بررسی وجود ژن‌های کدکننده مقاومت به اریترومایسین در خانواده انتروباکتریاسه (کلبسیلا، پروتئوس، انتروباکتر) جدا شده از نمونه‌های ادرار

منوچهر روحبخش غیاثی [۱]، فاطمه نوربخش [۱،*]، آمنه الیکایی [۳]

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، دانشکده زیست شناسی، گروه میکروبیولوژی
۲. دانشگاه الزهرا، دانشکده علوم زیستی، گروه میکروبیولوژی

* **مسئول مکاتبات:** فاطمه نوربخش: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، دانشکده زیست شناسی، گروه میکروبیولوژی، موبایل: ۰۹۱۲۲۰۴۳۶۵۴، آدرس الکترونیکی: niloofar_noorbakhsh@yahoo.com

محل انجام تحقیق: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۲۰

فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد ۱۰- شماره ۳- پاییز-۱۳۹۴

چکیده

عفونت مجاری ادراری یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی در سراسر جهان است که توسط باکتری‌های مختلفی ازجمله باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه ایجاد می‌شود. امروزه مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری‌های بیماریزا یک مشکل مهم در درمان بیماری‌های عفونی است.علت اصلی اغلب مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی مربوط به بد مصرف کردن آنتی بیوتیک‌ها می باشد.آنتی‌بیوتیک اریترومایسین یک آنتی‌بیوتیک ماکرولیدی است که موجب مهار سنتز پروتئین می گردد که در نتیجه اتصال به ۲۳S rRNAدر زیر واحد ۵۰s ریبوزوم باکتری و مهار انتقال پپتیدیل RNA از جایگاه A به P می شود که این اتصال برگشت پذیر است. الگوی مقاومت به اریترومایسین شامل Erm متیلازها، پمپ‌های افلاکس دارو و آنزیم‌های غیر فعال کننده می باشد. هدف از این تحقیق بررسی وجود ژن مقاومت به اریترومایسین درانتروباکتریاسه‌های جدا شده از عفونت ادراری می‌باشد. تعداد ۱۲۰ نمونه کلبسیلا، پروتئوس، انتروباکتر از بیمارستان‌ها و آزمایشگاه‌های تشخیص طبی شهر تهران جمع‌آوری شد و حساسیت آنتی‌بیوتیکی نمونه‌ها با روش دیسک دیفیوژن تعیین گردید و در نهایت حضور ژن مقاومت به اریترومایسین(ermA,ermB) با استفاده از پرایمر اختصاصی توسط PCR مورد بررسی قرار گرفت. میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های جدا شده از ادرار برای اریترومایسین، تیکارسیلین، سفتریاکسون، سفوکسیتین، استرپتومایسین، تتراسایکلین به ترتیب برابر با ۷۸/۴٪ ، ۵۴/۲٪، ۵۵٪/۹، ۴۳/۴٪، ۷۰٪و ۵۰/۹٪ به دست آمد. همچنین میزان فراوانی ژن erm A و erm B به دست آمده از ۱۲۰ باکتری جدا شده به ترتیب برابر ۲۲/۵٪ و ۲۰/۶٪ است. فنوتیپ مقاومت آنتی‌بیوتیکی اریترومایسین در باکتری‌های مورد مطالعه حدود ۷۶٪/۷ در حالیکه فراوانی ژن erm A حدود ۲۲/۵٪ و برای ژن erm B ۲۱/۶٪ بود. بنابراین وجود ژن‌های دیگر و حتی عوامل دیگری ممکن است در ایجاد فنوتیپ مقاومت دخالت داشته باشد.

