسهال کودکان

Pars J Med Sci 2019;17(1):8-14

مقدمه:

شیگلا(Shigella)، کوکوباسیل گرم منفی، بی‌حرکت، فاقد اسپور و کپسول و بی‌هوازی اختیاری است [۱]. جنس شیگلا چهار زیرگروه شامل: شیگلا فلکسنری(Shigella flexneri)، شیگلا دیسانتری(Shigella dysenteriae)، شیگلا بوئیدی (Shigella

* نویسنده مسئول، نشانی: بخش بیماری‌های عفونی کودکان، مرکز طبی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
تلفن تماس: 09358529694 پست الکترونیک:khodabandeh@farabi.tums.ac.ir
دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۰۶ اصلاح: ۱۳۹۸/۰۱/۱۹ پذیرش:۱۳۹۸/۰۱/۲۰

(boydii) و شیگلا سونئی(Shigella sonnei) دارد. تمام این زیرگروه ها می‌توانند موجب شیگلوز شوند که با وجود خون و موکوس در مدفوع مشخص می‌شود [۲]. در سراسر جهان، اسهال خونی باکتریایی(Bacterial bloody Diarrhea) (دیسانتری-باسیلی(Bacillary dysentery) و یا شیگلوزیس(Shigellosis)) یکی از بیماری‌های حاد دستگاه گوارش مهم به ویژه در کودکان محسوب می‌شود که علاوه بر ضررهای اقتصادی و مشکلات اجتماعی، تلفات زیادی را سبب می‌شود [۳]. علائم مشخص اسهال خونی شامل: کم‌اشتهایی، تب، ورم روده، مدفوع خونی-چرکی، دردهای شکمی، زور پیچ و احساس تخلیه ناقص روده با درد مقعدی است [۴]. تخمین زده می‌شود که سالیانه ۱۶۵ میلیون مورد دیسانتری باسیلی و ۱/۱ میلیون مرگ در سراسر جهان رخ می‌دهد که حدود۶۰ درصد آن در کودکان زیر پنج سال است [۵]. مهم‌ترین مشکل در درمان افراد مبتلا به شیگلوز بروز مقاومت چند دارویی((Multidrug resistance (MDR)) است. فلوروکینولون‌ها به‌طور موفقیت‌آمیزی در درمان شیگلوزیس و به ویژه سویه‌هایMDR استفاده می‌شوند، اما در سال‌های اخیر به دلیل مصرف بی‌رویه و غیرمنطقی آنتی‌بیوتیک ها، سویه‌های مقاوم به فلوروکینولون در حال افزایش هستند [۴ و ۶]. از دلایل بروز مقاومت به فلوروکینولون‌ها می‌توان به (۱) جهش در مناطقی از ژنوم به نام QRDR (Quinolone resistance-determining regions) (ژن‌های gyrA و gyrB (کدکننده آنزیم DNA gyrase) و parC و parE کد کننده توپوایزومراز IV)، (۲) مقاومت به واسطه پلاسمیدهای PMQR (Plasmid-Mediated Quinolone Resistance) (ژن‌هایqnr)، (۳) افزایش نفوذناپذیری دیواره باکتریایی(Bacterial impermeability) و (۴) بیان بیش از حد پمپ افلاکس(Efflux pumps overexpression) اشاره کرد [۷]. ژن‌های PMQR در پنج کلاس دسته‌بندی می‌شوند که عبارتنداز qnrA، qnrB، qnrC، qnrD و qnrS. این ژن‌ها پروتئینی را کد می‌کنند که باعث جلوگیری از اتصال فلوروکینولون‌ها به توپوایزومراز II و درنتیجه مهار فلوروکینولون‌ها می‌شوند [۸]. PMQRs در پزشکی بسیار حائز اهمیت هستند، زیرا این پلاسمیدها قابل‌انتقال بوده و علاوه بر انتقال ژن‌های مقاومت به کینولون‌ها، ژن‌های مقاومتی دیگری مانند ژن‌های بتالاکتامازی، ژن‌های ۱۶ SrRNA methylase و اینتگرون‌ها را نیز حمل می‌کنند[۹]. از این رو، هدف از مطالعه حاضر تعیین حضور ژن‌های پلاسمیدی مقاومت و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های شیگلا سونئی و شیگلا فلکسنری جداشده از کودکان مبتلا به اسهال حاد مراجعه‌کننده به بیمارستان مرکز طبی اطفال می‌باشد.

