جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۹، شماره۳، خرداد ۱۳۹۳(شماره پی در پی۸٦)

تعیین مولکولی فراوانی ژن‌های TEM، CTX-M و SHV در سویه‌های اشرشیاکولی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام جدا شده از عفونت‌های ادراری بیمارستان‌های شهر یاسوج

رویا مرتضوی[۱]، عبدالمجید خسروانی[۲*]، نفیسه السادات نقوی[۳]

[۱]گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، فلاورجان، ایران،[۲]مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران،[۳] گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، فلاورجان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: عفونت‌های ادراری یکی از بیماری‌های عفونی رایج می‌باشند که عوامل متعددی از جمله باکتری اشرشیاکولی در ایجاد آن نقش مهمی دارد. هدف این مطالعه تعیین ژن‌های ایجاد کننده مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام در باکتری اشرشیاکولی جدا شده از عفونت‌های ادراری انسان در شهر یاسوج بود.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی ـ تحلیلی که طی یک دوره ۷ ماهه در سال ۱۳۹۱انجام شد، تعداد ۱۲۳ نمونه باکتری اشرشیاکولی از بیمارستان‌های شهر یاسوج جمع آوری شد. برای بررسی مولکولی ژن‌هایCTX-M ، SHV و TEMM ایجاد کننده مقاومت آنتی بیوتیکی از روش PCR استفاده شد. داده‌ها با آزمون آماری تی دانشجویی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: فراوانی ژن‌های TEM(۵۰/۹٤ درصد)، SHV (٤۷/۱٦ درصد)، CTX-M-9(۳۵/۸٤ درصد) ، CTX-M-10 (۳۲/۰۷ درصد)، بود. بدین ترتیب بیشترین شیوع مربوط به ژن TEM و کمترین شیوع مربوط به ژن CTX-M10 بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به شیوع بالای مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های بتا لاکتام، این مطالعه نشان داد که وجود ژن‌های ذکر شده نقش مهمی در تسهیل گسترش مقاومت ضد میکروبی در این منطقه دارد.

واژه های کلیدی: *اشرشیاکولی*، عفونت ادراری، ژن

[*]**نویسنده مسئول: دکتر عبدالمجید خسروانی**، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی
Email: khosravani2us@yahoo.com

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

عفونت‌های ادراری یکی از بیماری‌های عفونی رایج می‌باشند که ممکن است دارای علایم و یا بدون علایم باشند. اگر چه عوامل مختلفی در ایجاد عفونت‌های ادراری دخالت دارند، اما باکتری‌ها عامل اصلی عفونت‌های ادراری می‌باشند(۱). در این میان، باکتری *اشرشیاکولی* نقش مهمی در ایجاد این عفونت دارد. تخمین زده شده است که حدوداً ۵۰ــ۴۰ درصد از زنان حداقل یک بار عفونت دستگاه ادراری را در طول زندگی خود تجربه کرده اند و ۳۳ درصد از زنان در ایالات متحده که از عفونت دستگاه ادراری رنج می‌برند نیاز به درمان ضد میکروبی در سن ۲۴ سالگی را دارند (۳ و۲). عفونت‌های دستگاه ادراری یکی از علت‌های شایع بیماری ناشی از تب درکودکان خردسال است. این عفونت‌ها در ۱ درصد پسران و ۸ــ۳ درصد از دختران تشخیص داده شده‌اند(٤). مقاومت آنتی‌بیوتیکی به عنوان یک مشکل اساسی در درمان و کنترل عفونت‌ها محسوب می‌شود. باکتری‌های تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف به واسطه توانایی هیدرولیز اکثر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام به عنوان یک مشکل اساسی در جوامع پزشکی مطرح هستند. بنابراین این بتالاکتامازها جدید بوده و (بتالاکتاماز های وسیع الطیف) ESBL نام‌گذاری شده‌اند. شیوع مقاومت آنتی در باکتری‌های جدا شده از عفونت‌های ادراری رو به افزایش بسیار مهم است.