واژگان کلیدی: مقاومت به اریترومایسین، ermA، ermB، کلبسیلا، پروتئوس، انتروباکتر، عفونت ادراری

مقدمه

عفونت ادراری با وجود باکتری در ادرار یا باکتریوری و وجود علائم بالینی بدون توجه به تعداد باکتری در ادرار مشخص می شود و به دو دسته عفونت ادراری فوقانی و تحتانی تقسیم می شود. عفونت ادراری فوقانی همان پیلونفریت است، در حالی که عفونت‌های ادراری تحتانی شامل سیستیت ، اورتریت و پروستاتیت می‌باشد. عفونت سیستم ادراری می‌تواند هم زمان چند محل را گرفتار کند. به طور مثال در بسیاری از موارد پیلونفریت به همراه درگیری مثانه و سیستیت می‌باشد (۱). اعضای خانواده

انتروباکتریاسه به عنوان یکی از عوامل مهم ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شوند. گزارشات مختلفی از سراسر جهان مبنی بر نقش مهم آنها در ایجاد عفونت‌های جدی از جمله عفونت‌های دستگاه ادراری، دستگاه تنفس، پوست، بافت نرم و خون در بخش‌های مختلف بیمارستانی به ویژه بخش مراقبت ویژه وجود دارد (۲).

کلبسیلا، پروتئوس و انتروباکتر از اعضای خانواده انتروباکتریاسه می باشند و جزء فلور نرمال دستگاه روده‌ای می‌باشند. مقاومت آنتی بیوتیکی به وجود آمده در این باکتری‌ها مشکلات عمده‌ای را در درمان آنها ایجاد کرده است. کسب عناصر ژنتیکی متحرک از جمله پلاسمیدها ترانسپوزون‌ها و اینتگرون‌ها در میان باکتری‌های گرم منفی نقش مهمی را در گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایفا می‌کند (۳).

مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها در خانواده انتروباکتریاسه با مکانیسم‌های مختلفی ایجاد می‌شود که در این میان تولید آنزیم کارباپنماز مهمترین این مکانیسم‌ها می‌باشد. همچنین، باکتری‌ها با ایجاد تغییرات ساختمانی در توالی اسیدآمینه تغییر پروتئین‌های غشای خارجی و یا ایجاد پمپ‌های انتشار به خارج (efflux) و تولید آنزیم‌های غیرفعال کننده نیز نسبت به آنتی بیوتیک‌ها مقاومت نشان می‌دهند (۴).

آنتی‌بیوتیک اریترومایسین از خانواده ماکرولیدها می‌باشد که حاوی یک حلقه بزرگ ماکروسیکلیک لاکتونی هستند. اگر چه ماکرولیدها بیشتر به عنوان داروهای باکتریواستاتیک شناخته شده‌اند، ولی در غلظت‌های بالا می‌تواند اثر باکتریوسیدال از خود نشان دهد. اریترومایسین یک آنتی‌بیوتیک رایج است که برای درمان عفونت‌های گوناگونی نظیر عفونت پوست، برونشیت، ذات الریه (پنومونی)، دیفتری، سیاه سرفه، عفونت‌های کلامیدیایی، سفیلیس و سوزاک استفاده می‌شود (۵). دو مکانیسم مهم در مقاومت به ماکرولیدها وجود دارد که مهمترین آن تغییر جایگاه هدف که به واسطه ژن‌های erm کد شده و مقاومت به ماکرولیدها و لینکوزآمید' استرپتوگرامین B را سبب می شود و یک سیستم پمپ افلاکس که در غشا واقع شده که ژن های mef(A/E)'msr آن را کد می کنند و سبب خروج دارو از سلول باکتری می‌گردد. ژن‌های erm مسئول کد کردن متیل ترانسفرازها می‌باشند. این آنزیم‌ها سبب القاء دمیتیلاسین یک گروه آدنین (A2059/A2058) از دومین V در جایگاه پپتیدیل ترانسفراز زیر واحد ۲۳s ریبوزومی می‌گردد که در نهایت سبب کاهش میل ترکیبی اتصال و ایجاد مقاومت به ماکرولیدها' لینکوزآمین‌ها و استرپتوگرامین B می‌گردد. ژن‌های erm در بسیاری از تراسپوزون‌ها شناسایی شده‌اند. اکثر ایزوله‌های انتروکوکی جدا شده‌ی مقاوم به اریترومایسین که تاکنون مطالعه شده‌اند دارای ژن‌های erm A 'erm B 'erm C می‌باشند و فراوانی ژن erm B بیش از همه (بالاتر از ۷۰٪) بوده و فراوانی ژن‌های erm A و erm C وابسته به منطقه جغرافیایی متفاوت می‌باشند (۶،۷).

