Research Paper:
Characterization of Antibiotic Resistance Profile and Detection of *pap* and *bla*$_{CTX\text{-}Genes\ in\ Escherichia\ coli\ Isolates}$

Ahmad Mosadegh[1], Akram Astani[1], Hamid Naghizadeh[1], *Jalal Mardaneh[2]

1. Department of Microbiology, School of Medicine, Yazd Shaheed Sedughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
2. Department of Microbiology, School of Medicine, Infectious Diseases Research Center, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Mosadegh A, Astani A, Naghizadeh H, Mardaneh J. [Characterization of Antibiotic Resistance Profile and Detection of pap and bla$_{CTX\text{-}Genes\ in\ Escherichia\ coli\ Isolates}$ (Persian)]. Quarterly of "The Horizon of Medical Sciences". 2020; 26(4):448-467. https://doi.org/10.32598/hms.26.4.1402.3

https://doi.org/10.32598/hms.26.4.1402.3

CC BY NC

Received: 04 Feb 2019
Accepted: 14 Oct 2019
Available Online: 01 Oct 2020

Key words:
Escherichia coli, Virulence determinants, Antimicrobial resistance

ABSTRACT

Aims *Escherichia coli* is one of the most important causes of hospital-acquired and community-acquired infections in humans and can easily gain resistance to antibiotics consumed by humans and animals. The main objectives of this study were to assess antibiotic resistance outlines and detection of antibiotic resistance and virulence genes, including the *bla*$_{CTX\text{-}M}$ and *pap* among the *E. coli* isolates recovered from the urine of patients referred to Shaheed Madani Hospital (Bejestan, Northeast of Iran).

Methods & Materials This cross-sectional study was conducted from April 2016 to March 2018. A total of 100 non-duplicate isolates of *E. coli* were recovered from the urine of patients referred to Shaheed Madani Hospital (Bejestan, Northeast of Iran). Antimicrobial susceptibility test and extended-spectrum-beta-Lactamases (ESBLs) production were performed according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines. The polymerase chain reaction was carried out for the detection and distribution of the *pap* virulence gene and *bla*$_{CTX\text{-}M}$ antibiotic resistance gene.

Findings About 100 *E. coli* isolates were recovered from the urine sample of patients (21 male, and 79 female). Carbapenems were the most effective antibiotic against isolates. Four strains (4%) were resistant to colistin. Twenty-seven strains (27%) were ESBL-positive. Carbapenems were the most effective antibiotic against ESBL-positive strains. Also, 82% and 89% of isolates were *bla*$_{CTX\text{-}M}$ and *pap* gene positive, respectively.

Conclusion This study has shown that ESBL-positive strains with a high level of drug resistance and virulence factors are a potential risk for hospital wards. Colistin resistant isolates found in our study are quite alarming.

Version English

1. Introduction

The bacterial family of Enterobacteriaceae is the largest collection of Gram-negative, aerobic, and anaerobic bacilli, and without spores and negative oxidase, which is of great clinical importance. *Escherichia coli* is the most common genus in the family of Enterobacteriaceae. *E. coli* is a facultative anaerobe bacterium and part of the normal intestinal flora in humans and warm-blooded animals. Still, some species cause diseases such as pneumonia, gastroenteritis, genitourinary diseases, and septicemia [1, 2].

* ***Corresponding Author:***
Jalal Mardaneh, PhD.
Address: Department of Microbiology, School of Medicine, Infectious Diseases Research Center, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran.
Tel: +98 (918) 1892158
E-mail: jalalmardaneh@yahoo.com

www.SID.ir

Table 1. The sequence of primers used to perform PCR reaction

PCR Name	Primer Name	Sequence (5′-3′)	Length (base)	Annealing Temperature (°C)	Amplicon Size (bp)	References
pap	*pap*-F	GCAACAGCAACGCTGGTTGCATCAT	25	63	336	[12]
	pap-R	AGAGAGAGCCACTCTTATACGGACA	25			
bla_{CTX-M}	bla_{CTX-F}	TTTGCGATGTGCAGTACCAG	20	55	544	[12]
	bla_{CTX-R}	CGATATCGTTGGTGGTGCCA	20			

Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

E. coli isolates that cause urinary tract infections contain pathogenic factors that facilitate the colonization of the bacterium and invasion of host cells. Beta-lactamases are enzymes that disintegrate beta-lactam antibiotics. Overuse of new antibiotics to treat patients and selective pressure on bacteria may result in the production of new beta-lactamases by bacteria [4]. Many studies have focused on pathogens such as *Salmonella, Campylobacter*, and *E. coli*. However, transmissible genetic elements encoding antibiotic resistance found in commensal bacteria are very significant in transmitting resistance genes from non-pathogenic organisms to pathogens in the gastrointestinal tract and consequently develop antibiotic resistance [5, 6].

E. coli has various methods of acquiring and expanding antibiotic resistance that can be used as a portable repository of antibiotic resistance. The study of resistance methods in common *E. coli* strains increases commensal bacteria's importance in the development and spread of antibiotic resistance [7, 8].

The spread of genetic factors, especially plasmids, transposons, integrons, and gene cassettes, are responsible for the rapid spread of multiple antibiotic resistance genes and the exchange of resistance genes between pathogens and non-pathogens as well as between Gram-positive and Gram-negative bacteria [9, 10]. The accumulation of antibiotic resistance genes in a genetically engineered fragment may cause multiple resistance to antibiotics and heavy metals. Thus, there is a greater possibility of the natural selection of strains with various antibiotic resistance genes. Therefore, evaluating the molecular epidemiology of multidrug-resistant strains can lead to accurate prescribing of appropriate drugs and prevent the spread of resistant strains [11].

Infections with *E. coli* appear to be resistant to antimicrobial compounds with higher mortality, longer hospitalization, and higher treatment costs than infections caused by susceptible strains. Resistance to extended-spectrum cephalosporins significantly affects recovery outcomes in patients with *E. coli* bacteremia, especially in patients whose primary infection site is unknown and in patients with septic shock [9].

There are concerns about infections caused by *E. coli* species resistant to the third generation of cephalosporins and the spread of these strains. Thus, this study aimed to determine the antibiotic susceptibility profile of *E. coli* isolates extracted from urine during 10 years. We intended to distinguish phenotypic strains producing extended-spectrum-beta-Lactamases (ESBLs) enzymes, to identify multidrug-resistant strains, to find *pap* pathogenic genes and antibiotic resistance bla_{CTX-M} using the polymerase chain reaction method.

2. Materials and Methods

Study population and sampling method

In this cross-sectional study, during 8 months from August 2017 to March 2017, 100 strains of *E. coli* isolated from urine samples of patients referred to Ayatollah Madani Hospital in Bajestan were collected and included in the study. Gram-negative bacilli isolated from urine samples of patients confirmed to have urinary tract infections were collected in the Microbiology Laboratory of the Hospital and demographic information of patients.

Identification of isolates

After culturing urine samples in eosin methylene blue agar and MacConkey medium and incubating at 37°C for 24 hours, the bacterial growth and colony formation on the media were examined. Lactose-positive colonies were identified using differential biochemical experiments and tri-sugar iron agar media (in terms of glucose and lactose fermentation, hydrogen sulfide production, and gas production), SIM (in terms of indole production, hydrogen sulfide production, and motility), MR-VP (in terms of fermentation of mixed acids or butylene glycol), Simmon citrate (in terms of citrate use), and urea agar (in terms of the presence of the enzyme urease).

www.SID.ir

Table 2. Frequency distribution of *Escherichia coli* strains by sex

Gender	%
Female	79
Male	21
Total	100

Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

Determination of antimicrobial susceptibility profile of *E. coli* isolates

In this study, based on the protocol proposed by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2016) [11], and using the standard disk diffusion method, the response status of isolates to 17 antibiotics (Mast Co., UK) proposed for bacteria *E. coli* was examined.

The medicines included colistin (CO, 10 µg), chloramphenicol (CLR, 30 µg), trimethoprim- sulfamethoxazole (SXT, 1.25+23.75 µg), cefoxitin (CFO, 30 µg), ceftazidime (CAZ, 30 µg), cefotaxime (CTX, 30 µg), cefixime (CFM, 5 µg), ceftriaxone (CTR, 30 µg), cefepime (FEP, 30 µg), piperacillin-tazobactam (PI+TZ, 10+100 µg), (AMC, 10+20 µg), aztreonam (AZT, 30 µg), ciprofloxacin (CIPR, 5 µg), gentamicin (GEN, 10 µg), amikacin (AMI, 30 µg), imipenem (IMP, 10 µg), and meropenem (MRP, 10 µg).

In this method, 0.5 McFarland dilution was prepared from bacteria using normal saline. Then, the culture was performed on the Müller-Hinton agar medium. After incubation of the media at 35°C±2°C for 16-18 hours, the results were read. To evaluate the test's accuracy, we used the strains of *E. coli* ATCC 25922 as a control.

Identification of ESBL enzyme-producing strains by phenotypic Double-Disk Synergy Test (DDST) method

According to the CLSI 2016 protocol, the Double-Disk Synergy Test (DDST) method was used to identify the strains producing ESBL enzymes. In the first step, a dilution of 0.5 McFarland was prepared from the desired bacterium in 5 mL of normal saline. Then a checkered culture of dilution prepared on Müller-Hinton agar medium was performed. Cefotaxime and cefotaxime-clavulanic acid and ceftazidime and ceftazidime-clavulanic acid disks were then placed at a distance of 24 mm (center to center) on the cultured Müller-Hinton agar plate. After that, the incubation was performed at 35±2°C for 16-18 hours, and finally, the culture medium plate was examined for the formation of the growth inhibition zone. If the difference in the diameter of the bacterial growth aura around each disk alone was 5 mm or more, compared to its composite disk, it was considered to be an extended-spectrum beta-lactamase-producing strain.

Molecular PCR test

Approved *E. coli* strains were cultured on Müller-Hinton agar plate and then were incubated for 16-18 hours at 37°C. Next, the organism genome was extracted using the boiling method in which 1 mL of cultured bacteria (overnight in TSM medium) was centrifuged for 4 min at 1000 rpm. The supernatant liquid was poured out, and the sediment was dissolved in 1 mL of TE buffer (Tris 10 mM, EDTA 1 mM, pH 7.8) and centrifuged again. The sediment was then dissolved in 100 µL of TE buffer, and the microtube was placed at 94°C for 10 min, and then centrifuged at 13000 rmp for 10 min. The supernatant liquid was stored in encoded microtubes and used as a DNA sample in the PCR reaction. Before PCR, the DNA sample was analyzed by spectrophotometer and agarose gel and electrophoresis, and then the band was observed under UV light. The primers presented in Table 1 were used to perform the PCR reaction.