روش کار:

نمونه‌گیری و ایزولاسیون میکروبی

این مطالعه توصیفی– مقطعی در یک بازه زمانی ده‌ماهه از ابتدای خرداد لغایت انتهای اسفند سال ۱۳۹۶ انجام شد. در مجموع تعداد ۳۵۸ نمونه مدفوع اسهالی در ظروف استریل مخصوص جمع‌آوری مدفوع و یک‌بار مصرف شامل ۱۷۳ نمونه از پسران و ۱۸۵ نمونه از دختران بستری در بیمارستان مرکز طبی کودکان در تهران جمع‌آوری شد. نمونه‌ها از نظر وجود قوام، موکوس و خون به صورت ماکروسکوپی و داشتن گلبول سفید و قرمز به صورت میکروسکوپی (گسترش مرطوب) بررسی شدند. انتخاب نمونه‌ها به روش تصادفی ساده بود. نمونه‌های مدفوع در محیط کری-بلیر (مرک، آلمان) در اولین فرصت به آزمایشگاه منتقل شدند. از محیط سلنیت–F (SF) به منظور غنی‌سازی نمونه‌ها استفاده شد. پس از گرمخانه‌گذاری در ۳۷ درجه سیلیسوس به مدت هشت ساعت، نمونه‌ها از محیط SF بر روی محیط‌های سالمونلا–شیگلا آگار (SS) و مک‌کانکی آگار (شرکت مرک، آلمان) منتقل و برای ۲۴ تا ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سیلیسوس انکوبه شدند. در پایان، جهت افتراق و تأیید گونه‌های شیگلای از آزمون‌های بیوشیمیایی (اکسیداز، کاتالاز، SIM، MRVP، مصرف سیترات، آزمایش TSI، تولید اوره‌آز، فنیل‌آلانین‌دآمیناز، لیزین دکربوکسیلاز، سدیم مالونات، دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه اورنیتین و مانیتول) استفاده شد. جدایه جداشده با ویژگی‌های بیوشیمیایی: لاکتوز منفی، تولید گاز منفی، بدون حرکت، واکنش، دکربوکسیلاسیون لیزین منفی، سیترات منفی، هیدرولیز اوره منفی و متیل رد مثبت به عنوان یک جدایه متعلق به جنس شیگلا در نظر گرفته شد. آزمون‌های سروتایپینگ با استفاده از کیت‌های شرکت بهارافشان از کشت‌های تازه شیگلا به روش آگلوتیناسیون روی اسلاید (Slide agglutination test) انجام شد.

آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی

آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش انتشار ژل و بر اساس دستورالعمل موسسه استاندارد آزمایشگاه و بالین [۱۰] روی محیط مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) برای آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۱۰µg)، تتراسیکلین (۳۰µg)، تریمتوپریم/سولفامتوکسازول (۲۵/۷۵µg–۱/۲۳)، سیپروفلوکساسین (۵µg)، نالیدیکسیک اسید (۳۰µg)، لووفلوکساسین (۵µg)، جنتامایسین (۱۰µg)، استرپتومایسین (۱۰µg) و کلرامفنیکل (۳۰µg) (تهیه‌شده از شرکت Mast، انگلستان) انجام شد. در این مطالعه از سویه‌های شیگلا سونئی ATCC29930 و شیگلا فلکسنری ATCC12022 به عنوان کنترل مثبت و اشرشیا کلی ATCC25922 به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز(Polymerase chain reaction (PCR)) پس از استخراج DNA باکتریایی با روش جوشاندن (Boiling method) و تأیید درجه خلوص DNA استخراج‌شده با استفاده از دستگاه بیوفتومتر (Bio-Rad, USA)، ژن‌های PMQRs (qnrA، qnrB، qnrC، qnrD و qnrS) با استفاده از روش PCR و با استفاده از توالی‌های پرایمری اختصاصی (جدول ۱) [۱۱ و ۱۲] در دستگاه ترمال‌سایکلر (اپندورف، آلمان) در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۷/۵ میکرولیتر PCR master mix 5X (سیناکلون، ایران) حاوی Taq DNA polymerase (0.05 U/µl)، MgCl2 (3 mM) و dNTPs (0.4mM)، ۰/۵ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها، ۱ میکرولیتر از DNA الگو (۱۰ نانوگرم) و ۱۵/۵ میکرولیتر آب دو بار تقطیر استریل برای ۳۰ سیکل ردیابی شدند. شرایط دمایی در این مطالعه شامل؛ مرحله واسرشتگی در ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، مرحله اتصال پرایمرها در ۵۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه و مرحله طویل سازی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه بود. در پایان، محصولات واکنش PCR در ژل آگارز ۱٪ حاوی اتیدیوم‌بروماید (µg/ml 0.5) الکتروفورز شد.

تحلیل های آماری

داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ و با استفاده از آمار توصیفی تشریح شدند.

پروژه حاضر دارای کد اخلاق IR.IUMS.REC 1396.9321733217 است.

جدول ۱: توالی الیگونوکلئوتیدی پرایمرهای استفاده شده در مطالعه

ژن هدف	توالی پرایمری (۵'→۳')	طول آمپلیکون (bp)
qnrA	F:5'- ATTTCTCACGCCAGGATTTG-3' R:5'- GATCGGCAAAGGTTAGGTCA-3'	۵۱۶
qnrB	F: 5'-GTTGGCGAAAAAATTGACAGAA-3' R: 5'-ACTCCGAATTGGTCAGATCG-3'	۵۲۶
qnrC	F: 5'-GCGAATTTCCAAGGGGCAAA-3' R:5'- ACCCGTAATGTAAGCAGAGCAA-3'	۱۳۵
qnrD	F: 5'-AGGTGTAGCATGTATGGAAAAGC-3' R:5'- ACATTGGGGCATTAGGCGTT-3'	۶۹۱
qnrS	F: 5'-ACGACATTCGTCAACTGCAA-3' R: 5'-TTAATTGGCACCCTGTAGGC-3'	۴۱۷

یافته ها:

از مجموع ۳۵۸ نمونه مدفوع اسهالی به‌دست‌آمده از کودکان، تعداد ۹۱ جدایه شیگلا به دست آمد که ۴۸ جدایه (۵۲/۷ درصد) متعلق به نمونه مدفوع پسران و ۴۳ جدایه (۴۷/۳ درصد) متعلق به نمونه مدفوع دختران بود. نتایج آزمون آگلوتیناسیون اسلایدی نشان داد که تعداد ۶۳ جدایه (۶۹/۲ درصد) شیگلا سونئی و ۲۸ مورد (۳۰/۸ درصد) شیگلا فلکسنری بودند.

بیشترین میزان مقاومت در سویه‌های شیگلا سونئی و شیگلا فلکسنری مربوط به تریمتوپریم/سولفامتوکسازول بود. تمامی سویه‌های شیگلا فلکسنری و شیگلا سونئی به ترتیب به لووفلوکساسین و جنتامایسین حساس بودند. بنابراین، لووفلوکساسین و جنتامایسین به عنوان مؤثرترین گزینه‌های درمانی در جدایه های تحت مطالعه هستند (جدول ۲). از مجموع ۹۱ جدایه شیگلا در این مطالعه، ۱۹ (۲۰/۸ درصد) سویه به سه کلاس مختلف آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند و به عنوان MDR در نظر گرفته شدند که ۷ (۳۶/۸ درصد) جدایه شیگلا فلکسنری و ۱۲ (۶۳/۲ درصد) جدایه شیگلا سونئی بودند.

