

بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی و توزیع ژن های مقاوم به بتالاکتاماز در سویه های اشرشیا کلای مولد عفونت ادراری جدا شده از زنان و کودکان در شهرستان فارس

عباس دوستی^{۱*}، معصومه داریوشی^۲، رضوان برزا^۳، مریم پسند^۳

^۱مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ ^۲گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی

واحد جهرم، جهرم، ایران؛ ^۳گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۲۴

تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۲۴

چکیده:

زمینه و هدف: عفونت دستگاه ادراری از شایع ترین عفونت ها در زنان و کودکان است و در این میان باکتری اشرشیا کلای عامل اصلی عفونت به شمار می رود. مقاومت علیه آنتی بیوتیک های مورد استفاده، مشکل مهمی در پروسه درمانی می باشد. این مطالعه به منظور تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی و بررسی شیوع ژن های مقاوم نسبت به آنتی بیوتیک ها می باشد.

روش بررسی: این مطالعه توصیفی- مقطعی از تعداد ۱۲۰ بیمار زن و کودک مبتلا به عفونت ادراری مراجعه کننده به کلینیک شهرستان فارس در سال ۱۳۹۲ انجام شده است. نمونه های باکتری پس از رشد در محیط بلاد آگار و ائوزین متیلن بلو تعیین هویت و با استفاده از روش آنتی بیوگرام با روش Kirby-bauer و هاله عدم رشد مورد بررسی قرار گرفتند. سپس جهت تعیین شیوع ژن های مقاوم CTX، CTX-M، TEM، SHV-B از روش واکنش زنجیره ای پلیمرز استفاده گردید.

یافته ها: از تعداد ۱۲۰ نمونه مورد بررسی تعداد ۹۵ (۷۹٪) باکتری اشرشیا کلای تشخیص داده شد. بیشترین مقاومت در این باکتری به ترتیب به آمپی سیلین (۹۵/۷۸٪)، تری متوپریم- سولفامتوکسازول (۶۲/۱۰٪)، نیتروفورانتوئین (۴۲/۱۰٪) و بیش ترین حساسیت مربوط به آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین (۴۶/۳۱٪) و سفتریاکسون (۴۴/۲۱٪) گزارش گردید؛ همچنین نتایج PCR نشان داد CTX بیشترین و SHV-B کمترین شیوع در بین ژن های مقاوم را دارا می باشند.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد شیوع باکتری اشرشیا کلای تولید کننده ژن های مقاوم به بتالاکتاماز در حال افزایش است؛ همچنین در درمان اولیه عفونت های ادراری بهتر است از آنتی بیوتیک های آمپی سیلین، تری متوپریم- سولفامتوکسازول و نیتروفورانتوئین کمتر استفاده گردد.

واژه های کلیدی: عفونت های ادراری، اشرشیا کلای، CTX-M، مقاومت، واکنش زنجیره ای پلی مرز.

مقدمه:

به طوری که تقریباً بیش از نیمی از خانم ها حداقل یک بار عفونت ادراری را در طول عمر خود تجربه کرده اند (۲)؛ همچنین حداقل ۸٪ از دختران و ۲٪ از پسران در دوران کودکی دچار عفونت ادراری می شوند (۳). مطالعات انجام گرفته در جوامع مختلف حاکی از حضور باسیل های

عفونت دستگاه ادراری (Urinary Tract Infection) در اثر حضور باکتری های بیماریزا درون دستگاه ادراری می باشد که یکی از شایع ترین عفونت ها در بیماران سرپایی و بیمارستانی است (۱). فراوانی عفونت دستگاه ادراری (UTI) در زنان شایع تر از مردان می باشد.