با توجه به ضرورت مساله مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تبعات آن بر سلامت انسان و با توجه به اینکه در درمان عفونت‌های باکتری‌های گرم منفی از اریترومایسین استفاده نمی شود. لذا در این مطالعه رابطه مقاومت آنتی‌بیوتیکی و وجود ژن‌های کد کننده مقاومت به اریترومایسین در باکتری‌های کلبسیلا، پروتئوس و انتروباکتر جدا شده از نمونه‌های ادرار مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

نمونه

تعداد ۲۳۰ نمونه مشکوک به عفونت ادراری از بیماران بستری و بیماران سرپایی مراجعه کننده به بیمارستان‌های هاشمی نژاد، مهر، گلستان و ۵۰۱ ارتش و آزمایشگاه بقیه الله و نیلو جمع‌آوری شد. نمونه‌ها با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی استاندارد از جمله تست‌های تشخیصی SIM، سیمون سیترات، تست اوره، TSI، سیترات و MRVP تعیین هویت شدند.

تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی

الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌ها با استفاده از روش دیسک دیفیوژن مطابق با معیارهای موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (CLSI 2014) تعیین گردید (۸،۹). دیسک‌ها محصول شرکت پادتن طب و به شرح زیر بودند: اریترومایسین (۳۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، سفوکسیتین (۱۰ میکروگرم)، تیکارسیلین (۳۰ میکروگرم) و استرپتومایسین (۳۰ میکروگرم). برای تعیین تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی سوسپانسیون

استاندارد معادل نیم مک فارلند تهیه شد. سوآپ استریلی آغشته به این سوسپانسیون شد و بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد و دیسک‌های آنتی‌بیوتیک با فاصله مناسب از یکدیگر قرار گرفت و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرما گذاری شد، پس از ۲۴ تا ۷۲ ساعت قطر هاله طبق جدول استاندارد CLSI فنوتیپ مقاومت تعیین گردید و به سه دسته حساس (S)، نیمه حساس(I) و مقاوم(R) دسته بندی شدند.

استخراج DNA و انجام PCR

استخراج DNA ایزوله‌ها با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت سینا ژن مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده صورت پذیرفت. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ شرح داده شده است. آزمون PCR برای شناسایی ژن مقاومت erm A و erm B صورت پذیرفت. مواد مورد استفاده و غلظت مورد نیاز در جدول ۲ آمده است.

جدول ۱ - مشخصات پرایمرهای erm A و erm B.

نام پرایمر	توالی پرایمر	اندازه محصول bp
erm A s	Aacaccctgaacccaagggacg	۴۲۶
erm A as	Cttcacatccggattcgctcga	
erm B s	Agaaatggaggttcatacttacca	۵۴۹
erm B as	Catataatcatcaccaatggca	

جدول ۲ - جدول مقادیر مورد نیاز برای PCR.

مواد مورد نیاز	حجم مورد استفاده
10X Buffer	5mM
$MgCl_2$	2 mM
dNTP	1 mM
Primers	2 (P_s)& 2 (P_{As}) mM
Taq Polymerase	0.5 mM
DNA Tamplate	1 mM
H_2O (D.W)	11.5 mM

برنامه‌ریزی دستگاه ترموسایکلر برای ژن erm A و erm B در ۳۵ سیکل حرارتی شامل دمای دناتوراسیون اولیه ۹۴ درجه به مدت ۵ دقیقه، دمای دناتوراسیون ۹۵ درجه به مدت ۳۰ دقیقه، دمای اتصال پرایمر ۵۶ درجه به مدت ۱ دقیقه ۱۵ ثانیه، دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه و دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. سپس محصول PCR در ژل آگارز ۲ درصد قرار گرفته با 6x Loading رنگ آمیزی و تحت اشعه UV عکس برداری گردید. از مارکر ۱۰۰BP تولید شرکت سیناژن برای شناسایی محصول PCR استفاده شد. برای تحلیل داده‌های آماری در این مطالعه از نرم افزار Excell استفاده شد.