Each PCR reaction cycle includes the initial denaturation step at 94°C (5 min), denaturation at 94°C (30 s), annealing at 52°C (30 s), amplification at the specific temperature of each primer (Table 1), and a final extension at 72°C for 5 min. The PCR reaction was performed over 30 cycles. The PCR product was electrophoresed using 1% agarose on an electrophoresis device containing X TAE 0.5 buffer and analyzed using a transilluminator to search for the desired band. During this study, standard strains of *Klebsiella pneumonia* ATCC 7881 were used as a positive control with the $bla_{CTX\text{-}M}$ gene. The data of this study were statistically analyzed in SPSS V. 19.

3. Results

In this cross-sectional study, 100 *E. coli* isolates were isolated from urine samples of patients with suspected urinary tract infections referred to Ayatollah Madani Hospital in Bajestan. A total of 79 strains (79%) were from the urine

www.SID.ir

Table 3. Frequency distribution of resistance in all *Escherichia coli* isolates to the studied antibiotics (N=100)

Antibiotic	No (%)		
	Sensitive	Semi-sensitive	Resistant
Imipenem	100	0	0
Doripenem	100	0	0
Meropenem	100	0	0
Ertapenem	98	2	0
Nitrofurantoin	96	0	4
Cholesterol sulfate	96	0	4
Piperacillin/Tazobactam	91	6	3
Gentamicin	90	1	9
Cefoxitin	89	2	9
Amoxicillin	86	4	10
Ampicillin/Sulbactam	85	4	11
Chloramphenicol	83	1	16
Tobramycin	80	7	13
Ofloxacin	76	0	24
Ciprofloxacin	75	0	25
Ceftazidime	75	5	20
Ceftriaxone	70	2	28
Cefuroxime	67	5	28
Cefotaxime	67	2	31
Cefixime	64	1	35
Tetracycline	43	1	56
Trimethoprim/sulfamethoxazole	42	2	56
Cefazolin	37	24	39
Ampicillin	28	1	71

Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

samples of female patients and 21 strains (21%) from the urine samples of men patients (Table 2).

The results of antibiotic susceptibility testing showed that the highest resistance belonged to ampicillin (71%) and the lowest resistance belonged to imipenem, doripenem, and meropenem (0%) (Table 3). The frequency distribution of ESBL enzymes in *E. coli* isolates was investigated by the combined disk phenotypic method, which is presented by sex in Table 4. Of 100 *E. coli* isolates found in this study, 27% of isolates produced ESBLs.

The response of ESBL positive strains to the studied antibiotic classes is presented in Table 5. According to the

www.SID.ir

Table 4. Determination of frequency distribution of ESBLs positive in *Escherichia coli* isolates by combined disk phenotypic method

Gender	No. (%)
	ESBL Positive Strains
Female	17 (63)
Male	10 (37)
Total	27 (100)

Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

results, these strains showed the highest response to carbapenems. Analysis of the amplification of bla_{CTX-M} and *pap* genes on isolates showed that 82% of strains have the bla_{CTX-M} gene and 89% the *pap* gene.

4. Discussion

E. coli is one of the main causes of nosocomial infections, especially urinary tract infections. Misuse, overuse, abuse, and arbitrary use of antibiotics in medicine, veterinary medicine, and control of plant pest breeding have led to resistant strains [13]. This resistance sometimes occurs in several drugs called multidrug resistance [10]. Bacterial resistance to antibiotics has been identified by the World Health Organization (WHO) as one of the most critical threats to global health, accounting for a high percentage of annual hospital deaths [1].

Today, because of the excessive use of antibiotics in the country, bacteria have become resistant to drugs [2]. In this study, the isolates showed the highest resistance to ampicillin (71%), trimethoprim/sulfamethoxazole and tetracycline (56%), cefazolin (39%), cefixime (35%), cefotaxime (31%), cefuroxime and ceftriaxone (28%), ciprofloxacin (25%), ofloxacin (24%), ceftazidime (20%), chloramphenicol (16%), tobramycin (13%), ampicillin/sulbactam (11%), amoxicillin (10%), cefoxitin and gentamicin (9%), colistin sulfate and nitrofurantoin (4%), piperacillin/tazobactam (3%), and meropenem, ertapenem, doripenem, and imipenem (0%).

In Pour Rezaei et al. study (2016) in Sanandaj City, the rate of antibiotic resistance was reported as follows: trimethoprim/sulfamethoxazole, 78%; ampicillin, 72%; cefotaxime, 66%; ciprofloxacin, 44%; ceftazidime, 31%; gentamicin, 38%; amoxicillin sulbactam, 31%; cefoxitin, 10%; imipenem, 3%; and nitrofurantoin, 3% [3].

In Farhat et al. study in Pakistan (2009), the most cases of resistance to drugs were related to the following antibiotics: ampicillin (88.8%), ceftazidime (65.5%), cefotaxime (62%), ciprofloxacin (62.1%), ofloxacin (62%), meropenem (2.6%), and imipenem (1.6%) [4].

In Keikha et al. study (2017) in Zahedan City, out of a total of 87 isolates, the highest rates of antibiotic resistance were related to ceftazidime (44.8%), nitrofurantoin (26.1%), gentamicin (13.7%), and imipenem (4.5%) [5].

In Mortazavi et al. study (2014) in Yasouj City, Iran, of 123 *E. coli* isolates, 39% were generally resistant to cefotaxime, 17.88% to ceftazidime, and 76.22% to ciprofloxacin. There was no report of resistance to imipenem [6].

In Mansouri et al. study (2012) in Kerman City, Iran, the reported resistant *E. coli* isolates (among 338 cases) were as follows: ceftizoxime (12.7%), cefotaxime (31%), gentamicin (39.3%), ciprofloxacin (49.4%), cefoxitin (1.46%), ceftazidime (56.4%), amoxicillin (91.4%), and trimethoprim/sulfamethoxazole (49.3%) [7].

Based on the Mohebbi et al. study in Ilam City, Iran, the antibiotic resistance to ciprofloxacin, ceftazidime, ceftriaxone, trimethoprim/sulfamethoxazole, and gentamicin were reported to be 21%, 21%, 16%, 15%, and 12%, respectively [8].

Sultan-Dallal et al. (2010) in Tehran, after examining 200 isolates, reported the rate of resistance to antibiotics as follows: amoxicillin, 94.5%; trimethoprim/sulfamethoxazole, 80.5%; cefotaxime, 64%; ceftazidime, 55.5%; ciprofloxacin, 54.5%; gentamicin, 39%; and imipenem, 0% [10].

These differences can be due to geographical distance, health level, restrictions on the arbitrary use of antibiotics, and strict controls to reduce antibiotic resistance. Various studies showed that high resistance to commonly-used antibiotics and the pattern of resistance to antibiotics varies depending on the geographical area. This difference in the resistance can be attributed to differences in the infection control system, the number of samples, sample use from different sections, access to different antibiotics in geographical areas,

www.SID.ir

Table 5. Frequency distribution of resistance of *Escherichia coli* isolates to the studied antibiotics in 27 ESBL positive strains

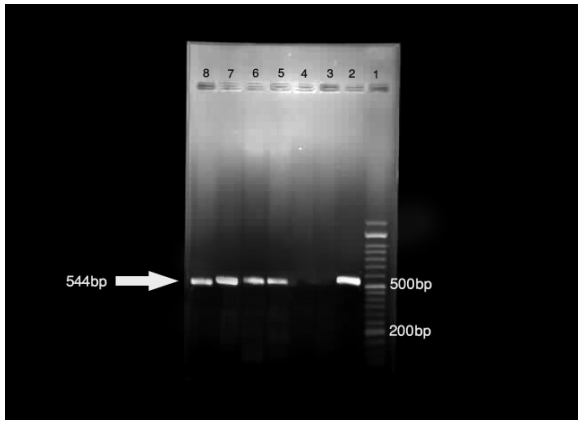
Antibiotics	No. (%)		
	Sensitive	Semi-sensitive	Resistant
Cefixime	0 (0)	1 (7.3)	26 (96.3)
Cefazolin	0 (0)	1 (7.3)	26 (96.3)
Ampicillin	0 (0)	1 (7.3)	26 (96.3)
Cefotaxime	1 (3.7)	0 (0)	26 (96.3)
Cefuroxime	1 (3.7)	1 (7.3)	25 (92.6)
Ceftriaxone	2 (7.4)	1 (7.3)	24 (88.9)
Tetracycline	8 (29.6)	0 (0)	19 (70.4)
Trimethoprim/sulfamethoxazole	8 (29.6)	1 (7.3)	18 (66.7)
Ceftazidime	7 (25.9)	2 (4.7)	18 (66.7)
Ofloxacin	14 (59.1)	0 (0)	13 (48.1)
Ciprofloxacin	14 (59.1)	0 (0)	13 (48.1)
Tobramycin	12 (59.3)	6 (4.7)	9 (33.3)
Ampicillin/Sulbactam	19 (70.4)	1 (7.3)	7 (25.9)
Gentamicin	21 (77.8)	0 (0)	6 (22.2)
Chloramphenicol	22 (81.5)	0 (0)	5 (18.5)
Cefoxitin	24 (88.9)	0 (0)	3 (11.1)
Nitrofurantoin	25 (92.6)	0 (0)	2 (7.4)
Amoxicillin	23 (88.2)	2 (7.4)	2 (7.4)
Piperacillin/Tazobactam	24 (88.9)	4 (14.8)	1 (3.7)
Ertapenem	25 (92.6)	2 (7.4)	0 (0)
Imipenem	27 (100)	0 (0)	0 (0)
Doripenem	27 (100)	0 (0)	0 (0)
Meropenem	27 (100)	0 (0)	0 (0)
Colistin sulfate	27 (100)	0 (0)	0 (0)

Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

or genetic differences in infection-producing clones. Administration of antibiotics are necessary to prevent bacterial infections, but overuse can make these germs more resistant to drugs and delay treatment. This condition can lead to widespread problems and infections with superbugs, including methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Also, in most urinary tract infections, experimental treatment is started before receiving laboratory urine culture; thus, antibiotic resistance may increase due to repeated and erroneous use of antibiotics in uropathogenic *E. coli*.