(*Salmonella Enterica serovar Typhimurium*) و اشرشیا کلای یافت می شود، اما در سایر جنس های خانواده انتروباکتریاسه (*Enterobacteriaceae*) نیز مشاهده شده است (۱۰). ژن های *CTX-M* و *CTX* در اغلب جوامع جغرافیایی با شیوع بسیار بالایی گزارش شده است (۱۱). امروزه تولید بتا-لاکتامازهای وسیع الطیف تهدید بزرگی برای مصرف سفالوسپورین های وسیع الطیف می باشد. از طرف دیگر ژن های این آنزیم ها با ایجاد مقاومت های چندگانه به دیگر آنتی بیوتیک ها ارتباط دارند. به طوری که بروز و انتشار ژن های مختلف این آنزیم ها می تواند مقاومت های چندگانه ایجاد کند و استفاده از داروهای ضد میکروبی مفید و مناسب را کاهش دهد. برای کنترل انتشار بیشتر اینگونه مقاومت ها در سویه های انتروباکتریاسه و درمان سریع و مناسب عفونت هایی که مشکوک به ارگانسیم های مولد بتا-لاکتامازهای وسیع الطیف هستند و همچنین جهت کسب آگاهی بیشتر از میزان شیوع ژن های مختلف این گروه به همین منظور در مطالعه حاضر وجود ژن های مقاوم به بتا-لاکتاماز، *CTX-M*، *CTX*، *TEM* و *SHV-B* در ایزوله های اشرشیا کلای تولید کننده بتا-لاکتاماز وسیع الطیف در شهرستان فارسان مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی:

در یک مطالعه توصیفی-مقطعی، طی مدت ۶ ماه متوالی تعداد ۱۲۰ نمونه ادراری از زنان و کودکان مبتلا به عفونت ادراری از مراکز کلینیکی شهرستان فارسان جمع آوری گردید. سپس نمونه ها بر روی محیط کشت انتخابی اتوزین متیلن بلو (*Eosine Methylene Blue*) و بلاد آگار (*Blood Agar*) کشت داده شد و پلیت ها در دمای (۳۷ سانتی گراد) به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. از طریق انجام تست های بیوشیمیایی از قبیل *MR*، *VP*، *SIM* و *TSI* بر روی کلنی ها، اشرشیا کلای شناسایی گردید. کلنی های مربوط به ایزوله های مثبت اشرشیا کلای را در محیط تریپتس

گرم منفی به عنوان شایع ترین عوامل عفونت دستگاه ادراری به خصوص اشرشیا کلای اوروپاتوژنیک (*Uropathogenic Escherichia coli*) بوده که بیش از ۸۰٪ موارد عفونت ها را تشکیل می دهد (۲). استراتژی های مختلفی توسط باکتری ها به کار گرفته می شود تا از اثرات زیان بار آنتی بیوتیک ها مصون بمانند. یکی از مهم ترین این مکانیسم ها که در باکتری های گرم منفی علیه آنتی بیوتیک های بتالاکتاماز به کار گرفته می شود، تولید آنزیم های بتا-لاکتاماز (*Beta-lactamase enzymes*) می باشد (۴). این آنزیم ها، از طریق هیدرولیز حلقه بتالاکتام منجر به ایجاد مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک ها می شوند (۵). پیدایش آنتی بیوتیک های جدید از قبیل سفالوسپورین ها، آزترئونام ها و رواج استفاده از آن ها در درمان بیماری های عفونی باکتریال، منجر به بروز دسته جدیدی از این آنزیم ها به نام بتا-لاکتامازها شده است (۶). براساس عملکرد، آنزیم های بتا-لاکتاماز در ۴ گروه یا ۴ کلاس اصلی *A*، *B*، *C* و *D* طبقه بندی می شوند. بر اساس این طبقه بندی، آنزیم های وسیع الطیف در گروه *A* قرار گرفته و شامل مشتقات آنزیم های موتاسیون یافته *SHV* و *TEM* می باشند (۷، ۸). آنتی بیوتیک های بتالاکتام معمول ترین آنتی بیوتیک ها در درمان عفونت های باکتریایی محسوب می شوند. این آنتی بیوتیک ها به دلیل قدرت اثر، طیف گسترده، توانایی در کشتن و سمیت کم به فراوانی در پزشکی استفاده شده و از اهمیت بالایی برخوردار هستند. موتاسیون های نقطه ای در ژن رمز کننده آنزیم بتا-لاکتاماز باعث ایجاد فنوتیپ وسیع الطیف (*Extended-Spectrum β -lactamase*) می شود. اکثر آنزیم های بتا-لاکتاماز وسیع الطیف (*ESBL*) از آنزیم های *TEM* و *SHV* مشتق می شوند (۹). در سال های اخیر خانواده جدیدی از بتا-لاکتامازهای وسیع الطیف (*ESBL*) پلاسمیدی تحت عنوان *CTX-M* که ترجیحاً سفوتاسیم را هیدرولیز می نمایند، نیز شناسایی شده اند. این فرم از بتا-لاکتامازها، اگرچه عمدتاً در *سالمونلا سرووار تیفی* موریوم