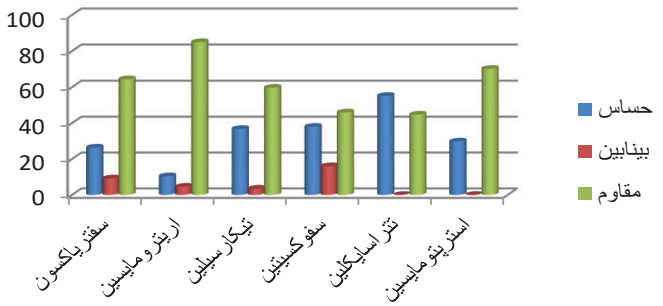
نتایج

فراوانی باکتری‌های جدا شده از ادرار

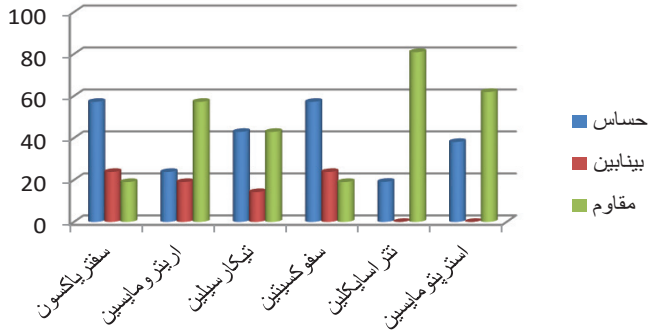
تعداد ۲۳۰ نمونه مشکوک به عفونت ادراری از بیمارستان‌های الغدیر، ارتش، هاشمی‌نژاد و شریعتی شهر تهران مورد بررسی قرار گرفت. پس از انجام تست‌های بیوشیمیایی ۱۲۰ مورد از آنها مورد تائید قرار گرفت که از بین آنها ۸۸ مورد متعلق به کلبسیلا، ۲۰ مورد پروتئوس و ۱۲ مورد آنها انتروباکتر ایزوله شد. از کل نمونه‌های جدا شده ۸۶ مورد از زنان و ۳۴ مورد از مردان جداسازی شد.

فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های جدا شده از ادرار

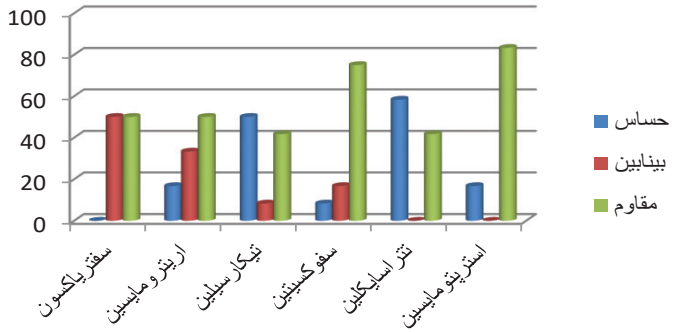
با انجام تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی در ۱۲۰ نمونه جدا شده از ادرار میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ۶ آنتی-بیوتیک مورد مطالعه بررسی شد. نتایج نشان داد که بالاترین میزان مقاومت در برابر اریترومایسین برای ایزوله-های کلبسیلا ۸۵٪ مورد، انتروباکتر ۵۰٪ مورد و برای پروتئوس ۵۷/۲٪ مورد است.



نمودار ۱: -درصد مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیک‌ها در کلبسیلا از ۱۲۰ نمونه جدا شده.



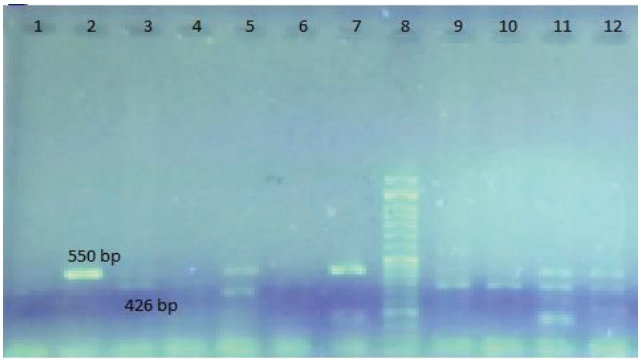
نمودار ۲ - درصد مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیک‌ها در انتروباکتر از ۱۲۰ نمونه جدا شده.



نمودار ۳ - درصد مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیک‌ها در پروتئوس از ۱۲۰ نمونه جدا شده.