The results of antibiotic susceptibility tests have shown no significant difference between the prevalence of resistance and age and sex of people, i.e. antibiotic resistance has nothing to do with age or sex.

www.SID.ir



Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

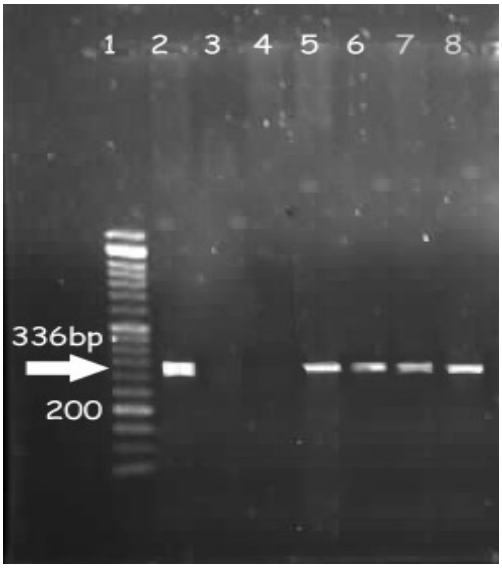
Figure 1. Investigation of *bla*$_{CTX-M}$ gene amplification product by agarose gel electrophoresis

Column 1: DNA ladder (50 bp), column 2 positive control, columns 3 and 4 negative control, columns 5, 6, 7, and 8 isolates with 544 bp *bla*$_{CTX-M}$ gene.

Another aim of this study was to determine the beta-lactamase genes that cause resistance to beta-lactam antibiotics. According to the results obtained from 100 samples, 27 samples were ESBLs in the initial screening. In the polymerase chain reaction test, out of 100 samples, 82 samples had the *bla*$_{CTX-M}$ gene, and out of 27 ESBLs-producing samples, 92.5% had the *bla*$_{CTX-M}$ gene (Figurea 1 & 2).

Alosuga et al. (2013) in Nigeria studied 54 *E. coli* samples. They found that out of 12 samples, 22.2% produced ESBLs [11]. Torshizi et al., in their study in Shahrekord City, Iran, in 2011, found that out of 193 *E. coli* isolates, 28% were ESBL positive [14]. Sultan Dalal et al. (2011), using the combined disk method and double synergism, found that out of 188 *E. coli* isolates, 56 (29.8%) were ESBL positive [10]. In a study conducted by Haghi et al. (2012) in Zanjan City, Iran, out of 200 *E. coli* isolates studied, 33% were phenotypically producing ESBLs [15]. In Seyed Javadi et al. study (2015) in Tehran on *E. coli* strains, 40.8% were producers of ESBLs, which differs from the present study. This discrepancy can be a result of the time of the research, the number of samples studied, and the place of the study [16].

The high percentage of isolates producing ESBLs may be due to the selective pressure created by the widespread use of antimicrobial drugs, genetic differences in infection-causing clones, the potential for patient-to-patient transmission, and the length of hospital stay. In the present study, the production of ESBLs was detected in most *E. coli* urinary isolates. It showed that resistance to different antibiotics varied according to treatment patterns in different regions. The emergence of ESBL-producing strains is on the rise



Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

Figure 2. Investigation of *pap* gene amplification product by agarose gel electrophoresis

Column 1: DNA ladder (50 bp), column 2: positive control, columns 3 and 4: negative control, columns 5, 6, 7, and 8: isolates with 336 bp *pap* gene.

in almost all parts of the world. Comparison of the results shows that the rate of ESBLs in strains isolated differs in different countries and even in one country in different hospitals. This condition depends on the infection control system and how patients are treated in that region.

The relatively high prevalence of these enzyme-producing organisms in different regions depends on the prevalence of these organisms in animals and human fecal carriers, which can be reservoirs of these organisms. So these organisms can come into contact with these reservoirs, or food chains are transmitted to other humans through animals [17].

In Masrour et al. study (2010) in Pakistan in 2010, the *bla*$_{CTX-M}$ gene was the most common among 571 *E. coli* samples, with 57.7% [18]. A 2014 study by Bora et al. in India on *E. coli* isolates found that 73.58% of isolates produced ESBLs. The most common gene encoding ESBLs was the *bla*$_{CTX-M}$ gene, which was present in 88.67% of strains [19].

In a 2015 study by AL-Subol et al. in Syria, out of 159 *E. coli* isolates, 100 were phenotypically producing ESBLs. Of which 54.33% were resistant to gentamicin, 66.14% to tetracycline, 44.4% to nalidixic acid, 52.76% to ciprofloxacin, and 72.44% to trimethoprim/sulfamethoxazole. Genotypically, the frequency of the *bla*$_{CTX-M}$ gene is about 76.14% [20].

www.SID.ir

In Seyed Javadi et al. study (2015) in Tehran on 100 strains of *Escherichia coli*, the prevalence of the bla_{CTX-M} gene was reported to be 74% [16]. In a 2017 study by Afsharnia et al., out of 99 *E. coli* isolates, the bla_{CTX-M} gene was reported in 79.8% of strains. The results are consistent with our study [21].

In the present study, a high percentage of *E. coli* urinary isolates were identified and showed that resistance to different antibiotics varies based on treatment patterns in different regions. In almost all parts of the world, the emergence of extended-spectrum β-lactamase-producing strains is on the rise. Accurate and rapid identification of antibiotic resistance and detection of beta-lactamase-producing strains can significantly help prevent treatment failure, prompt treatment, and save patients time and money. It can also help physicians choose the best treatment option to decrease the emergence of resistant strains, prevent the spread of resistance genes, and reduce patients' mortality.

The primary binding factor, called P fimbriae, is mainly associated with pyelonephritis and is encoded by *pap* genes. It is present in more than 70% of *E. coli* pyelonephritis. Another finding of this study was the abundance distribution of the *pap* pathogenic gene in 90 isolates.

Usein et al. (2001) study on the pathogenic genes of *E. coli* showed that 17% of the isolates had the *pap* pathogen gene [22]. In Mohajeri et al. (2012 study) in Kermanshah City, Iran, out of 205 *E. coli* isolates, the prevalence of *pap* gene was 44% [23].

Firoozeh et al. (2014) studied pathogenic genes in *E. coli* isolated from patients with cystitis and pyelonephritis. They found that the adhesin *pap* gene was the most common gene, and 16.7% of isolates have been identified [24]. In Laura et al. (2017) study in Mexico, out of 107 *E. coli* isolates, 27% of the samples contained the *pap* gene [25].

The prevalence of pathogenic genes varies depending on the phylogenetic group, host clinical conditions, and geographical area. Social, economic, health, and environmental differences between developed and developing countries are significantly effective in the prevalence of virulence factors [23].

Our study showed that a small number of *E. coli* virulence genes are responsible for urinary tract infections. Also, the characteristics of *E. coli* strains isolated from urinary tract infections contribute to our knowledge of the determinants of virulence genes that have played a role in developing the disease. Urine and physiopathological determination of these infections are needed to consider possible measures.

5. Conclusion

In this study, the isolates showed the highest resistance to ampicillin (71%) and the lowest resistance to imipenem, doripenem, and meropenem (100%). Based on the present study and similar results by other researchers in recent years, overuse of antibiotics has increased antibiotic resistance, and resistant genes are transmitted faster than ever between pathogenic bacteria. Therefore, by studying the prevalence of resistance and transmission of pathogenic genes in bacteria, it is possible to prevent the indiscriminate use of these antibiotics.

The frequency of ESBL-producing *E. coli* strains in this study indicates that ESBLs are a significant threat to the consumption of third-generation cephalosporins. Therefore, the use of molecular methods for further studies, and the identification of ESBL enzymes, and the detection of ESBL genes can be effective in preventing the spread of resistance.

We conclude that there are major differences between the prevalence of pathogenic genes and urinary tract infections in different countries. We also observed that the association between pathological disease and pathogenic genes might increase the spread and growth of the urinary tract infection. Identifying these genes as key controllers of the infection can help to manage these infections better.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This project has been approved by the Ethics Committee of Yazd University of Medical Sciences (Code: IR.ssu.medicine.rec.1396.215).

Funding

This research was supported by the Yazd University of Medical Sciences.

Authors' contributions

All authors equally contributed to preparing this article.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

All authors would like thank to Yazd University of Medical Sciences for financial support.

www.SID.ir

Archive of SID

This Page Intentionally Left Blank

www.SID.ir

بررسی فراوانی ژن بیماری‌زای *pap* و بتالاکتاماز وسیع‌الطیف bla_{CTX-M} در ایزوله‌های اشریشیاکلی جداشده از نمونه ادرار بیماران سرپایی

احمد مصدق[۱]، اکرم آستانی[۱]، حمید نقی‌زاده[۱]، *جلال مردانه[۲]

۱. گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
۲. گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۵ بهمن ۱۳۹۷
تاریخ پذیرش: ۲۲ مهر ۱۳۹۸
تاریخ انتشار: ۱۰ مهر ۱۳۹۹

کلیدواژه‌ها:
اشریشیاکلی،
شاخص‌های بیماری‌زای،
مقاومت ضدمیکروبی

چکیده

اهداف اشریشیاکلی یکی از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده عفونت‌های انسانی اکتسابی از بیمارستان و جامعه است و به‌آسانی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در انسان‌ها و حیوانات را به دست می‌آورد. هدف اصلی این مطالعه بررسی فراوانی ژن بیماری‌زای *pap* و بتالاکتاماز وسیع‌الطیف bla_{CTX-M} در ایزوله‌های اشریشیاکلی جداشده از نمونه ادرار بیماران سرپایی مراجعه‌کننده به بیمارستان آیت‌الله مدنی بجستان بود.

مواد و روش‌ها در این مطالعه مقطعی از مرداد ۱۳۹۶ تا اسفند ۱۳۹۶، صد ایزوله اشریشیاکلی از نمونه ادرار بیماران در بیمارستان آیت‌الله مدنی بجستان در شمال شرق ایران جداسازی شدند. تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی و بررسی تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف بر اساس دستورالعمل مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی انجام شد. از روش PCR برای شناسایی ژن بیماری‌زا *pap* و ژن مقاومت آنتی‌بیوتیکی bla_{CTX-M} استفاده شد.