۱/۵ میکرولیتر از هر پرایمر، ۱ میکرولیتر dNTP Mix، ۲ میکرولیتر $MgCl_2$ ، ۲/۵ میکرولیتر بافر (10X) PCR و یک واحد آنزیم DNA پلیمراز Taq به همراه ۱۳ میکرولیتر آب مقطر انجام گردید (۱۲). در این تست از سویه *اشرشیا کلای* ATCC ۲۵۹۲۲ به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. نتایج حاصل از PCR با استفاده از الکتروفورز در ژل ۱٪ و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید مورد بررسی قرار گرفت. برنامه دمایی دستگاه PCR جهت تکثیر ژن های مورد نظر نیز در جدول شماره ۱ نمایش داده شده است. اندازه باندها محصولات PCR برای ژن های مختلف به ترتیب $CTX= 850$ bp، $CTX-M= 260$ bp، $TEM= 296$ bp و $SHV-B= 449$ bp به دست آمد و به منظور تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS و $P \leq 0/05$ استفاده گردید (جدول شماره ۱).

سوی برات نگهداری کرده تا در مراحل بعدی از این ایزوله ها استفاده شود. به منظور تعیین حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی، بر اساس معیارهای آزمایشگاهی بالینی (CLSI) روش دیسک دیفیوژن (kriby-Baur) بر روی محیط مولر هینتون آگار، به کار گرفته شد. دیسک های مورد استفاده شامل: آمپی سیلین ($30 \mu g$)، آمیکاسین ($30 \mu g$)، نیتروفورانترین ($30 \mu g$)، سفتریاکسون ($30 \mu g$) و تری متوپریم-سولفامتاکسازول ($30 \mu g$) از شرکت Mast بودند. از روش جوشاندن جهت استخراج DNA کلنی های رشد یافته و تکنیک PCR همراه با پرایمرهای اختصاصی طراحی شده، به منظور تشخیص ژن های مقاوم *CTX*، *CTX-M*، *TEM* و *SHV-B* استفاده گردید. واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر DNA الگو،

جدول شماره ۱: برنامه دمایی دستگاه ترموسایکلر جهت تکثیر ژن های *CTX*، *CTX-M*، *TEM* و *SHV-B*

نام مرحله	دما	زمان (دقیقه)	تعداد چرخه (سیکل)
واسرشت اولیه	۹۵	۵	۱
واسرشت شدن	۹۴	۱	۳۲
اتصال پرایمرها	۶۰	۱	
گسترش	۷۲	۱	
گسترش نهایی	۷۲	۵	۱

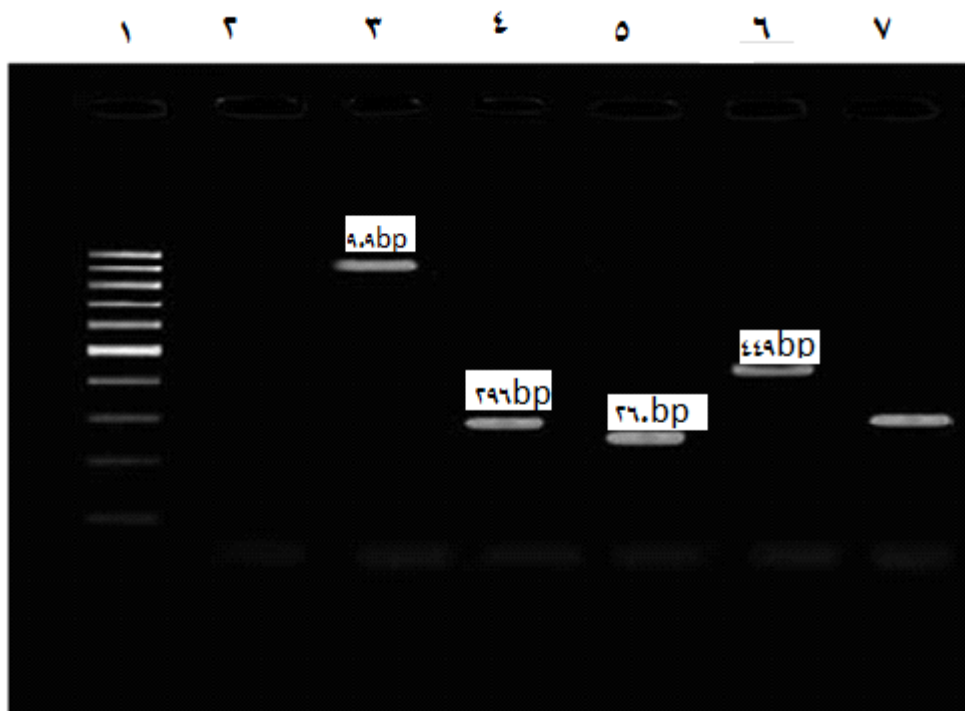
یافته ها:

می باشد و سپس ژن های *CTX*، *CTX-M* و *SHV-B* به ترتیب ۳۲ (۳۳/۶۸٪)، ۱۵ (۱۵/۷۸٪) و ۸ (۸/۴۲٪) شناسایی گردیدند که نشان دهنده دخالت موثر این ژن ها در مقاومت زایی باکتری *اشرشیا کلای* دارد. تصویر شماره ۱ اندازه باندهای ژن های فوق را در ژل الکتروفورز نشان می دهد. برای تمام موارد تست حساسیت از سویه *اشرشیا کلای* استاندارد با شماره ATCC ۲۵۹۲۲ تهیه شده از آزمایشگاه رفرانس استفاده شد. بیشترین مقاومت *UPEC* به ترتیب به آمپی سیلین (۹۵/۷۸٪)، تری متوپریم-

تعداد ۹۵ سویه *اشرشیا کلای* از زنان و کودکان دارای عفونت مراجعه کننده به مراکز کلینیکی جمع آوری گردید. از این مجموع ۶۷ سویه (۷۰/۵٪) از عفونت ها مربوط به زنان و ۲۸ سویه (۲۹/۴۷٪) مربوط به کودکان گزارش شد که نشان از شیوع بالای عفونت در زنان بود و نسبت به کودکان در سطح معنی داری قرار داشت. نتایج حاصل از بررسی های مولکولی نشان داد که از میان ۹۵ نمونه اداری دارای عفونت، ژن *TEM* به تعداد ۵۹ مورد (۶۲/۱۰٪) بیش ترین شیوع ژن های مقاوم را دارا

سفتریاکسون (۴۴/۲۱٪) بود. مقاومت به ۳ و بیش از ۳ آنتی بیوتیک در ۵۵/۷۸٪ (۵۳) از نمونه ها دیده شد؛ همچنین ۲۳ الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی وجود دارد که بیشترین الگو به صورت FM (نیتروفورانئوئین)، AM (آمیکاسین) است.

سولفامتوکسازول (۶۲/۱۰٪)، نیتروفورانئوئین (۴۲/۱۰٪)، سفتریاکسون (۳۷/۸۹٪)، سیپروفلوکساسین (۳۵/۷۸٪) و کمترین مقاومت مربوط به آمیکاسین (۳۳/۸۶٪) گزارش شد. بیشترین حساسیت مربوط به آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین (۴۶/۳۱٪) و



تصویر شماره ۱: ژل الکتروفورز محصولات PCR برای ژن های SHV-B و TEM، CTX-M، CTX

شماره ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمتاز؛ شماره ۲: کنترل منفی؛ شماره ۳: ژن CTX (باند ۱۸۵ جفت بازی)؛ شماره ۴: ژن TEM (باند ۲۹۶ جفت بازی)؛ شماره ۵: ژن CTX-M (باند ۲۶۰ جفت بازی)؛ شماره ۶: ژن SHV-B (باند ۴۴۹ جفت بازی) و شماره ۷: کنترل مثبت (*E. coli* ۲۵۹۲۲ATCC).

بحث:

منطقه مورد بررسی باشد (۱۳). اشرشیا کلای شایع ترین عامل عفونت مجاری ادراری بوده که ۸۰٪ از این عفونت ها را به خود اختصاص داده است. در نتیجه با توجه به شیوع نسبتاً بالای حضور باکتری اشرشیا کلای در نمونه های ادراری، بررسی عوامل ویروالانس آن ضروری می باشد. یکی از مشکلات عمده عفونت های میکروبی اشرشیا کلای، بروز مقاومت دارویی است (۱۴).