نتایج تست‌های مولکولی

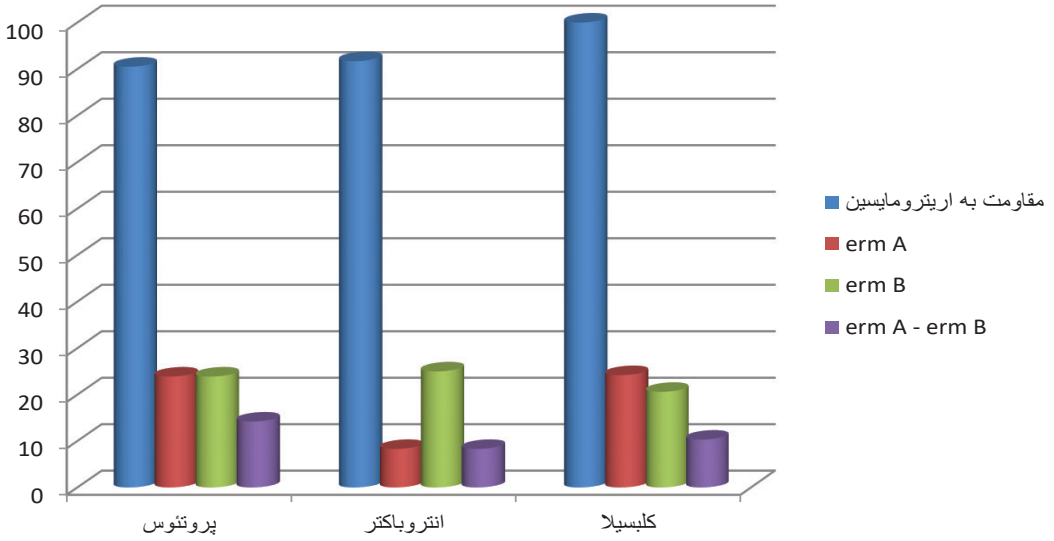
به منظور بررسی فراوانی ژن‌های erm A و erm B در ایزوله‌های کلبسیلا، پروتئوس وانتروباکتر جدا شده از ادرار روش PCR مورد استفاده قرار گرفت. در این روش از دو جفت پرایمر اختصاصی در یک واکنش PCR استفاده شد. ژن کد کننده erm A باندی حدود ۴۲۶ جفت باز ایجاد می‌کند. ژن erm A در ۲۷ نمونه از ۱۲۰ نمونه کلبسیلا، پروتئوس و انتروباکتر مشاهده شد. ژن erm B باندی حدود ۵۴۹ جفت باز ایجاد می‌کند که در ۲۶ نمونه از ۱۲۰ نمونه کلبسیلا، پروتئوس و انتروباکتر شناسایی شدند (لازم به ذکر است که ۱۳ نمونه هر دو باند ژن را همزمان دارا بودند). بنابراین، شیوع ژن erm A با توجه به نتایج بدست آمده در این بررسی برابر ۲۲/۵ درصد و شیوع ژن erm B برابر با ۲۱/۶ درصد می باشد.



شکل ۱ - الکتروفورز محصول PCR برای ژن erm A و erm B Lane 8' Ladder 100bp.

مقایسه فراوانی ژن‌های erm A و erm B در باکتری-های مورد مطالعه:

در کلبسیلا فراوانی ژن کدکننده erm A ۲۴/۲ و ژن erm B ۱۹/۶ و حضور همزمان دو ژن ۱۰/۳ درصد بود. در انتروباکتر فراوانی ژن کد کننده erm A ۸/۳ و ژن erm B ۲۵ و حضور همزمان دو ژن ۸/۳ درصد و در پروتئوس فراوانی erm A ۲۳/۹ و ژن erm B ۲۳/۹ و حضور همزمان دو ژن ۱۴/۲ درصد مشاهده شد.



نمودار ۴ - فراوانی مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک اریترومایسین ،وجود ژن erm A وجود ژن erm B و وجود همزمان ژن‌های erm A و erm B .

فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد ۱۰- شماره ۳- پاییز - ۱۳۹۴

بحث

علی‌رغم اینکه بیماری‌های عفونی و درمان آنها در طول تاریخ بشر همواره مورد توجه قرار داشته و تلاش‌های زیادی برای ریشه‌کنی عوامل ایجاد بیماری‌ها صورت گرفته است لیکن تغییر رفتار میکروارگانیسم‌ها موجب شده است که ریشه‌کنی بیماری‌ها با موفقیت کاملی همراه نباشد. یکی از جنبه‌های مهم در این امر، ظهور سویه‌های مقاوم میکروبی است.

آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولیدی به گیرنده خود در زیرواحد ۵۰s متصل می شود و به نوعی عمل ترجمه را مهار می‌کنند. ماکرولیدها به زیر واحد ۵۰s ریبوزوم متصل می شوند و جایگاه اتصال یک 23s rRNAمی‌باشد. این داروها مانع تشکیل کمپلکس شروع همانندسازی می‌گردد(۶).

عفونت دستگاه ادراری یکی از مهم‌ترین عفونت‌های انسان محسوب می شود. به دنبال اشریشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه، گونه های پروتئوس و انتروباکتر به عنوان مهم‌ترین عوامل عفونت‌های دستگاه ادراری گزارش شده‌اند. مولازاده و همکاران، در سال ۱۳۹۲-۱۳۹۱ بر روی مقاومت آنتی-بیوتیکی در باکتری گرم منفی جدا شده از بیماران بستری مبتلا به عفونت مجاری ادراری در بخش‌های مختلف بیمارستان ولی عصر شهرستان فسا مطالعه‌ای انجام دادند. در این مطالعه از ۲۰۸۹۵ نمونه ارسالی ۲۴۸۴ مورد کشت مثبت مشاهده شد یعنی ٪۱۱/۸۸ باکتری‌های گرم منفی عامل عفونت ادراری بودند که از این میان ٪۶۴/۶ اشریشیاکلی و ٪۲۳/۸ کلبسیلا بود (۱۰).

سراج و همکاران در سال ۱۳۸۱ در اهواز بر روی نمونه-های کلبسیلا، انتروباکتر و پروتئوس جدا شده از نمونه‌های ادرار مطالعه‌ای انجام دادند و با تفکیک جنسیت این گونه بیان کردند: کلبسیلا در زنان ۸۷/۱۴ درصد و در مردان ۸۷/۱۴، انتروباکتر در زنان ۱۰۰درصد و در مردان ۵۷/۹۸، پروتئوس در زنان ۵۰ و در مردان ۵۰ درصد گزارش شد (۱۱).

در مطالعه که توسط Hannei و همکارانش در سال ۲۰۱۱ انجام شد مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های مورد مطالعه را ٪۴۱/۶۷ نسبت به اریترومایسین ارزیابی کردند (۷)، درحالی که مقاومت به اریترومایسین در باکتری‌های جدا شده از ادرار در مطالعه حاضر ٪۷۶/۷ بود.

در مطالعه دیگری که توسط رنجبران در سال ۱۳۹۲ بر روی اینتگرون‌ها در اشریشیاکلی و کلبسیلا جدا شده از عفونت ادراری صورت گرفت، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های کلبسیلا مربوط به آنتی‌بیوتیک اریترومایسین ٪۹۰ سفتریاکسون ٪۷۶ سفوتاکسیم ٪۷۰ و سفتازیدیم ٪۶۶ گزارش شد که با یافته‌های این تحقیق که مقاومت برای اریترومایسین ٪۷۶/۷ و ٪۵۵ برای سفتریاکسون شباهت زیادی دارد (۳).

در مطالعه در سال ۲۰۰۸ توسط shao-wen و همکارانش در تایوان بر روی تاثیر آنتی‌بیوتیک و حضور ژن متیلاز ریبوزومی اریترومایسین ermB در گونه‌های استرپتوکوکوس صورت گرفت پس از تکثیر به وسیله PCR مشخص شد که ژن erm B در ۲۸ ایزوله (٪۲۰/۶) شناسایی شد که با فراوانی به دست آمده در این تحقیق که برابر با ٪۲۰/۸ برای ژن erm B می باشد یکسان می‌باشد (۱۲).