یافته‌ها صد ایزوله اشریشیاکلی از نمونه ادرار بیماران (۲۱ مرد و ۷۹ زن) جدا شدند. کاربانم‌ها مؤثرترین آنتی‌بیوتیک علیه ایزوله‌ها بودند. چهار سویه (۴ درصد) به کلیستین مقاوم بودند. به طور کلی ۲۷ سویه (۲۷ درصد) از نظر تولید بتالاکتاماز وسیع‌الطیف مثبت بودند. کاربانم‌ها مؤثرترین آنتی‌بیوتیک علیه سویه‌های تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف بودند. به ترتیب ۸۲ درصد و ۸۹ درصد ایزوله‌ها از نظر ژن bla_{CTX-M} و *pap* مثبت بودند.

نتیجه‌گیری این مطالعه نشان داد که سویه‌های تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف و با سطح بالایی از مقاومت دارویی و فاکتورهای خطر بیماری‌زا، خطر بالقوه برای بخش‌های بیمارستانی است. ایزوله‌های مقاوم به کلیستین یافت‌شده در مطالعه زنگ خطری محسوب می‌شوند.

مقدمه

خانواده باکتریایی انتروباکتریاسه بزرگ‌ترین مجموعه باسیل‌های گرم منفی، هوازی و بی‌هوازی اختیاری و بدون اسپور و اکسیداز منفی هستند که اهمیت بالینی زیادی دارند. اشریشیاکلی شایع‌ترین و مهم‌ترین جنس در خانواده انتروباکتریاسه است که در پزشکی اهمیت دارد. اشریشیاکلی باکتری بی‌هوازی اختیاری و بخشی از فلور طبیعی روده‌ای در انسان و حیوانات خون‌گرم است، اما برخی از گونه‌ها سبب بیماری‌هایی مثل پنومونی، گاستروانتریت بیماری‌های ادراری تناسلی و سپتی سمی می‌شوند [۱، ۲].

ایزوله‌های اشریشیاکلی ایجادکننده عفونت ادراری دارای فاکتورهای بیماری‌زایی هستند که کلونیزاسیون این باکتری و تهاجم به سلول‌های میزبان را تسهیل می‌کند. فاکتورهای بیماری‌زای سطحی (چسبنده‌ها یا ادهزین‌ها) این باکتری جزء مهم‌ترین فاکتورهای بیماری‌زا هستند. شناسایی ژن‌های بیماری‌زا می‌تواند در بالا بردن دانش ما در خصوص پاتوژنز UTI و به حداقل رساندن عوارض بیماری نقش داشته باشد [۳].

بتالاکتامازها، آنزیم‌های تجزیه‌کننده آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام هستند. احتمالاً مصرف بیش از حد آنتی‌بیوتیک‌های جدید جهت درمان بیماران و فشار انتخابی بر باکتری، باعث تولید بتالاکتامازهای جدید توسط باکتری‌ها شده است [۴].

مقاومت آنتی‌بیوتیکی یک مسئله مهم در پزشکی است. به طور قابل ملاحظه‌ای بسیاری از مطالعات روی ارگانیسم‌های بیماری‌زایی مانند سالمونلا، کمپیلوباکتر و اشریشیاکلی متمرکز شده‌اند. در حالی که عناصر ژنتیکی قابل انتقال کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های کومنسال قابل ذکر است،

* نویسنده مسئول:
دکتر جلال مردانه
نشانی: گناباد، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، گروه میکروب‌شناسی.
تلفن: ۱۸۹۲۱۵۸ (۹۱۸) ۹۸+
پست الکترونیکی: jalalmardaneh@yahoo.com

www.SID.ir

انتقال ژن‌های مقاومت از ارگانیسم‌های غیرپاتوژن به پاتوژن‌ها در مجرای گوارشی در گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی بسیار مهم است [۵، ۶]. اشریشیاکلی روش‌های متنوعی از اکتساب و گسترش شاخص‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی را دارد که می‌تواند به عنوان مخزن قابل انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی باشد. مطالعه شاخص‌های مقاومت در سویه‌های رایج اشریشیاکلی، اهمیت باکتری‌های کومنسال در توسعه و انتشار مقاومت آنتی‌بیوتیکی را افزایش می‌دهد [۷، ۸].

گسترش عوامل ژنتیکی به‌ویژه پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و اینتگرون‌ها یا کاست‌های ژنی، مسئول گسترش سریع ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه و تبادل ژن‌های مقاومت بین پاتوژن‌ها و غیر پاتوژن‌ها و بین باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی است [۹، ۱۰]. تجمع ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در یک قطعه متحرک ژنتیکی، می‌تواند موجب مقاومت چندگانه به آنتی‌بیوتیک‌ها و فلزات سنگین شود. به همین دلیل امکان انتخاب طبیعی سویه‌های دارای ژن‌های چندگانه مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها بیشتر وجود دارد. از این رو ارزیابی اپیدمیولوژی مولکولی سویه‌های مقاوم به چند دارو می‌تواند موجب دقت در تجویز داروهای مناسب و جلوگیری از شیوع سویه‌های مقاوم شود [۱۱].

به نظر می‌رسد عفونت‌های ناشی از اشریشیاکلی مقاوم به ترکیبات ضدمیکروبی، با مرگ‌ومیر بالاتر، بستری شدن طولانی‌تر در بیمارستان، هزینه‌های درمانی بالاتر در مقایسه با عفونت ناشی از سویه‌های حساس، همراه خواهد بود. مقاومت به سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف به طور قابل توجهی نتیجه بهبودی را در بیماران مبتلا به باکتریمی ناشی از اشریشیاکلی به‌ویژه در بیمارانی که جایگاه اولیه عفونت مشخص نیست و در بیماران مبتلا به شوک سپتیک تحت تأثیر قرار می‌دهد [۹]. نگرانی از عفونت‌های ناشی از گونه‌های اشریشیاکلی مقاوم به نسل سوم سفالوسپورین‌ها و گسترش این سویه‌ها وجود دارد. بدین منظور هدف این مطالعه تعیین پروفایل حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های اشریشیاکلی جداشده از ادرار در طی ده سال، شناسایی فنوتایپی سویه‌های تولیدکننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف، شناسایی سویه‌های مقاوم به چند دارو، شناسایی ژن بیماری‌زای *pap* و مقاومت آنتی‌بیوتیکی bla_{CTX-M} با استفاده از روش PCR بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقطعی در طی هشت ماه از مرداد سال ۱۳۹۶ تا اسفند ۱۳۹۶، صد سویه اشریشیاکلی جداشده از نمونه ادرار بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان آیت‌الله مدنی بجستان جمع‌آوری و وارد مطالعه شدند. باسیل‌های گرم منفی جداشده از نمونه ادرار بیمارانِ تأیید شده از نظر ابتلا به عفونت ادراری، در آزمایشگاه میکروب‌شناسی بیمارستان آیت‌الله مدنی بجستان به همراه اطلاعات جمعیت‌شناختی بیمارانی که سویه‌ها از آن‌ها جداسازی شدند، جمع آوری شدند.

پس از کشت نمونه ادرار در محیط ائوزین متیلن بلو آگار و مک‌کانکی و انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، نمونه‌ها از نظر رشد باکتری و تشکیل کلونی روی محیط‌ها بررسی شدند. پرگنه‌های لاکتوز مثبت، با استفاده از آزمایشات بیوشیمیایی افتراقی و محیط‌های آگار آهن سه قندی (از نظر تخمیر گلوکز و لاکتوز، تولید سولفیدهیدروژن و تولید گاز)، SIM (از نظر تولید اندول از تریپتوفان، تولید سولفید هیدروژن و حرکت)، MR-VP (از نظر تخمیر اسیدهای مخلوط و یا بوتیلن گلیکول)، سیمون سیترات (از نظر استفاده از سیترات) و اوره آگار (از نظر وجود آنزیم اوره‌آز) تعیین هویت شدند.

تعیین پروفایل حساسیت ضدمیکروبی ایزوله‌های اشریشیاکلی در این تحقیق، بر اساس پروتکل پیشنهادی سازمان استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی بود [۱۱]. با استفاده از روش استاندارد دیسک دیفیوژن وضعیت پاسخ ایزوله‌ها به هفده آنتی‌بیوتیک پیشنهادی توسط CLSI (Mast Co., UK) برای باکتری اشریشیاکلی بررسی شد. این داروها شامل کلیستین (CO، ۱۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (CLR، ۳۰ میکروگرم)، تری متوپریم سولفامتوکسازول (SXT، ۱/۲۵+۲۳/۷۵ میکروگرم)، سفوکسیتین (CFO، ۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (CAZ، ۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (CTX، ۳۰ میکروگرم)، سفکسیم (CFM، ۵ میکروگرم)، سفتریاکسون (CTR، ۳۰ میکروگرم)، سفپیم (FEP، ۳۰ میکروگرم)، پیپراسیلین تازوباکتام (PI+TZ، ۱۰۰+۱۰ میکروگرم)، آموکسی‌سیلین کلاوولانیک اسید (AMC، ۲۰+۱۰ میکروگرم)، آزترونام (AZT، ۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (CIPR، ۵ میکروگرم)، جنتامایسین (GEN، ۱۰ میکروگرم)، آمیکاسین (AMI، ۳۰ میکروگرم)، ایمی‌پنم (IMP، ۱۰ میکروگرم) و مروپنم (MRP، ۱۰ میکروگرم) بودند. در این روش با استفاده از نرمال سالین، رقت ۰/۵ مک‌فارلند از باکتری تهیه شد و کشت روی محیط مولرهینتون آگار انجام شد و پس از انکوباسیون محیط‌ها در دمای ۲ ± ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت، نتایج خوانده شدند. جهت ارزیابی صحت تست، از سویه *Escherichia coli* ATCC 25922 بع عنوان کنترل استفاد شد.