عفونت های مجاری ادراری در بین کودکان و زنان بزرگسال در تمام دوران زندگی وجود دارد و در زنان با شیوع متوسط سالانه از ۱۵٪ و ۱۰٪ به ترتیب در بین سنین ۱۵-۳۹ و ۴۰-۷۹ می باشد. بازگشت عفونت مجاری ادراری همواره مشکل مهمی برای زنان و پزشکانی که آنان را درمان می کنند، می باشد. درمان بایستی براساس آخرین دستاورد از الگوهای مقاومتی در

CTX-M بوده که فراوان ترین ایزوله جدا شده از آن ها *اشرشیا کلای* (۱۹/۷٪) تشخیص داده شد و از میان نمونه های ادراری بیشترین درصد عفونت را زنان (۶۵/۳۸٪) تشکیل داده اند. بر اساس نتایج آنتی بیوگرام بیشترین موارد مقاومت، به ترتیب مربوط به آنتی بیوتیک آمپی سیلین (۸۵/۷۱٪)، نالیدیسیک اسید (۷۸/۷۸٪) و سیپروفلاکسین (۴۶/۵۱٪) و از سوی دیگر، بیشترین حساسیت مربوط به آنتی بیوتیک های نیتروفورانئوئین بود (۹۲/۳۰٪)، آمیکاسین (۶۶/۶۷٪) و جنتامایسین (۶۲/۵۰٪) بود (۲۰، ۱۹)؛ همچنین در تهران طی سال های ۲۰۰۹ و ۲۰۱۰ نیز سویه های *اشرشیا کلای* واجد ژن *CTX-M* گزارش گردید (۲۱، ۲۰). در سایر مطالعات در کشورهای مختلف دنیا از جمله اسپانیا و پرتغال شیوع این ژن را به خوبی گزارش دادند (۲۳، ۲۲). در مطالعه ای دیگر که در لبنان در سال ۲۰۱۱ انجام شد، از شیوع بالای *CTX-M* خبر می دهد. در حالی که سایر ژن های *SHV* بسیار پایین بوده است (۲۴). همگی این گزارشات با مطالعه حاضر مشابه بوده و میزان شیوع این ژن ها را به خوبی در سطح بالایی نشان می دهد.

اخیرا انتشار ژن های مقاومت به بتالاکتامازها در اروپا از افزایش قابل توجهی نسبت به *TEM* و *SHV* نشان می دهد که با پژوهش حاضر در تضاد است که می توان بالا بودن شیوع این ژن ها نسبت به دو ژن اخیر در متفاوت بودن منطقه جغرافیایی دانست. در سویه های ایزوله شده از کشورهای مختلف میزان *ESBL* و همچنین در یک کشور از یک بیمارستان با بیمارستان دیگر متفاوت می باشد که این مسئله بستگی به سیستم کنترل عفونت و رژیم درمانی دارد (۲۵).

مطالعات دیگر در اروپا بر روی *انتروباکتریاسه* نیز مقاومت سویه های تولید کننده *TEM* و *SHV* و افزایش شیوع سویه های تولید کننده *CTX-M* را نشان می دهد (۲۴). محمد مهدی سلطان دلال در سال ۱۳۸۹ نشان داد که از میان ۲۰۰ ایزوله *اشرشیا کلای* (۶۴٪) ۱۲۸ ایزوله *ESBL* مثبت بودند که از این تعداد (۵۷/۸٪) ۷۴ حاوی ژن *TEM* بودند (۲۶)؛ همچنین در

نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین میزان عفونت بین سنین ۲۷-۳۹ سال و سپس در سنین ۵-۱ سال می باشد؛ همچنین باکتری *اشرشیا کلای* در منطقه مورد بررسی بیشترین مقاومت به آنتی بیوتیک آمپی سیلین (۹۵/۷۸٪) داشته و مقاومت نسبت به تری متوپریم-سولفامتوکسازول و نیتروفورانئوئین به ترتیب ۶۲/۱۰٪ و ۴۲/۱۰٪ بوده است.