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۲ Yu Doa-Jin و همکاران بر روی بررسی اینکه آرد ذرت مقاومت به سیپروفلوکسین و اریترومایسین را در انتروکوکی القاء می‌کند صورت گرفت. حضور انتروکوک مقاوم به اریترومایسین ermB مثبت ۷۸/۶ بود و حضور انتروکوک حساس به اریترومایسین ermB مثبت صفر گزارش گردید که با نتایج به دست آمده در یافته‌های این مطالعه که برای ژن erm B در ایزوله‌های مثبت برابر با ٪۲۳/۹ برای پروتئوس، ٪۲۵ برای انتروباکتر، ٪۱۹/۶ برای کلبسیلا و برای ایزوله‌های منفی برابر با ٪۷۶/۱ برای پروتئوس، ٪۷۵ برای انتروباکتر، ٪۸۰/۴ برای کلبسیلا می باشد هم‌خوانی ندارد. عدم تطابق این دو مطالعه مربوط به منبع جداسازی و نوع باکتری است. نمونه هایی که YU و همکاران استفاده کردند انتروکوک و گرم مثبت است در حالیکه در این مطالعه روی باکتری‌های گرم منفی بررسی انجام شد. در مطالعه YU منبع جداسازی باکتری آرد ذرت بود در حالیکه در این تحقیق از نمونه بالینی باکتری جدا شد (۱۳).

در سال ۲۰۱۱ Marisa Haenni و همکاران طی مطالعه‌ای به بررسی مقاومت اریترومایسین ermB-mediated در استرپتوکوکوس یوبریس از bovin mastitis پرداختند. ژن مقاومت به اریترومایسین ermB در ۱۱۱ ایزوله استرپتوکوکوس یوبریس شناسایی شده است. اختلاف تقریبا دو برابری فراوانی ژن erm B که ٪۴۲/۳ در مقایسه با فراوانی این ژن در یافته‌های این مطالعه که برابر ٪۲۰/۸ می‌باشد احتمالا مربوط به منشا جداسازی نمونه‌ها می‌باشد (۷).

در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۹۳ توسط اصلانی مهر بر روی فراوانی ژن‌های erm A، erm C erm B، در انتروکوک-های مقاوم به اریترومایسین جدا شده از نمونه‌های بالینی بیماران بستری شده در بیمارستان‌های دانشگاهی شهر قزوین و تهران صورت گرفت مشخص شد که از بین ۱۶۵ ایزوله ۱۵۸ ایزوله دارای مقاومت و یا حساسیت حدواسط نسبت به اریترومایسین بوده‌اند. همچنین نتایج بدست آمده مشخص کرد که فراوانترین ژن عامل مقاومت ژن erm B می‌باشد که در مقایسه با نتایج تحقیق ما که فراوانی هر دو ژن مورد مطالعه (erm A و erm B) تقریبا با هم برابر است، هم‌خوانی ندارد (۱۴).

همچنین، در مطالعه ای که در پرتغال در سال ۲۰۱۳ توسط Tiago santos بر روی بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیک گونه‌های انتروکوکوس از پرندگان وحشی Azores صورت گرفت میزان مقاومت در باکتری‌های مورد مطالعه نسبت به تتراساکلین ۳۲/۶٪، سیپروفلاکسین ۱۹/۶٪، و اریترومایسین ۱۱/۶٪ گزارش شد. همچنین ژن‌های شناسایی شده شامل tet M و tet L و erm B بود که در همه ایزوله‌های مقاوم به تتراسایکلین و اریترومایسین حضور دارد. این اعداد و ارقام با یافته‌های ما در این تحقیق که مقاومت به اریترومایسین برابر با ۷۶/۷٪ و برای تتراسایکلین که برابر با ۵۰/۸٪ می باشد و همچنین فراوانی ژن erm B که فقط در ۲۰/۸٪ از نمونه ها حضور دارد، هم‌خوانی ندارد (۱۵).

با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق که فنوتیپ مقاومت آنتی‌بیوتیکی اریترومایسین در باکتری‌های مورد مطالعه حدود ۷۶/۷٪ در حالی که فراوانی ژن erm A حدود ۲۲/۵٪ و برای ژن erm B ۲۱/۶٪ است.بنابراین احتمال دارد ژن‌های دیگر کد کننده مقاومت به اریترومایسین و حتی عوامل دیگری مانند پمپ‌های efflux، عدم نفوذ پذیری غشاء و یا آنزیم‌های متابولیزه کننده در ایجاد فنوتیپ مقاومت دخالت داشته باشد.