شناسایی سویه‌های تولیدکننده آنزیم‌های ESBL به کمک روش فنوتیپی Double-Disc Synergy Test (DDST) انجام شد. بر اساس پروتکل CLSI 2016 برای شناسایی سویه‌های تولیدکننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف از روش DDST استفاده شد؛ در مرحله اول رقت ۰/۵ مک فارلند از باکتری موردنظر در ۵ میلی‌لیتر نرمال سالین تهیه شد. سپس کشت شطرنجی از رقت تهیه‌شده روی محیط مولر هینتون آگار انجام شد. آن‌گاه دیسک‌های سفوتاکسیم و سفوتاکسیم کلاوولانیک اسید و سفتازیدیم و سفتازیدیم کلاوولانیک اسید با فاصله ۲۴

www.SID.ir

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام واکنش PCR

PCR	نام پرایمر	توالی (′۵-′۳)	طول (پایه)	دمای بازپخت (CO)	اندازه آمپلیکون (bp)	منبع
pap	*pap*-F	GCAACAGCAACGCTGGTTGCATCAT	۲۵	۶۳	۳۳۶	[۱۲]
	pap-R	AGAGAGAGCCACTCTTATACGGACA	۲۵			
bla_{CTX-M}	bla_{CTX-F}	TTTGCGATGTGCAGTACCAG	۲۰	۵۵	۵۴۴	[۱۲]
	bla_{CTX-R}	CGATATCGTTGGTGGTGCCA	۲۰			

افق دانش

جدول ۲. توزیع فراوانی سویه‌های اشریشیاکلی بر حسب جنس

جنس	درصد
زن	۷۹
مرد	۲۱
جمع	۱۰۰

افق دانش

میلی‌متر (مرکز تا مرکز) روی پلیت مولر هینتون آگار کشت داده‌شده، قرار داده شدند. پس از آن انکوباسیون در دمای ۳۵±۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت صورت گرفت و در پایان، پلیت محیط کشت از نظر تشکیل هاله عدم رشد مورد بررسی قرار گرفت. در صورتی که تفاوت قطر هاله عدم رشد باکتری اطراف هر دیسک به‌تنهایی در مقایسه با دیسک ترکیبی خود ۵ میلی‌متر یا بیشتر می‌بود، به عنوان سویه تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در نظر گرفته می‌شد.

آزمایش ملکولی PCR

سویه‌های اشریشیاکلی مورد تأیید قرار گرفته، بر روی محیط مولرهینتون آگار کشت داده شدند و پلیت‌ها به مدت ۱۶-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس با استفاده از روش جوشاندن، ژنوم ارگانیسم استخراج شد. در روش جوشاندن ۱ میلی‌لیتر از کشت باکتری رشدکرده، به صورت شبانه در محیط TSB در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه در دور ۱۰۰۰ rmp سانتریفیوژ شد. مایع رویی بیرون ریخته شد و رسوب حاصل در ۱ میلی‌لیتر بافر TE (۱۰ میلی مولار، Tris EDTA یک میلی‌مولار، pH برابر ۷/۸) حل و مجدداً سانتریفیوژ شد و سپس رسوب حاصل در ۱۰۰ میکرولیتر بافر TE حل شد و میکروتیوب در ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. آن‌گاه ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ rmpسانتریفیوژ شد. مایع رویی در میکروتیوب‌های کدگذاری‌شده ذخیره و به عنوان نمونه DNA در واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفت. قبل از انجام PCR نمونه DNA استخراج‌شده به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر و نیز بردن بر روی ژل آگارز و انجام الکتروفورز و سپس مشاهده باند زیر نور UV، مورد ارزیابی قرار گرفت. از پرایمرهای ارائه‌شده در جدول شماره ۱ جهت انجام واکنش PCR استفاده شد.

هر سیکل واکنش PCR شامل مرحله دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد (۵ دقیقه)، دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد (۳۰ ثانیه)، آنیلینگ در دمای ۵۲ (۳۰ ثانیه) و تکثیر در دمای اختصاصی هر پرایمر (جدول شماره ۱) بود و یک مرحله پس از تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه اعمال شد. واکنش PCR در ۳۰ سیکل انجام شد. محصول PCR با استفاده از آگارز ۱ درصد روی دستگاه الکتروفورز حاوی بافر ۰/۵X TAE الکتروفورز شد و با استفاده از دستگاه ترانسلومیناتور به منظور جست‌وجو، باند مورد نظر مورد آنالیز قرار گرفت. در طی این مطالعه از سویه‌های استاندارد Klebsiella pneumoniae ATCC 7881 به عنوان کنترل مثبت دارای ژن bla_{CTX-M} استفاده شد. داده‌های این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

در این مطالعه مقطعی صد جدایه اشریشیاکلی از نمونه‌های ادرار بیماران مشکوک به عفونت ادراری در بیمارستان آیت‌الله مدنی بجستان جدا شدند. ۷۹ سویه (۷۹ درصد) از نمونه ادرار بیماران خانم‌ها و ۲۱ سویه (۲۱ درصد) از نمونه ادرار مردها بود (جدول شماره ۲).

نتایج تست تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که

www.SID.ir

جدول ۳. توزیع فراوانی مقاومت در کلیه ایزوله‌های اشریشیاکلی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی (n=۱۰۰)

آنتی‌بیوتیک	درصد		
	حساس تعداد	نیمه‌حساس تعداد	مقاوم تعداد
ایمی‌پنم	۱۰۰	۰	۰
دروپنم	۱۰۰	۰	۰
مروپنم	۱۰۰	۰	۰
ارتاپنم	۹۸	۲	۰
نیتروفورانتوئین	۹۶	۰	۴
کلستین سولفات	۹۶	۰	۴
پیپراسیلین / تازوباکتام	۹۱	۶	۳
جنتامایسین	۹۰	۱	۹
سفوکسیتین	۸۹	۲	۹
آموکسی سیلین	۸۶	۴	۱۰
آمپی‌سیلین / سولباکتام	۸۵	۴	۱۱
کلرامنفنیکل	۸۳	۱	۱۶
توبرامایسین	۸۰	۷	۱۳
افلوکساسین	۷۶	۰	۲۴
سیپروفلوکساسین	۷۵	۰	۲۵
سفتازیدیم	۷۵	۵	۲۰
سفتریاکسون	۷۰	۲	۲۸
سفورکسیم	۶۷	۵	۲۸
سفوتاکسیم	۶۷	۲	۳۱
سفکسیم	۶۴	۱	۳۵
تتراسایکلین	۴۳	۱	۵۶
تری متوپریم / سوالفامتوکسازول	۴۲	۲	۵۶
سفازولین	۳۷	۲۴	۳۹
آمپی‌سیلین	۲۸	۱	۷۱

افق دانش

بیشترین میزان مقاومت، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۷۱ درصد) و کمترین میزان مقاومت نسبت به ایمی‌پنم، دروی‌پنم و مروپنم (صفر درصد) وجود دارد (جدول شماره ۳).

توزیع فراوانی آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در جدایه‌های اشریشیاکلی به روش فنوتیپی دیسک ترکیبی مورد بررسی قرار گرفت که به تفکیک جنسیت در جدول شماره ۴ آمده است. از کل صد جدایه اشریشیاکلی جداشده در این تحقیق ۲۷ درصد جدایه‌ها مولد ESBLs بودند.

پاسخ سویه‌های $ESBLs^{+}$ به کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی مورد بررسی در جدول شماره ۵ ارائه شده است. نتایج نشان داد این سویه‌ها بیشترین پاسخ را کاربا‌پنم‌ها نشان می‌دهند.

آنالیز نتایج حاصل از تکثیر ژن‌های bla^{CTX-M} و *pap* روی

www.SID.ir

جدول ۴. تعیین توزیع فراوانی ESBLs+ در جدایه‌های اشریشیاکلی به روش فنوتیپی دیسک ترکیبی

جنس	تعداد سویه‌های ESBL + (درصد)
زن	۱۷ (۶۳)
مرد	۱۰ (۳۷)
مجموع	۲۷ (۱۰۰)

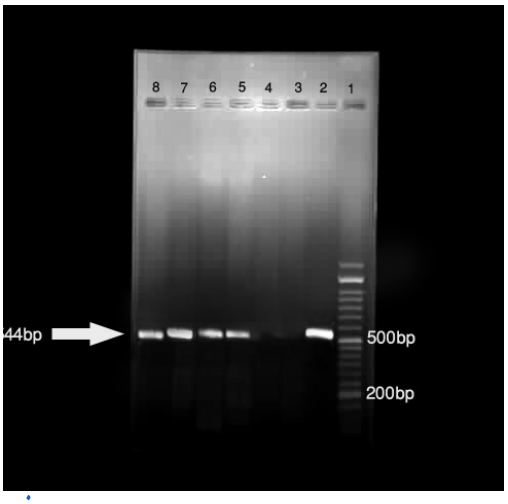
افق دانش

جدول ۵. توزیع فراوانی مقاومت ایزوله‌های اشریشیاکلی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی در ۲۷ سویه ESBLs+

آنتی‌بیوتیک	تعداد (درصد)		
	حساس تعداد	نیمه‌حساس تعداد	مقاوم تعداد
سفکسیم	۰ (۰)	۱ (۳/۷)	۲۶ (۹۶/۳)
سفازولین	۰ (۰)	۱ (۳/۷)	۲۶ (۹۶/۳)
آمپی سیلین	۰ (۰)	۱ (۳/۷)	۲۶ (۹۶/۳)
سفوتاکسیم	۱ (۳/۷)	۰ (۰)	۲۶ (۹۶/۳)
سفورکسیم	۱ (۳/۷)	۱ (۳/۷)	۲۵ (۹۲/۶)
سفتریاکسون	۲ (۷/۴)	۱ (۳/۷)	۲۴ (۸۸/۹)
تتراسایکلین	۸ (۲۹/۶)	۰ (۰)	۱۹ (۷۰/۴)
تری متوپریم / سولفامتوکسازول	۸ (۲۹/۶)	۱ (۳/۷)	۱۸ (۶۶/۷)
سفتازیدیم	۷ (۲۵/۹)	۲ (۷/۴)	۱۸ (۶۶/۷)
افلوکساسین	۱۴ (۵۹/۱)	۰ (۰)	۱۳ (۴۸/۱)
سیپروفلوکساسین	۱۴ (۵۹/۱)	۰ (۰)	۱۳ (۴۸/۱)
توبرامایسین	۱۲ (۵۹/۳)	۶ (۷/۴)	۹ (۳۳/۳)
آمپی سیلین / سولباکتام	۱۹ (۷۰/۴)	۱ (۳/۷)	۷ (۲۵/۹)
جنتامایسین	۲۱ (۷۷/۸)	۰ (۰)	۶ (۲۲/۲)
کلرامنفنیکل	۲۲ (۸۱/۵)	۰ (۰)	۵ (۱۸/۵)
سفوکسیتین	۲۴ (۸۸/۹)	۰ (۰)	۳ (۱۱/۱)
نیتروفورانتئین	۲۵ (۹۲/۶)	۰ (۰)	۲ (۷/۴)
آموکسی سیلین	۲۳ (۸۸/۲)	۲ (۷/۴)	۲ (۷/۴)
پیپراسیلین / تازوباکتام	۲۴ (۸۱/۵)	۴ (۱۴/۸)	۱ (۳/۷)
ارتاپنم	۲۵ (۹۲/۶)	۲ (۷/۴)	۰ (۰)
ایمی‌پنم	۲۷ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
دروپنم	۲۷ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
مروپنم	۲۷ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
کلیستین سولفات	۲۷ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)