وجود یا عدم وجود ژن‌های PMQR روی تمامی ۹۱ جدایه شیگلای جداشده از نمونه مدفوع اسهالی کودکان انجام شد. فراوانی ژن‌های qnrA، qnrB و qnrS در این مطالعه به ترتیب برابر ۲۶/۴، ۷۴/۷ و ۴۶/۲ درصد بود. تمامی سویه‌ها از نظر وجود ژن‌های qnrC و qnrD منفی بودند. (جدول ۳). همچنین حضور ژن‌های مقاومتی بر حسب گالری مقاومت به کینولون‌ها در جدول ۴ آمده است (جدول ۴).

جدول۲: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های تحت مطالعه

عامل ضد میکروبی	شیگلا سونئی			شیگلا فلکسنری		
	R	I	S	R	I	S
آمپی‌سیلین	۴۱(۶۵/۱)	۴(۶/۳)	۱۸(۲۸/۶)	۹(۳۲/۲)	۲(۷/۱)	۱۷(۶۰/۷)
تتراسیکلین	۵۸(۹۲/۱)	۰(۰/۰)	۵(۷/۹)	۲۱(۷۵)	۳(۱۰/۷)	۴(۱۴/۳)
تریمتوپریم/سولفامتوکسازول	۶۰(۹۵/۳)	۰(۰/۰)	۳(۴/۷)	۲۵(۸۹/۳)	۰(۰/۰)	۳(۱۰/۷)
سیپروفلوکساسین	۴۹(۷۷/۷)	۱(۱/۶)	۱۳(۲۰/۷)	۱۷(۶۰/۷)	۰(۰/۰)	۱۱(۳۹/۳)
نالیدیکسیک اسید	۲۲(۳۴/۹)	۲(۳/۲)	۳۹(۶۱/۹)	۹(۳۲/۲)	۰(۰/۰)	۱۹(۶۷/۸)
لووفلوکساسین	۲(۳/۲)	۰(۰/۰)	۶۱(۹۶/۸)	۰(۰/۰)	۰(۰/۰)	۲۸(۱۰۰)
جنتامایسین	۰(۰/۰)	۱(۱/۶)	۶۲(۹۸/۴)	۱(۳/۶)	۰(۰/۰)	۲۷(۹۶/۴)
استرپتومایسین	۵۹(۹۳/۶)	۱(۱/۶)	۳(۴/۸)	۲۲(۷۸/۶)	۲(۷/۱)	۴(۱۴/۳)
کلرامفنیکل	۱۱(۱۷/۵)	۴(۶/۳)	۴۸(۷۶/۲)	۴(۱۴/۳)	۱(۳/۶)	۲۳(۸۲/۱)

I; intermediate, R; resistance, S; sensitive

جدول ۳: پروفایل حضور ژن‌های تحت مطالعه

جدایه باکتریایی	فراوانی (٪) ژن‌های تحت بررسی							
	qnrB/qnrS	qnrA/qnrS	qnrA/qnrB	qnrS	qnrD	qnrC	qnrB	qnrA
شیگلا فلکسنری	۲(۷/۱)	۱(۳/۶)	۳(۱۰/۷)	۱۳(۴۶/۴)	۰(۰/۰)	۰(۰/۰)	۱۶(۵۷/۱)	۷(۲۵)
شیگلا سونئی	۱۱(۱۷/۵)	۵(۷/۹)	۶(۹/۵)	۲۹(۴۰)	۰(۰/۰)	۰(۰/۰)	۵۲(۸۲/۵)	۱۷(۲۶/۹)
مجموع	۱۲(۱۳/۲)	۶(۶/۶)	۹(۹/۹)	۴۲(۴۶/۲)	۰(۰/۰)	۰(۰/۰)	۶۸(۷۴/۷)	۲۴(۲۶/۴)

جدول ۴: حضور ژن‌های مقاومتی بر حسب مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های گروه کینولون