استراتژی‌های مختلفی به وسیله باکتری‌ها به کار گرفته می‌شود، تا از اثرات زیان بار آنتی‌بیوتیک‌ها مصون بمانند. یکی از مهم‌ترین استراتژی‌ها که در باکتری‌های گرم منفی به خصوص باکتری اشرشیاکولی علیه آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام گرفته می‌شود، تولید آنزیم های بتالاکتامازی است(۵).

این آنزیم‌ها از طریق هیدرولیز هسته مرکزی در آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام باعث غیر فعال شدن آن‌ها می‌شوند. پیدایش آنتی‌بیوتیک‌های جدید از قبیل سفالوسپورین‌های وسیع الطیف، ازترئونام‌ها و رواج استفاده از آن‌ها در درمان بیماری‌های عفونی باکتریال منجر به بروز دسته جدیدی از این آنزیم‌ها به نام بتالاکتاماز وسیع‌الطیف شده است(٦). مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتا لاکتام مسئله رو به رشدی است و تولید بتالاکتامازها، معمول‌ترین مکانیسم مقاومت دارویی است. پایداری سویه‌های باکتریایی نسبت به بتالاکتام‌ها در اثر تولید زیاد بتالاکتامازهاو بروز جهش در آن ها می‌باشد.الگوهای مختلفی برای طبقه‌بندی بتالاکتامازها وجود دارد. یکی از این روش‌ها که عمدتاً از آن استفاده می‌شود به وسیله مدیروس و جکوبی ابداع شده که بر اساس آن نوع سوبسترا، ممانعت کنندگی و خصوصیات فیزیکی نظیر وزن مولکولی و نقطه ایزوالکتریک بتالاکتامازها،به ٤گروه اصلیA،B،C و D طبقه‌بندی می‌شوند. بر اساس این طبقه‌بندی، آنزیم‌های وسیع‌الطیف در گروه A قرار

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

گرفته و شامل مشتقات آنزیم‌های موتاسیون یافته TEM و SHV می‌باشد(۸ و۷).

بتالاکتامازهای تیپ CTX-M به طور گسترده از طریق پلاسمیدهای حامل ESBL که فاقد TEM و SHV می‌باشند منتشر گردید(۱۰ و۹). فاکتورهای متفاوتی باعث ایجاد ارگانیسم‌های تولید کننده ESBL می‌شوند از جمله؛ بستری شدن در بیمارستان به خصوص در بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) استفاده از کاتاترها و استفاده زیاد از آنتی‌بیوتیک‌ها بیشترین عفونت با میکروارگانیسم‌های تولید کننده ESBL بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه می‌باشد، اما این عفونت‌ها در سایر بخش‌های بیمارستانی هم اتفاق می‌افتد. مطالعات قبلی نشان داد که CTX-M-β-Lactamase تولید شده به وسیله اشرشیاکولی به عنوان غالب‌ترین نوع ESBL در دنیا بوده است(۱۱). هدف این مطالعه بررسی وجود ژن‌های بتالاکتامازی با استفاده از روش PCR در سویه‌های اشرشیاکولی جدا شده از عفونت‌های ادراری در شهر یاسوج بود.

روش بررسی

طی یک دوره ۷ ماهه در سال ۹۱ تعداد ۲۰۰ نمونه ادراری مثبت از بیمارستان‌ها و آزمایشگاه‌های بالینی شهر یاسوج جمع‌آوری شدند. این نمونه‌ها به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج برای انجام آزمایش‌های بعدی منتقل شدند. نمونه‌ها مربوط به هر دو جنس(مرد و زن) بودند و بر روی محیط کشت انتخابی ائوزین متیلن بلو کشت داده شده و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. از طریق انجام تست‌های بیوشیمیایی شامل تست هیدرولیز اوره، آزمایش تولید اندول، تست MR-VP و استفاده از محیط TSI بر روی کلنی ها، ۱۲۳ ایزوله اشرشیاکلای شناسایی شدند.