افق دانش

www.SID.ir



افق دانش

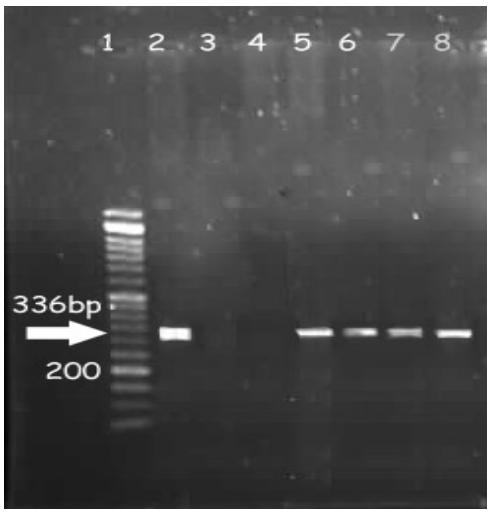
تصویر ۱. بررسی محصول تکثیر ژن bla_{CTX-M} توسط آگارز ژل الکتروفورز. ستون ۱: DNA ladder (۵۰bp)، ستون ۲: کنترل مثبت، ستون ۳ و ۴: کنترل منفی، ستون ۵، ۶، ۷ و ۸: جدایه‌های دارای ژن bla_{CTX-M} bp۵۴۴

ایزوله‌ها نشان داد ۸۲ درصد سویه‌ها دارای ژن bla^{CTX-M} و ۸۹ درصد دارای ژن *pap* هستند (تصاویر شماره ۱ و ۲).

بحث

اشریشیاکلی یکی از عوامل اصلی در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی به‌ویژه عفونت‌های مجاری ادراری است؛ استفاده نادرست و نابجا، زیاد و بیش از حد، سوءاستفاده و استفاده خودسرانه از آنتی‌بیوتیک‌ها در پزشکی، دامپزشکی و کنترل اصلاحات آفات گیاهی، سبب بروز سویه‌های مقاوم شده است [۱۳]. این مقاومت در برخی مواقع به چندین دارو بروز می‌کند که مقاومت چنددارویی نامیده می‌شود [۱۰]. مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها جزء مهم‌ترین خطرات تهدیدکننده بهداشت جهانی توسط سازمان بهداشت جهانی معرفی شده است که درصد فراوانی از مرگ‌ومیرهای سالانه بیمارستانی را به خود اختصاص می‌دهد [۱]. امروزه با استفاده بی‌رویه آنتی‌بیوتیک در کشور ما باکتری‌ها مکانیسم‌های مقاومت را دریافت کرده‌اند و نسبت به داروها مقاومت نشان می‌دهند [۲].

در مطالعه حاضر ایزوله‌ها بیشترین مقاومت را به ترتیب نسبت به آمپی‌سیلین (۷۱ درصد)، تری متوپریم / سوالفامتوکسازول و تتراسایکلین (۵۶ درصد)، سفازولین (۳۹ درصد)، سفکسیم (۳۵ درصد)، سفوتاکسیم (۳۱ درصد)، سفورکسیم و سفتریاکسون (۲۸ درصد)، سیپروفلوکساسین (۲۵ درصد) ، افلوکساسین (۲۴ درصد) ، سفتازیدیم (۲۰ درصد)، کلرامنفنیکل (۱۶ درصد)، توبرامایسین (۱۳ درصد)، آمپی‌سیلین / سولباکتام (۱۱ درصد)، آموکسی‌سیلین (۱۰ درصد)، سفوکسیتین و جنتامایسین (۹ درصد)، کلستین سولفات، نیتروفورانتئین (۴ درصد)، پیپراسیلین /تازوباکتام (۳ درصد) و مروپنم، ارتاپنم، دروپنم و ایمی‌پنم (صفر



افق دانش

تصویر ۲. بررسی محصول تکثیر ژن *pap* توسط آگارز ژل الکتروفورز. ستون ۱: DNA ladder (۵۰pb)، ستون ۲: کنترل مثبت، ستون ۳ و ۴: کنترل منفی، ستون ۵، ۶، ۷ و۸: جدایه‌های دارای ژن *pap* bp۳۳۶

درصد) نشان دادند.

در مطالعه پوررضایی و همکاران که در سال ۲۰۱۶ در سنندج انجام دادند، میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تری متوپریم / سولفومتاکسازول ۷۸ درصد، آمپی‌سیلین ۷۲ درصد، سفوتاکسیم ۶۶ درصد، سیپروفلوکساسین ۴۴ درصد، سفتازیدیم ۳۱ درصد، جنتامایسین ۳۸ درصد، آموکسی‌سیلین سولباکتام ۳۱ درصد، سفوکسیتین ۱۰ درصد، ایمی‌پنم ۳ درصد و نیتروفورانتئین ۳ درصد گزارش شد [۳].

در مطالعه‌ای که فرهت و همکاران در سال ۲۰۰۹ در پاکستان انجام دادند بیشترین موارد مقاومت، به ترتیب مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی سیلین ۸۸/۸ درصد، سفتازیدیم ۶۵/۵ درصد، سفوتاکسیم ۶۲ درصد، سیپروفلوکساسین ۶۲/۱ درصد، افلوکساسین ۶۲ درصد، مروپنم ۲/۶ درصد و ایمی‌پنم ۱/۶ درصد گزارش شد [۴]. در مطالعه‌ای که کیخا و همکاران در سال ۲۰۱۷ در شهر زاهدان انجام دادند از مجموع ۸۷ جدایه بیماران بیشترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها به ترتیب شامل سفتازیدیم ۴۴/۸ درصد، نیتروفورانتئین ۲۶/۱ درصد، جنتامایسین ۱۳/۷ درصد و ایمی‌پنم ۴/۵ درصد بود [۵].

در مطالعه‌ای که مرتضوی و همکاران در سال ۱۳۹۳ در یاسوج انجام دادند، از بین ۱۲۳ جدایه اشریشیاکلی ۳۹ درصد نسبت به سفوتاکسیم، ۱۷/۸۸ درصد نسبت به سفتازیدیم و ۷۶/۲۲ درصد نسبت به سیپروفلوکساسین مقاومت داشتند و نسبت به ایمی‌پنم مقاومت گزارش نشد [۶].

در مطالعه‌ای دیگر که منصوری و همکاران در کرمان در سال ۲۰۱۲ انجام دادند، از میان ۳۳۸ جدایه اشریشیاکلی مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتی‌زوکسیم ۱۲/۷ درصد، سفوتاکسیم

www.SID.ir

۳۱ درصد، جنتامایسین ۳۹/۳ درصد، سیپروفلوکساسین ۴۹/۴ درصد، سفوکسیتین ۴۶/۱ درصد، سفتازیدیم ۵۶/۴ درصد، آموکسی‌سیلین ۹۱/۴ درصد و تری متوپریم / سولفومتاکسازول ۴۹/۳ درصد گزارش شد [۷].

در مطالعه‌ای که توسط محبی و همکاران در ایلام انجام شد، میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به سیپروفلوکساسین، سفتازیدیم، سفتریاکسون، تری متوپریم سولفامتاکسازول و جنتامایسین به ترتیب ۲۱، ۲۱، ۱۶، ۱۵ و ۱۲ درصد گزارش شد [۸].

سلطان دلال و همکاران در سال ۱۳۸۹ در تهران، از بین دویست جدایه، میزان مقاومت نسبت آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین، تری متوپریم / سولفومتاکسازول، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین و ایمی‌پنم را به ترتیب ۹۴/۵، ۸۰/۵، ۶۴، ۵۵/۵، ۵۴/۵، ۳۹ و صفر گزارش کردند [۱۰].

این اختلافات می‌تواند ناشی از فاصله جغرافیایی، سطح بهداشت جامعه، محدودیت در مصرف خودسرانه آنتی‌بیوتیک و نظارت‌های شدید کنترلی جهت کاهش مقاومت آنتی‌بیوتیکی باشد. مطالعات نشان‌دهنده این است که مقاومت بالا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هایی که عموماً مورد استفاده قرار می‌گیرند کسب شده است و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیک در مناطق جغرافیایی متفاوت است. این اختلاف درصد در میزان مقاومت را می‌توان به تفاوت در سیستم کنترل عفونت، تعداد نمونه و استفاده نمونه از بخش‌های مختلف، میزان دسترسی به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در هر منطقه جغرافیایی و یا تفاوت ژنتیکی در کلون‌های مولد عفونت دانست. تجویز آنتی‌بیوتیک جهت جلوگیری از عفونت‌های باکتریایی ضروری است، ولی مصرف بیش از اندازه آن موجب مقاومت این میکروب‌ها به داروها شده و درمان صورت نمی‌پذیرد. این مسئله می‌تواند موجب ظهور عفونت‌هایی با ابرمیکروب‌ها از جمله استافیلوکوک طلایی مقاوم به متی‌سلین شود و مشکلات گسترده‌ای را به همراه داشته باشد. همچنین در اغلب موارد عفونت ادراری، درمان تجربی قبل از کسب نتایج کشت ادرار در آزمایشگاه آغاز می‌شود؛ در نتیجه مقاومت به آنتی‌بیوتیک ممکن است به دلیل استفاده مکرر و اشتباه از آنتی‌بیوتیک‌ها در اوروپاتوژن‌ها افزایش پیدا کند. نتایج تست‌های حساسیت به آنتی‌بیوتیک نشان داده است که اختلاف معناداری بین بروز مقاومت و سن و جنس افراد وجود ندارد و مقاومت آنتی‌بیوتیکی بدون توجه به سن و جنس است.