کینولون تست شده	qnrS		qnrB		qnrA	
	شیگلا سونئی	شیگلا فلکسنری	شیگلا سونئی	شیگلا فلکسنری	شیگلا سونئی	شیگلا فلکسنری
سیپروفلوکساسین	۱۷ (۵۸/۶)	۴ (۳۰/۷)	۹ (۱۷/۳)	۱۱ (۶۸/۷)	۱۳ (۷۶/۵)	۵ (۷۱/۴)
نالیدیکسیک اسید	۱۲ (۴۱/۴)	۹ (۶۹/۲)	۴۱ (۷۸/۸)	۵ (۳۱/۳)	۴ (۲۳/۵)	۲ (۲۸/۶)
لووفلوکساسین	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۲ (۳/۸)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)

بحث:

در مطالعه پیش‌رو تمامی (۱۰۰ درصد) جدایه‌های شیگلا فلکسنری به لووفلوکساسین حساس هستند. همچنین تنها دوسویه (۳/۲ درصد) از سویه‌های شیگلا سونئی به لووفلوکساسین مقاوم بودند. بنابراین، مطابق با مطالعه شاهسون و همکاران [۱۳] لووفلوکساسین به عنوان مؤثرترین گزینه درمانی در سویه‌های موجود مطرح است، اما مغایر با نتایج فعلی، مجلسی و همکاران در همدان [۱۴] میزان مقاومت به لووفلوکساسین را ۸۵ درصد گزارش کردند. مادیاروف و همکاران [۱۵] الگوی مقاومت به استرپتومایسین، تتراسایکلین، کلرامفنیکل و آمپی‌سیلین را در شیگلا فلکسنری و شیگلا سونئی به ترتیب ۱۰۰٪، ۹۳٪/۵، ۹۰٪/۴ و ۹۰/۴٪ گزارش کردند. جمشیدی و همکاران [۱۶] در زنجان از مجموع ۶۸۲ نمونه مدفوع اسهالی ۱۳۴ (۱۹/۶ درصد) شیگلا جدایه نمودند که ۸۸/۸ درصد از سویه‌ها به سیپروفلوکساسین حساس بودند. به نظر می‌رسد اختلاف در مقاومت به آمپی‌سیلین مربوط به تفاوت در سروتایپ باشد. در مطالعه حاضر سروتایپ غالب شیگلا سونئی بود که مقاومت بیشتری نسبت به آمپی‌سیلین داشتند، درحالی‌که در مطالعه جمشیدی و همکاران [۱۶] سروتایپ غالب شیگلا فلکسنری بوده که مقاومت بالایی به آمپی‌سیلین را در سال‌های اخیر نشان می‌دهد. در این مطالعه، ۲۰/۸ درصد از سویه‌ها به سه کلاس مختلف آنتی‌بیوتیکی مقاوم بودند و به عنوان MDR در نظر گرفته شدند که ۳۶/۸ درصد شیگلا فلکسنری و ۶۳/۲ درصد شیگلا سونئی بودند، درحالی‌که زمانلو و همکاران [۱۷] میزان شیوع جدایه‌های MDR را برابر ۹۵/۱ درصد اعلام و شایع‌ترین

پروفایل MDR الگوی مقاومت به تریمتوپریم/سولفامتوکسازول-استرپتومایسین-آمپی‌سیلین را داشتند. اختلاف در میزان بروز مقاومت دارویی می‌تواند به دلیل فاصله جغرافیایی، عملکرد کمیته نظارت بر مصرف منطقی دارو، آگاهی و آموزش مردم منطقه در عدم مصرف خودسرانه آنتی‌بیوتیک و تنوع سروتایپی سویه‌ها باشد.