یکی از دلایل پیدایش مقاومت در این موارد مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها می باشد و اگر این روند کنترل نشود و اطلاع رسانی نگردد، همچنان شاهد مقاومت‌های بیشتر خواهیم بود به طوری که پس از گذشت مدتی دیگر آنتی-بیوتیک ها اثر درمانی مثل قبل را نخواهند داشت.

تقدیر و تشکر

به این وسیله از زحمات کلیه پرسنل آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی پیشوا که ما را مورد لطف قرار داده و در انجام این پروژه همکاری نموده صمیمانه تقدیر و تشکر می نمایم.

منابع مورد استفاده

1. Hemati, Y., 2013. Pathogen Bacteria in human. Firok 1: 155-157.
2. Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Mprse, S. A., Mietzner, T. A., 2010. Medical microbiology. United States. 25th Edition, McGraw-Hill Companies, Chapter 15, pp. 219.
3. Ranjbaran, M., Zolfaghari, M., Japoni-Nejad, A., Amouzandeh-Nobaveh, A., Abtahi, H., Nejad, M., et al., 2013. Molecular investigation of integrons in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from urinary tract infections. J Mazandaran Univ Med Sci 23: 20-27.
4. Winter, J. F., 2005. Antibiotic resistance of bacteria in row and biologically treated sewage and in ground water. Microbiol Biotechnical 56: 69-106.
5. Horinouchi, S., Byeon, W. H., Weisblum. B., 1983. A complex attenuator regulates inducible resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramin type B antibiotics in *Streptococcus sanguis*. J Bacteriol 154: 1252-1262.
6. Birte V., Roger A. G., 1981. A plasmid-coded and site-directed mutation in Escherichia coli 23sRNA that confers resistance to erythromycin : implication for the mechanism of action of erythromycin. Biost Chem 69: 891-900.
7. Marisa H., et al., 2011. erm B-Mediated erythromycin resistance in *streptococcus uberis* from bovin Mastitis. Vet J 189: 356-358.
8. Wayne, P. A., 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Sixteenth Informational Supplement, M100-S16: Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI.
9. Jorgensen, H., Craig, W. A., et al., 1995. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Suggested groupings of U.S. FDA-approved antimicrobial agents that should be considered for routine testing and reporting on fastidious organisms by clinical microbiology laboratories, table 1A.
10. Langarizadeh, N., Ahangarzadeh Rezaee, M., Aghazadeh, M., Hassani, A., 2010. Comparison of *Klebsiella pneumoniae* with multiple drug-

resistance outbreak in children and adults who visit medical and training centers in Tabriz. Zanjan Biological Science Journal 12(4):1-17.

11. Saraj, M. S., Mowla, K., Ghorbani, A., Etemadi, A., Cheraghy, M., Mahmoodlo, A., 2005. Identification of outpatient urinary pathogens and antibiotic susceptibility pattern in Ahwaz, Iran 2002-2003. Yafteh 6 (4): 41-47.
12. Shao–Wen, H., et al., 2008. Antibiotic susceptibility and prevalence of erythromycin ribosomal Methylase genes, erm (B) in *Streptococcus spp*. Vet J 176: 197-204.
13. Yu Dao, J., et al., 2012. Cornmeal induce resistance to ciprofloxacin and erythromycin in *enterococci*. Chemosphere 89: 70-75.
14. Aslanimehr, M., Peymani, A., Darzi Ramandi, D., Naserpour-Farivar, T., 2014. Frequency of erm A, B, C genes in erythromycin resistant *Enterococci* isolated from clinical samples of inpatients of teaching hospitals in Qazvin & Tehran. Med J Mashhad Uni Med 57(4): 655-662.
15. Tiago, S., 2013. Dissemination of antibiotic resistant *Enterococcus* spp. And *Escherichia coli* from wild birds of Azores Archipelago. Mol Bio Genetic Biotech 11: 25-31.