در مطالعه ای که محمدی و همکاران بر روی نمونه های ادراری از بیماران بستری در بیمارستان صورت گرفت، نشان می دهد که شایع ترین عامل عفونت، *اشرشیا کلای* بوده و عفونت در زنان در مقایسه با مردان شایع تر می باشد. بیشترین مقاومت به آمپی سیلین و آموکسی سیلین و بیشترین حساسیت به آنتی بیوتیک های آمیکاسین، سیپروفلوکسازین و نیتروفورانئوئین گزارش گردید (۱۵). در مطالعه ای که در انگلستان انجام شد، مقاومت *اشرشیا کلای* در درجه اول نسبت به آمپی سیلین و به دنبال آن تری متوپریم و کوتریموکسازول بوده است (۱۶). مطالعات در مناطق دیگر از جمله آفریقا و آسیا نتایج متفاوتی را نشان داده است (۱۷). در آمریکای شمالی نیز بیشترین مقاومت نسبت به آمپی سیلین (۵۱-۵۵٪) و کمترین مقاومت نسبت به سیپروفلوکسازین و نیتروفورانئوئین گزارش گردید (۱۸). این گزارشات با مطالعات ما مشابه بود و می توان علت این مقاومت ها را در انتقال و حرکت پلاسمیدها در بین سویه های مختلف در شیوع بالای منطقه ای ژن های بتالاکتاماز نام برد. این ارگانیسم با اکتساب پلاسمیدهایی که تولید آنزیم های بتا-لاکتاماز وسیع الطیف (Extended Spectrum Beta Lactamases) می کنند، می تواند به آنتی بیوتیک های بتالاکتام مقاوم گردد. در مطالعه حاضر میزان شیوع ژن های *CTX* و *TEM*، *SHV-B* در نمونه های *اشرشیا کلای* به ترتیب ۱۵/۷۸٪، ۳۳/۶۸٪، ۶۲/۱۰٪ و ۸/۴۲٪ بود که از میان این ها ژن *TEM* بیشترین فراوانی را داشت. مطالعه ای که در سال ۲۰۱۰ و ۲۰۱۳ در شهرکرد بر روی نمونه های با عفونت مدفوعی و ادراری انجام شد، نشان داد که ۵۰/۵٪ *انتروباکتریاسه* ها دارای ژن

ایزوله های اشرشیا کلای سیروفلوکساسین و سفتریاکسون است که با در نظر گرفتن نتایج این مطالعه بهتر است در درمان اولیه از آنتی بیوتیک های آمپی سیلین، متوپریم- سولفامتوکسازول، نیتروفورانتوئین و آمیکاسین کمتر استفاده گردد.

تشکر و قدردانی:

این مقاله منتج از طرح تحقیقاتی در رشته کارشناسی ارشد زیست شناسی گرایش میکروبیولوژی با کد ۴۸۷۹ مصوب ۱۳۹۲/۰۲/۱۱ دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد می باشد. بدینوسیله از مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد شهرکرد و همچنین کلینیک شهرستان فارسان که همکاری های لازم در جهت جمع آوری نمونه به این مرکز نموده اند و سایر افرادی که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند، سپاسگزاری می نمایم.

مطالعه ای در تهران با روش PCR، ۶/۷۰٪ حاوی ژن *SHV*، ۸/۶۸٪ حاوی ژن *CTX-M* و ۱/۸۷٪ حاوی ژن *TEM* بودند (۲۷). مسجیدیان نشان داد که از میان ۱۴۸ سویه اشرشیا کلای، ۴/۸۶٪ ایزوله ها ژن *TEM* را در برداشتند که این میزان بسیار مشابه با نتایج حاصل از این تحقیق بود (۲۸).

نتیجه گیری:

مطالعات صورت گرفته نشان دهنده شیوع بالای ژن های بتالاکتامازی به خصوص ژن *TEM* در سویه های اشرشیا کلای در این منطقه می باشد. با توجه به الگوی مقاومت آنتی بیوتیک در مناطق مختلف و وجود نتایج متفاوت لذا ارزیابی مداوم باکتریولوژیکی و مولکولی جهت شناسایی و به کارگیری دیسک های آنتی بیوگرام جهت پیشگیری از مقاومت نسبت به داروهای جدید قابل اهمیت است. از طرفی موثرترین آنتی بیوتیک برای

منابع:

1. Coşkun Ö, Erdem H, Avcı A. Management of community-acquired acute bacterial cystitis in Turkey. Turk J Med Sci. 2011; 41(1): 149-57.
2. Dielubanza EJ, Schaeffer AJ. Urinary tract infections in women. Med Clin North Am. 2011; 95(1): 27-41.
3. White B. Diagnosis and treatment of urinary tract infection in children. Am Fam Physician. 2011; 83(4): 409-15.
4. Lagace-Wiens PR, Tailor F, Simner P, DeCorby M, Karlowsky JA, Walkty A, et al. Activity of NXL104 in combination with beta-lactams against genetically characterized Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates producing class A extended-spectrum beta-lactamases and class C beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55(5): 2434-7.
5. Perilli M, Segatore B, Mugnaioli C, Celenza G, Rossolini GM, Stefani S, et al. Persistence of TEM-52/TEM-92 and SHV-12 extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of 6. Enterobacteriaceae in Italy. Microb Drug Resist. 2011; 17(4): 521-4.
6. Giriyaapur RS, Nandihal NW, Krishna BV, Patil AB, Chandrasekhar MR. Comparison of disc diffusion methods for the detection of extended-spectrum Beta lactamase-producing enterobacteriaceae. J Lab Physicians. 2011; 3(1): 33-6.
7. Chiou J, Leung TY, Chen S. Molecular mechanisms of substrate recognition and specificity of New Delhi metallo-beta-lactamase. Antimicrob Agents Chemother. 2014; 58(9): 5372-8.
8. Ramazanzadeh R, Farhadifar F, Mansouri M. Etiology and antibiotic resistance pattern of community-acquired extended-spectrum beta-lactamas-producing gram negative isolates in Sanandaj. Res J Med Sci. 2010; 4: 243-7.