نتایج آزمون مولکولی نشان داد که به ترتیب ۸۲/۵٪، ۴۰٪ و ۲۶/۹٪ از سویه‌های شیگلا سونئی حامل qnrB، qnrS و qnrA بودند. در مجموع فراوانی ژن qnrB در جدایه‌های شیگلا در مطالعه پیش رو در مقایسه با سایر ژن‌ها بیشتر بود (۷۴/۷ درصد). این نتایج با مطالعه رنجبر و همکاران [۱۱] و مجلسی و همکاران [۱۴] همخوانی دارد. از مجموع ۲۲ جدایه کلینیکی کلبسیلا پنومونیه جداشده در سال ۲۰۱۶ در برزیل، کرایچت و همکاران [۱۲] در ۱۵ جدایه (۶۸/۲ درصد) ژن qnrA و/یا qnrB را شناسایی کردند. در تناقض با مطالعه پیش رو، از میان ۷۳ سویه شیگلای جمع‌آوری‌شده در مطالعه مقبلی و همکاران [۱۸] در سال ۱۳۹۳، ۲۳ جدایه به نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند که از این میان چهار نمونه دارای ژن qnrS بود که مربوط به سروتایپ‌های شیگلا فلکسنری (۲ سویه)، شیگلا سونئی (۱ سویه) و شیگلا بوئیدی (۱ سویه) بودند. آن‌ها هیچ‌یک از ژن‌های qnrA و qnrB را در سویه‌های خود مشاهده نکردند.

بر اساس جدول ۴، تنها دو سویه شیگلا فلکسنری به لووفلوکساسین مقاوم بود که هر دو حامل ژن qnrB بودند. از دلایل عدم هم‌خوانی فراوانی ژن‌ها با گالری مقاومتی می‌توان به وجود سازوکارهای دیگر مقاومت به کوئینولون‌ها اشاره کرد. افزایش نفوذناپذیری دیواره سلولی، جهش در مناطق QRDR، وجود افلاکس پمپ و حضور دیگر ژن‌های پلاسمیدی PMQR ازجمله دلایل این مغایرت است. در مطالعه لیو و همکاران [۱۹] در چین روی ۱۲۵ شیگلا فلکسنری جداشده از شش بیمارستان در بین سال‌های ۲۰۰۷ تا ۲۰۱۰ ژن qnrS فراوان‌ترین ژن qnr بود، اما در سال ۲۰۱۰ در بین نمونه‌های شیگلا جداشده مشخص شد که مهم‌ترین آلل qnr در بین شیگلا فلکسنری آلل qnrA است. از مجموع ۱۱۰ جدایه سودوموناس آئروژینوزا جداشده در کشور مصر در سال ۲۰۱۷، صالح و همکاران [۲۰] فراوانی ژن‌های qnrB و qnrS را به ترتیب ۱/۸ درصد و ۲/۷ درصد اعلام کردند. در این مطالعه بیش‌ترین فراوانی هم‌زمان ژن‌های PMQR مربوط به qnrS/ qnrB بود که با توجه به پراکندگی این ژن‌ها در مراکز درمانی کشور کاملاً قابل توجیه بوده و با مطالعه رنجبر و همکاران قابل توجیه می‌باشد.

نتیجه‌گیری:

نتایج مطالعه پیش رو نشان داد که ژن qnrB شایع‌ترین ژن PMQR در مرکز درمانی مورد مطالعه یعنی بیمارستان مرکز طبی کودکان تهران می‌باشد و این به دلیل منشأ پلاسمیدی، قابلیت انتقال و توانایی بالایی برای انتشار به سایر جدایه‌ها است. بنابراین، با انجام مطالعات مولکولی بیشتر راهبردهای درمانی جدیدی پدید خواهد آمد. از این رو، پیشنهاد می‌شود به دلیل تغییر مداوم الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی، هر ساله حساسیت باکتریایی در میان جمعیت‌های مختلف بررسی و درمان تجربی مناسب انتخاب شود.

تشکر و قدردانی:

بدین‌وسیله از تمامی کارکنان بیمارستان مرکز طبی کودکان برای کمک در جمع‌آوری نمونه‌ها و اجرای پژوهش حاضر تقدیر و تشکر می‌شود.