یکی دیگر از اهداف این مطالعه تعیین ژن‌های بتالاکتاماز ایجادکننده مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام بود که با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از بین صد نمونه، در غربالگری اولیه، ۲۷ نمونه مولد ESBLs بودند. در آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز از صد نمونه، ۸۲ نمونه دارای ژن bla_{CTX-M} بودند و از ۲۷ نمونه مولد ESBLs، ۹۲/۵ درصد دارای ژن bla_{CTX-M} بودند.

الوسوگا و همکاران در سال ۲۰۱۳ در نیجریه با مطالعه روی ۵۴ نمونه اشریشیاکلی گزارش کردند ۱۲ نمونه (۲۲/۲ درصد) مولد ESBLs بودند [۱۱]. ترشیزی و همکاران در شهرکرد در سال ۱۳۹۰، از میان ۱۹۳ جدایه اشریشیاکلی، ۲۸ درصد آن‌ها را $ESBLs^{+}$ گزارش کردند [۱۴]. در سال ۱۳۹۰ سلطان دلال و همکاران با استفاده از روش دیسک ترکیبی و سینرژیسم دوبل نشان دادند از ۱۸۸جدایه اشریشیاکلی، ۵۶ مورد (۲۹/۸ درصد) مولد ESBLs هستند [۱۰]. در مطالعه‌ای که حقی و همکاران در سال ۱۳۹۱ در زنجان انجام دادند، از بین دویست جدایه اشریشیاکلی مورد بررسی، ۳۳ درصد جدایه‌ها از نظر فنوتیپی مولد ESBLs بودند [۱۵]. در مطالعه سیدجوادی و همکاران در سال ۱۳۹۴ در تهران روی سویه‌های اشریشیاکلی، ۴۰/۸ درصد آن‌ها تولیدکننده ESBLs بوده‌اند که با مطالعه حاضر اختلاف دارد؛ این امر می‌تواند به دلیل زمان انجام پژوهش و تعداد نمونه مورد مطالعه و مکان انجام مطالعه باشد [۱۶].

درصد بالای ایزوله‌های تولیدکننده ESBLs ممکن است به دلیل فشار انتخابی ایجادشده در نتیجه استفاده وسیع از داروهای ضدمیکروبی، تفاوت ژنتیکی در کلون‌های مولد عفونت، پتانسیل انتقال بیمار به بیمار و طولانی بودن مدت بستری در بیمارستان‌ها باشد. در مطالعه حاضر، تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در درصد بالایی از ایزوله‌های ادراری اشریشیاکلی شناسایی شد و نشان داد که مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بر اساس الگوهای درمانی که در مناطق مختلف صورت می‌گیرد، متفاوت است. تقریباً در تمام نقاط دنیا ظهور سویه‌های مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف سیر صعودی دارد.

مقایسه نتایج نشان می‌دهد که میزان ESBLs در سویه‌های جداشده از کشورهای مختلف و همچنین در یک کشور از یک بیمارستان با بیمارستان دیگر متفاوت است که این مسئله بستگی به سیستم کنترل عفونت و نحوه درمان بیماران در آن منطقه دارد. شیوع نسبتاً بالای ارگانیسم‌های مولد این آنزیم‌ها در مناطق مختلف بستگی به میزان شیوع این ارگانیسم‌ها در حیوانات و حاملین مدفوعی انسانی دارد که می‌توانند به عنوان مخازن این ارگانیسم‌ها باشند و این ارگانیسم‌ها می‌توانند از طریق تماس با این مخازن و یا زنجیره‌های غذایی از طریق حیوانات به دیگر انسان‌ها منتقل شوند [۱۷].

در مطالعه مسرور و همکاران که در سال ۲۰۱۰ در پاکستان انجام شد، از بین ۱۲۱ نمونه اشریشیاکلی، ژن bla_{CTX-M} با ۵۷/۷ درصد بیشترین شیوع را داشته است [۱۸]. بورا و همکاران در سال ۲۰۱۴ در کشور هند با مطالعه روی ایزوله اشریشیاکلی نشان دادند که ۷۳/۵۸ درصد ایزوله‌ها تولیدکننده ESBLs بوده‌اند. شایع‌ترین ژن کدکننده ESBLs ژن bla_{CTX-M} بود که ۸۸/۶۷ درصد سویه‌ها آن را دارا بوده‌اند [۱۹]. در مطالعه‌ای که آل-سوبول[1] و همکاران

1. AL-Subol

www.SID.ir

در سوریه در سال ۲۰۱۵ انجام دادند، از میان ۱۵۹ جدایه اشریشیاکلی، صد نمونه به صورت فنوتیپی مولد ESBLs بودند که از این نمونه‌ها ۵۴/۳۳ درصد به جنتامایسین، ۶۶/۱۴ درصد به تتراسایکلین، ۷۲/۴۴ درصد به نالیدیکسیک اسید، ۵۲/۷۶ درصد به سیپروفلوکساسین و ۷۲/۴۴ درصد به ترومتوپریم / سولفومتاکسازول مقاوم بودند. از لحاظ ژنوتیپی فراوانی ژن bla^{C-}_{TX-M} حدود ۷۶/۱۴ درصد، گزارش شده است [۲۰]. در مطالعه سیدجوادی و همکاران در سال ۱۳۹۴ در تهران روی صد سویه اشریشیاکلی، شیوع ژن bla_{CTX-M} ، ۷۴ درصد گزارش شده است [۱۶]. در مطالعه افشارنیا و همکاران در سال ۱۳۹۶، از بین ۹۹ ایزوله اشریشیاکلی، ژن bla_{CTX-M} در ۷۹/۸ درصد سویه‌ها گزارش شده است که نتایج با مطالعه ما هم‌خوانی دارد [۲۱].

در مطالعه حاضر درصد بالایی از ایزوله‌های ادراری اشریشیاکلی شناسایی شد و نشان داد که مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بر اساس الگوهای درمانی که در مناطق مختلف صورت می‌گیرد متفاوت است. تقریباً در تمام نقاط دنیا ظهور سویه‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف سیر صعودی دارد. شناسایی صحیح و سریع مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و ردیابی سویه‌های مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف می‌تواند کمک قابل توجهی در جلوگیری از شکست درمانی، درمان سریع و صرفه‌جویی در زمان و هزینه بیماران بکند؛ همچنین می‌تواند یاری‌گر پزشکان در انتخاب بهترین گزینه درمانی جهت کاهش و ظهور سویه‌های مقاوم باشد و از انتشار ژن‌های مقاومتی جلوگیری کند و در کاهش مرگ‌ومیر بیماران مؤثر باشد.

فاکتور اتصالی اصلی تحت عنوان فیمبریه P عمدتاً مرتبط با پیلونفریت است و توسط ژن‌های *pap* کد می‌شود. نشان داده شده است که در بیشتر از ۷۰ درصد اشریشیاکلی، پیلونفریت حضور دارد. یکی دیگر از اهداف این مطالعه توزیع فراوانی ژن بیماری‌زای *pap* بود که در ۹۰ جدایه شناسایی شد.

در مطالعه یوزینگ[2] و همکاران در سال ۲۰۰۱ روی ژن‌های بیماری‌زای اشریشیاکلی، نشان داده شده است که ۱۷ درصد ایزوله‌ها دارای ژن بیماری‌زا *pap* بوده‌اند [۲۲]. در مطالعه مهاجری و همکاران در کرمانشاه در سال ۱۳۹۱، از بین ۲۰۵ ایزوله اشریشیاکلی میزان شیوع ژن *pap*، ۴۴ درصد بود [۲۳]. در گزارش ارائه‌شده توسط فیروزه و همکاران در سال ۲۰۱۴ که به شناسایی ژن‌های بیماری‌زا در اشریشیاکلی جداشونده از بیماران مبتلا به سیستیت و پیلونفریت پرداخته بودند، مشخص شد که در میان ژن‌های بیماری‌زا، ژن ادهزین *pap* شایع‌ترین ژن بوده و ۱۶/۷ درصد ایزوله‌ها شناسایی شده است [۲۴]. در بررسی دیگری توسط لورا و همکاران در سال ۲۰۱۷ در مکزیک از بین ۱۰۷ ایزوله اشریشیاکلی، ۲۷ درصد نمونه‌ها حاوی ژن *pap* بودند [۲۵].

شیوع ژن‌های بیماری‌زا بر اساس گروه فیلوژنیک، شرایط بالینی میزبان و منطقه جغرافیایی متفاوت است. همچنین تفاوت‌های اجتماعی، اقتصادی، بهداشتی و شرایط محیطی بین کشورهای توسعه‌یافته و در حال توسعه، در شیوع فاکتورهای ویرولانس به طور قابل توجهی متفاوت است [۲۳].

مطالعه ما نشان داد: ۱. تعداد کمی از ژن‌های ویرولانس باکتری اشریشیاکلی مسئول حملات ادراری هستند. ۲. ویژگی‌های سویه‌های اشریشیاکلی جداشده از عفونت‌های ادراری به دانش ما در مورد عوامل تعیین‌کننده ژن‌های ویرولانس که در ایجاد بیماری نقش ایفا کرده‌اند، کمک می‌کند. ۳. مطالعات بیشتر برای تشخیص فاکتورهای بیماری‌زای مسئول عفونت‌های ادراری و تعیین فیزیوپاتولوژی این عفونت‌ها برای در نظر گرفتن اقدامات احتمالی مورد نیاز است.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر جدایه‌های مورد بررسی بیشترین مقاومت را به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین با ۷۱ درصد و کمترین مقاومت را به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم، دروپنم و مروپنم با ۱۰۰ درصد حساسیت داشتند. با بررسی فوق و نتایج به‌دست‌آمده مشابه توسط سایر محققان، می‌توان به این نتیجه رسید که در سال‌های اخیر مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها باعث افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی شده و ژن‌های مقاومت سریع‌تر از هر زمان در بین باکتری‌های پاتوژن انتقال می‌یابند. بنابراین با مطالعه در زمینه شیوع مقاومت‌ها و انتقال ژن‌های بیماری‌زا در باکتری‌ها می‌توان از مصرف بی‌رویه این آنتی‌بیوتیک‌ها جلوگیری به عمل آورد.