9. Behrooz A, Rahbar M, Vand Yousefi J. Frequency of extended spectrum beta-lactamase (ESBLs) producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from urine in an Iranian 1000-bed tertiary care hospital. *Afr J Microbiol Res.* 2010; 4: 881-4.
10. Peirano G, Pitout JD. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing CTX-M beta-lactamases: the worldwide emergence of clone ST131 O25:H4. *Int J Antimicrob Agents.* 2010; 35(4): 316-21.
11. Nakhaee Moghadam M, Naderifar S, Zolfaghari MR, Amel Jamehdar S, Hashemi M. Pattern of antibiotic susceptibility and detection of CTX-M-type extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) in urinary isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Mashhad. *Daneshvar.* 2012; 19(96): 29-36.
12. Mozaffari A, Tehrani F, Langeroodi T, Abdullahi A. A Survey of Drug Resistance Due to Extended Spectrum Beta Lactamases (ESBLs) in *Escherichia Coli* Strains Isolated from Hospitalized Patients. *Razi J Med Sci.* 2008; 15(59): 39-46.
13. Rizvi RM, Siddiqui KM. Recurrent urinary tract infections in females. *J Pak Med Assoc.* 2010; 60(1): 55.
14. Baharvand Ahmadi A, Goudarzi GH, Shakib P. Prevalence of ESBL enzymes in clinical isolates of *Escherichia coli* isolated from urine samples of selected hospitals of Khorramabad. The Sixth Congress of Clinical Microbiology and First International Congress of Clinical Microbiology; 2012.
15. Mohammadi M, Ghasemi E, Mokhayeri H, Pournia Y, Boroun H. Antimicrobial resistance patterns of *E. coli* detected from hospitalized urine culture samples. *Asian J Biol Sci.* 2010; 3(4): 195-201.
16. Meier S, Weber R, Zbinden R, Ruef C, Hasse B. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Gram-negative pathogens in community-acquired urinary tract infections: an increasing challenge for antimicrobial therapy. *Infection.* 2011; 39(4): 333-40.
17. Linhares I, Raposo T, Rodrigues A, Almeida A. Frequency and antimicrobial resistance patterns of bacteria implicated in community urinary tract infections: a ten-year surveillance study (2000-2009). *BMC Infect Dis.* 2013; 13: 19.
18. Hoban DJ, Lascols C, Nicolle LE, Badal R, Bouchillon S, Hackel M, et al. Antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae, including molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing species, in urinary tract isolates from hospitalized patients in North America and Europe: results from the SMART study 2009-2010. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012; 74(1): 62-7.
19. Torshizi R, Zamanzad B, Mokhtareyan K, Karimi A. Determination of CTX-M genes in enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamase using PCR method. *J Shahrekord Univ Med Sci.* 2011; 13(3): 9-17.
20. 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 Farokhshahr, Chaharmahal va Bakhtiari, Iran. *J Shahrekord Univ Med Sci.* 2013; 15(2): 9-15.
21. Soltan Dallal MM, Mobasser G, Mehrabadi JF, Eshraghian MR, Rastegar Lari A, Molla Aghamirzaei H, et al. Detection of CTX-M-1 beta lactamase gene in *Escherichia coli* isolated from clinical samples by Polymerase Chain Reaction (PCR). *Tehran Univ Med J.* 2011; 69(1): 16-21.
22. Canton R, Gonzalez-Alba JM, Galan JC. CTX-M Enzymes: Origin and Diffusion. *Front Microbiol.* 2012; 3: 110.