تعارض منافع:

بین نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

References:

1. Ranjbar R, Dallal MM, Talebi M, Pourshafie MR. Increased isolation and characterization of *Shigella* sonnei obtained from hospitalized children in Tehran, Iran. Journal of health, population, and nutrition, 2008. 26(4): p.426-432.
2. Soltan Dallal MM, Ranjbar R, Pourshafie MR. The study of antimicrobial resistance among Shigella flexneri strains isolated in Tehran, Iran. Journal of Pediatric Infectious Diseases, 2011. 6(2): p. 125-129.
3. Jamal WY, Rotimi VO, Chugh TD, Pal T. Prevalence and susceptibility of Shigella species to 11 antibiotics in a Kuwait teaching hospital. Journal of chemotherapy, 1998. 10(4): p. 285-290.
4. Pan JC, Ye R, Meng DM, Zhang W, Wang HQ, Liu KZ. Molecular characteristics of class 1 and class 2 integrons and their relationships to antibiotic resistance in clinical isolates of *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2006. 9; 58(2): p. 288-296.
5. Goldberg M, Calderwood SB, Edwards MS, Bloom A. *Shigella* infection: epidemiology, microbiology, and pathogenesis. Recuperado el, 2013. p. 14:4-130.
6. Dallal MM, Eghbal M, Sharafianpour A, Zolfaghari MR, Yazdi MK. Prevalence and multiple drug resistance of Shigella sonnei isolated from diarrheal

stool of children. Journal of Medical Bacteriology, 2015. 4(3-4): p. 24-9.
7. Ranjbar R, Behnood V, Memariani H, Najafi A, Moghbeli M, Mammina C. Molecular characterisation of quinolone-resistant Shigella strains isolated in Tehran, Iran. Journal of global antimicrobial resistance, 2016. 5: p. 26-30.
8. Yang H, Duan G, Zhu J, Zhang W, Xi Y, Fan Q. Prevalence and characterisation of plasmid-mediated quinolone resistance and mutations in the gyrase and topoisomerase IV genes among Shigella isolates from Henan, China, between 2001 and 2008. International journal of antimicrobial agents, 2013. 42(2): p. 173-177.
9. Yang H, Chen H, Yang Q, Chen M, Wang H. High prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance genes qnr and aac (6′)-Ib-cr in clinical isolates of Enterobacteriaceae from nine teaching hospitals in China. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2008. 52(12): p. 4268-4273.
10. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
11. Ranjbar R, Farahani O. The Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance genes in Escherichia coli isolated from hospital wastewater sources in Tehran, Iran. Iranian journal of public health, 2017. 46(9): p. 1285-1291.
12. Kraychete GB, Botelho LA, Campana EH, Picão RC, Bonelli RR. Updated multiplex PCR for detection of all six plasmid-mediated *qnr* gene families. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2016. 12 (2): p. 124-132.
13. Shahsavan S, Rastegar Lari A, Bakhshi B, Owlia P, Nobakht M. Tetracycline and Azithromycin Resistance Investigation on Shigella spp. Isolated from the Stool of Children with Diarrhea in Tehran, Iran. Journal of Ardabil University of Medical Sciences, 2016. 16(3): p. 282-291.
14. Majlesi A, Kakhki RK, Nejad AS, Mashouf RY, Roointan A, Abazari M, Alikhani MY. Detection of plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of Enterobacteriaceae strains in Hamadan, West of Iran. Saudi journal of biological sciences, 2016. 42 (11): p. 54-63.
15. Madiyarov RS, Bektemirov AM, Ibadova GA, Abdukhalilova GK, Khodiev AV, Bodhidatta L, Sethabutr O, Mason CJ. Antimicrobial resistance patterns and prevalence of class 1 and 2 integrons in Shigella flexneri and Shigella sonnei isolated in Uzbekistan. Gut pathogens, 2010. 2(1): p. 18-28.
16. Jamshidi A. Prevalence of Shigella spp and antibiotic resistance pattern in patients with acute diarrhea in Shahid Beheshti Education Center, Sampad Zanjan from 2003 to 2007. J Zanjan Uni Med Sci. 2008. 62: p. 84-77.
17. Zamanlou S, Rezaee MA, Aghazadeh M, Ghotaslou R, Nave HH, Khalili Y. Genotypic Diversity of Multidrug Resistant Shigella species from Iran. Infection & chemotherapy, 2018. 50(1): p. 29-37.
18. Moghbeli M, Behnood V, Ranjbar R. A study to determine antibiotic resistance and recognition *qnr* genes in Shigella strains isolated from patients admitted to Mofid's children medical center, Tehran. Journal of microbial world, 2014, 1 (18); p. 49-57.
19. Liu Y, Hu L, Pan Y, Cheng J, Zhu Y, Ye Y, Li J. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in association with β-lactamases, 16S rRNA methylase genes and integrons amongst clinical isolates of *Shigella flexneri*. Journal of medical microbiology, 2012. 61(8): p. 1174-1176.
20. Saleh MA, Balboula MM. Plasmid mediated quinolone resistance determinants among nosocomial clinical Pseudomonas aeruginosa isolates. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 2017. 6(1): p. 42-50.