فراوانی سویه‌های اشریشیاکلی مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در این مطالعه نشانگر این است که تولید ESBL یک تهدید بزرگ در مصرف سفالسپورین‌های نسل سوم به شمار می‌آید؛ بنابراین استفاده از روش‌های مولکولی جهت مطالعات وسیع‌تر و شناسایی انواع آنزیم‌های بتالاکتامازی وسیع‌الطیف و ردیابی انواع ژن‌های ESBL در جلوگیری از گسترش مقاومت‌ها می‌تواند تأثیرگذار باشد. ما نتیجه گرفتیم تفاوت عمده بین شیوع ژن‌های بیماری‌زا و عفونت‌های ادراری در کشورهای مختلف وجود دارد. همچنین مشاهده کردیم که ارتباط بین بیماری پاتولوژیک و ژن‌های بیماری‌زا ممکن است موجب افزایش بقا و رشد عامل عفونت در دستگاه ادراری شود. تشخیص این ژن‌ها به عنوان کنترل‌کننده‌های اصلی عامل عفونت می‌تواند در مدیریت بهتر عفونت‌های مرتبط کمک کند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این پروژه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی یزد با کد اخلاق IR.ssu.medicine.rec 1396.215 مورد تأیید قرار گرفته است.

2. Usein

www.SID.ir

حامی مالی

دانشگاه علوم‌پزشکی یزد حامی مالی این مطالعه بوده است.

مشارکت‌نویسندگان

تمام نویسندگان به یک اندازه در نگارش مقاله مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی در این مقاله وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حمایت‌های مالی دانشگاه علوم پزشکی یزد تشکر و قدردانی می‌شود.

www.SID.ir

References

[1] Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L. Management of multidrug-resistant organisms in health care settings, 2006. American Journal of Infection Control. 2007; 35(10):S165-S93. [DOI:10.1016/j.ajic.2007.10.006] [PMID]

[2] Philippon A, Arlet G, Lagrange P. Origin and impact of plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamases. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 1994; 13(1):S17-S29. [DOI:10.1007/BF02390681] [PMID]

[3] Pourzare M, Derakhshan S, Roshani D. Distribution of uropathogenic virulence genes in *Escherichia coli* isolated from children with urinary tract infection in Sanandaj, Iran. Archives of Pediatric Infectious Diseases. 2017; 5(3):e41995. [DOI:10.5812/pedinfect.41995]

[4] Ullah F, Malik S, Ahmed J. Antibiotic susceptibility pattern and ESBL prevalence in nosocomial *Escherichia coli* from urinary tract infections in Pakistan. African Journal of Biotechnology. 2009; 8(16):3921-6. https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/۶۲۰۸۱

[5] Rava M. Trend of antibiotic resistance of *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections in outpatient patients from Zahedan. Journal of Paramedical Sciences & Rehabilitation. 2017; 6(4):73-8. [DOI:10.22038/JPSR.2017.21755.1556]

[6] Mortezavi R, Khosravani S, Naghavi N. Molecular analysis of gene frequencies of TEM, CTX-M and SHV in beta-lactam antibiotic-resistant strains of *E. coli* isolated from urinary tract infections in Yasuj hospitals. Armaghane Danesh Bimonthly Journal. 2014; 19(3):233-41. http://armaghanj.yums.ac.ir/article-1-208-en.html

[7] Mansouri S, Neyestanaki DK, Shokoohi M, Halimi S, Beigverdi R, Rezagholezadeh F, et al. Characterization of AmpC, CTX-M and MBLs types of β-lactamases in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae and *Escherichia coli* producing extended spectrum β-lactamases in Kerman, Iran. Jundishapur Journal of Microbiology. 2014; 7(2):e8756. [DOI:10.5812/jjm.8756]

[8] Mohebi R, Pakzad I, Sadeghifard Nk, Maleki A, Hematian A, Ghafourian S. A study of antibiotic resistance pattern and plasmid profile of uropathogenic *Escherichia coli* isolated in Ilam (western Iran). Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2009; 17(2):46-9. https://www.sid.ir/en/Journal/ViewPaper.aspx?ID=167981

[9] Soltan Dallal MM, Aghamirzaei HM, Mehrabadi JF, Lari AR, Sabbaghi A, Eshraghian MR, et al. [Molecular detection of TEM and AmpC (Dha, mox) broad spectrum β-lactamase in clinical isolates of *Escherichia coli* (Persian)]. Tehran University Medical Journal. 2010; 68(6):315-20. https://tumj.tums.ac.ir/browse.php?a_id=329&sid=1&slc_lang=en

[10] Soltan Dallal MM, Mobasseri G, Mehrabadi JF, Eshraghian M, Lari AR, Aghamirzaei HM, et al. [Detection of CTX-M-1 beta lactamase gene in *Escherichia coli* isolated from clinical samples by Polymerase Chain Reaction (PCR) (Persian)]. Tehran University Medical Journal. 2011; 69(1):16-21. https://tumj.tums.ac.ir/browse.php?a_id=271&sid=1&slc_lang=en

[11] Ogbolu DO, Alli OT, Olanipekun L, Ojo O, Makinde O. Faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing commensal Klebsiella pneumoniae and *Escherichia coli* from hospital out-patients in Southern Nigeria. International Journal of Medicine and Medical Sciences. 2013; 5(3):97-105. https://www.researchgate.net/publication/236701777_

[12] Kot B, Wicha J, Gruzewska A, Piechota M, Wolska K, Obrebska M. Virulence factors, biofilm-forming ability, and antimicrobial resistance of urinary *Escherichia coli* strains isolated from hospitalized patients. Turkish Journal of Medical Sciences. 2016; 46(6):1908-14. [DOI:10.3906/sag-1508-105] [PMID]

[13] Jalali HR, Pourbakhsh A, Fallah F, Eslami G. Genotyping of Virulence Factors of Uropathogenic *Escherichia coli* by PCR. Novelty in Biomedicine. 2015; 3(4):177-81. [DOI:10.22037/nbm.v3i4.8036]

[14] Torshizi R, Zamanzad B, Mokhtareyan K, Karimi A. [Determination of CTX-M genes in enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamase using PCR method (Persian)]. Journal of Shahrekord Uuniversity of Medical Sciences. 2011; 13(3):9-17. http://journal.skums.ac.ir/browse.php?a_id=741&sid=1&slc_lang=en

[15] Haghi F, Zeighami H, Keramati N, Hemmati F, Hajiahmadi F. [Frequency of TEM extended spectrum beta lactamase producing *Escherichia coli* in clinical specimens by phenotypic and molecular methods in Zanjan (Persian)]. Journal of Advances in Medical and Biomedical Research. 2013; 21(85):55-63. http://zums.ac.ir/journal/article-1-2141-en.html

[16] Seyedjavadi SS, Goudarzi M, Sabzehali F. Relation between bla_{TEM}, blaSHV and bla_{CTX-M} genes and acute urinary tract infections. Journal of Acute Disease. 2016; 5(1):71-6. [DOI:10.1016/j.joad.2015.07.007]

[17] Riaño I, Moreno MA, Teshager T, Sáenz Y, Domínguez L, Torres C. Detection and characterization of extended-spectrum β-lactamases in Salmonella enterica strains of healthy food animals in Spain. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2006; 58(4):844-7. [DOI:10.1093/jac/dkl337] [PMID]

[18] Hussain M, Hasan F, Shah AA, Hameed A, Jung M, Rayamajhi N, et al. Prevalence of class A and AmpC b-lactamases in clinical *Escherichia coli* isolates from Pakistan Institute of Medical Science, Islamabad, Pakistan. Japanese Journal of Infectious Diseases. 2011; 64(3):249-52. https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/54303053/Prevalence_of_Class_A_and_AmpC_-Lctamase20170831-2884-17ml0ww.pdf?1504191191

[19] Bora A, Hazarika NK, Shukla SK, Prasad KN, Sarma JB, Ahmed G. Prevalence of blaTEM, blaSHV and bla_{CTX-M} genes in clinical isolates of *Escherichia coli* and Klebsiella pneumoniae from Northeast India. Indian journal of Pathology and Microbiology. 2014; 57(2):249. [DOI:10.4103/0377-4929.134698] [PMID]

[20] Ibrahim A-S, Youssef N. Prevalence of CTX-M, TEM and SHV beta-lactamases in clinical isolates of *Escherichia coli* and Klebsiella Pneumoniae isolated from Aleppo University Hospitals, Aleppo, Syria. Archives of Clinical Infectious Diseases. 2015; 10(2):e22540. [DOI:10.5812/archcid.22540]

[21] Afsharnia M, Naraghi B, Mardaneh J, Kianmehr M, Biglari H. The data of *Escherichia coli* strains genes in different types of wastewater. Data in Brief. 2018; 21:763-6. [DOI:10.1016/j.dib.2018.08.167] [PMID] [PMCID]

[22] Usein CR, Damian M, Tatu-Chitoiu D, Capusa C, Fagaras R, Tudorache D, et al. Prevalence of virulence genes in *Escherichia coli* strains isolated from Romanian adult urinary tract infection cases. Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2001; 5(3):303-10. [DOI:10.1111/j.1582-4934.2001.tb00164.x] [PMID] [PMCID]

[23] Mohajeri P, Khademi H, Ebrahimi R, Farahani A, Rezaei M. Frequency distribution of virulence factors in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from Kermanshah in 2011-2012. International Journal of Applied and Basic Medical Research. 2014; 4(2):111-6. [DOI:10.4103/2229-516X.136794] [PMID] [PMCID]

[24] Firoozeh F, Saffari M, Neamati F, Zibaei M. Detection of virulence genes in *Escherichia coli* isolated from patients with cystitis and pyelonephritis. International Journal of Infectious Diseases. 2014; 29:219-22. [DOI:10.1016/j.ijid.2014.03.1393] [PMID]

[25] Miranda-Estrada LI, Ruíz-Rosas M, Molina-López J, Parra-Rojas I, González-Villalobos E, Castro-Alarcón N. Relationship between virulence

www.SID.ir

factors, resistance to antibiotics and phylogenetic groups of uropathogenic *Escherichia coli* in two locations in Mexico. Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica (English ed). 2017; 35(7):426-33. [DOI:10.1016/j.eimce.2017.06.005]

www.SID.ir