23. Novais A, Comas I, Baquero F, Canton R, Coque TM, Moya A, et al. Evolutionary trajectories of beta-lactamase CTX-M-1 cluster enzymes: predicting antibiotic resistance. *PLoS Pathog.* 2010; 6(1): e1000735.
24. Sana T, Rami K, Racha B, Fouad D, Marcel A, Hassan M, et al. Detection of genes TEM, OXA, SHV and CTX-M in 73 clinical isolates of *Escherichia coli* producers of extended spectrum Betalactamases and determination of their susceptibility to antibiotics. *Int Arab J Antimicrob Agents.* 2011; 1(1): 5.
25. Fankhauser C, Schrenzel J, Prendki V, Ris F, Schiffer E, Gastmeier P, Harbarth S. Prevalence of extended-spectrum betalactamase producing-Enterobacteriaceae (ESBL-E) carriage on admission at Geneva University Hospitals (HUG). *Antimicrob Resist Infect Control.* 2015; 4(1): 120.
26. Soltan Dallal MM, Molla-Aghamirzaei H, Fallah Mehrabadi J, Rastegar Lari A, Sabbaghi A, Eshraghian MR, et al. Molecular detection of TEM and AmpC(Dha, mox) broad spectrum β -lactamase in clinical isolates of *Escherichia coli*. *Tehran Univ Med J.* 2010; 68(6): 315-20.
27. Yazdi M, Nazemi A, Mir inargasi MS, Khataminejad MR, Sharifi S, Babai Kuchkaksaraei M. Prevalence of SHV/CTX-M/TEM (ESBL) Beta-lactamase Resistance Genes in *Escherichia Coli* Isolated from Urinary Tract Infections in Tehran, Iran. *Med Lab J.* 2010; 4(1).
28. Saeidi S, Boroujeni NA, Ahmadi H, Hassanshahian M. Antibacterial Activity of Some Plant Extracts Against Extended-Spectrum Beta-Lactamase Producing *Escherichia coli* Isolates. *Jundishapur J Microbiol.* 2015; 8(2): e15434.

Antibiotic resistance and distribution of beta-lactamase resistance genes in *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infection in women and children in Farsan town

Doosti A^{1*}, Daruoshi M², Borza R², Pasand M³

¹Biotechnology Research Center, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, I.R. Iran; ²Biology Dept., Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, I.R. Iran; ³Biology Dept., Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, I.R. Iran.

Received: 15/Jul/2014 Accepted: 15/Sep/2015

Background and aims: Urinary tract infection is one of the most common infections in women and children and *Escherichia coli* is considered as the main cause of infection. Resistance against antibiotics is an important problem used in the treatment. This study was aimed to determine the prevalence of antibiotic resistance and resistance genes to antibiotics.

Methods: A cross-sectional study of 120 cases of women and children with urinary tract infection was performed in 2013 in the clinics of Farsan. Samples of bacteria were grown on Blood Agar and Eosin Methylene Blue Agar (EMB), and then by using antibiogram Kirby-bauer method and the zone of growth inhibition were examined. The Polymerase Chain Reaction (PCR) was used to determine the prevalence of resistance genes *CTX*, *CTX-M*, *TEM* and *B-SHV*, respectively.

Results: Of 120 samples under study, 95 (79%) of cases were identified *E.coli*. The results of antimicrobial resistance test, the highest resistance to ampicillin (95.78%), trimethoprim-sulfamethoxazole (62.10%), nitrofurantoin (42.10%) and the most sensitive to ciprofloxacin (46.31%) and ceftriaxone (44.21%) were reported, respectively. Moreover, the PCR results showed *CTX* was the highest and *SHV-B* was the lowest prevalence between resistance genes.

Conclusion: The results showed the prevalence of *E.coli* producing beta-lactamase resistance genes are on the rise. It is also better to use less than ampicillin, trimethoprim-sulfamethoxazole and nitrofurantoin in the primary treatment of urinary tract infections.

Keywords: Urinary Tract Infections, *E.coli*, *CTX-M*, Resistance, PCR.

Cite this article as: Doosti A, Daruoshi M, Borza R, Pasand M. Antibiotic resistance and distribution of beta-lactamase resistance genes in *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infection in women and children in Farsan town. J Shahrekord Univ Med Sci. 2016; 17(6): 53-61.

***Corresponding author:**

Biotechnology Research Center, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, I.R. Iran, Tel: 00989133838830, E-mail: abbasdoosti@yahoo.com