Original Article

Plasmid-mediated quinolone resistance in *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri* isolated from pediatric diarrhea

Mohsen Jafari [1], Laila Ghasemi Kia [2], Mohsen Mohammadi [3], Hossein Alimadadi [4] Arash Abbasi [5], Abazar Pournajaf [6], Ramin Kafshgari [7], Katayoun Borhani [8] Mahmoud Khodabandeh [8*]

Received:2018.07.28 Revised:2019.04.08 Accepted: 2019.04.09

1. Department of Pediatric Infectious Diseases, Bahrami Children Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Department of Microbiology, Faculty of Basic Science, Azad University of Borujerd, Borujerd, Iran
3. Non-Communicable Pediatric Diseases Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
4. Pediatric Gastroenterology and Hepatology Research Center, Children's Medical Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5. Pediatric Chronic Kidney Disease Research Center, The Children's hospital Medical Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
6. Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
7. Student research committee, Babol University of medical sciences, Babol, Iran
8. Department of Pediatric Infectious Diseases, Pediatric's Center of Excellence, Children's Medical Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.17, No.1, Spring 2019

Pars J Med Sci 2019;17(1):8-14

Abstract:

Introduction:
Fluoroquinolones are one of the most common antibiotics in the treatment of Shigella infections worldwide. The presence of plasmids carrying quinolone-resistance genes is one of the most important mechanisms for resistance to these drugs. Therefore, the aim of this study was to determine the presence of quinolone resistance plasmid genes (qnr) in Shigella sonnei and Shigella flexneri isolated from pediatric diarrhea.

Material and methods:
In a 10-month period from the beginning of June to the end of March 2012, 91 isolates of Shigella were obtained from 358 non-repetitive diarrhea samples. After identification and confirmation of Shigella isolates, antibiotic susceptibility test was performed based on the CLSI instruction. The molecular PCR test was performed to amplify qnrA, qnrB, qnrC, qnrD and qnrS genes.

Results:
Slide agglutination test showed that the prevalence of Shigella sonnei and Shigella flexneri were 69.2% and 30.8%, respectively. The disc diffusion test showed that all Shigella flexneri were susceptible to levofloxacin. Most of the Shigella sonnei were resistant to Streptomycin. The frequency of qnrA, qnrB and qnrS genes were 26.4%, 74.7% and 46.2%, respectively. All strains were negative for the presence of qnrC and qnrD genes.

Conclusions:
The qnrB gene is the most common plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) in our treatment centers. Because of their plasmid origin, these genes have the ability to transfer and have high ability to spread to the other isolates. Since the change in pattern of antibiotic susceptibility is occurs, perform of antibiotic susceptibility test necessary.

Keywords: Quinolone, Plasmid, Shigella Sonnei, Shigella Flexneri, Children's Diarrhea

* Corresponding author Email: khodabandeh@farabi.tums.ac.ir