شناسایی فنوتیپی باکتری‌های تولید کننده ESBL از دیسک‌های ترکیبی سفتازدیم ـ کلاولانیک اسید و سفوتاکسیم-کلاولانیک اسید استفاده شد. دیسک‌ها مربوط به شرکت Rosco بود. باکتری اشرشیا کلی بر روی محیط مولر هینتون آگار به روش کشت چمنی به وسیله سواپ سر پنبه‌ای کشت داده شد، سپس دیسک حاوی سفوتاکسیم ـ کلاولانیک اسید در مرکز پلیت قرار داده شد و دیسک آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم به فاصله ۳۰ میلی‌متر از دیسک ترکیبی در پلیت قرار داده شد. برای آنتی‌بیوتیک دیگر هم این روش استفاده شد. سپس پلیت‌ها را به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از این مدت افزایش قطر هالی عدم رشد در اطراف دیسک‌های ترکیبی سفوتاکسیم ـ کلاولانیک اسید و سفتازدیم ـ کلاولانیک اسید به اندازه ٥ میلی‌متر نسبت به هاله عدم رشد اطراف هر یک از دیسک‌های سفوتاکسیم و سفتازدیم به تنهایی نشان دهنده مثبت بودن آزمایش یعنی تولید آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف به وسیله باکتری بود.

استخراج DNA به وسیله کیت استخراج DNA به شماره DN8115C محصول شرکت سیناژن انجام شد. برای بررسی مولکولی باکتری‌های تولید کننده ESBL از روش PCR استفاده شد. برای این منظور واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل؛ ۰/٤ میکرولیتر DNTP، ۰/۸ میکرولیتر کلرید منیزیم، ۲ میکرولیتر بافر PCR، ۱٦/۸ میکرولیتر آب مقطر استریل، ۱ میکرولیتر پرایمر فوروارد، ۱ میکرولیتر پرایمر DNA Template ۰/۲۵ میکرولیتر Taqpolymerase و ۲/۷۵ میکرولیتر DNA Template انجام شد و برای نمونه کترل مثبت از سوش استاندارد(ATCC35218) *E.coli* ۱۷٦۳ استفاده شد. پرایمرهای ذکر شده برای بررسی حضور ژن‌های TEM, SHV, CTX-M9, CTXM10 استفاده شدند(۱۳ و۱۲).

برنامه زمانی در دستگاه ترموسایکلر برای ۳۵ سیکل جهت بررسی حضور ژن‌ها شامل این موارد بود؛ First Denaturation ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، Denaturation بعدی ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤۵ ثانیه، دمای Annealing برای ژن TEM، ۵۸ درجه سانتی‌گراد، برای ژن CTX-M9 و CTXM10 ٦۰ درجه سانتی گراد و برای ژن SHV ٦۲ درجه سانتی‌گراد، Extention۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و Final Extention ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه. رنگ نشانگر از ترکیب رنگ برموفنل بلو و یک ماده غلیظ وچسبنده مثل گلیسرول یا سوکروز تشکیل شده که ویسکوزیته نمونه با این بافر افزایش یافته وانتقال آن به داخل چاهک ژل تسهیل می‌گردد. ملکول‌های DNA به علت داشتن فسفات که دارای بافر منفی است به سمت قطب مثبت حرکت می‌کنند. رنگ نشانگر نیز خود باردار شده همراه DNA به علت داشتن فسفات که دارای بار منفی است به سمت قطب مثبت حرکت می‌کند. همراه نمونه‌ها مارکر DNA جهت تعیین وزن باند مورد نظر در الکتروفورز استفاده شد. الکتروفورز نمونه‌ها در ولتاژ ثابت ۹۰ ولت به مدت حدوداً یک ساعت انجام شد و سپس زیر نور UV مشاهده شد.

پس از پایان کار دستگاه ترموسایکلر، محصول PCR جهت بررسی ژن‌ها بر روی ژل آگاروز منتقل گردید. برای ردیابی ژن‌های هدف تکثیر یافته درمحصول PCR نمونه‌های آزمایش شده از ژل یک درصد آگاروز استفاده شد. برای این منظور یک گرم پودر آگاروز در۱۰۰ میلی‌لیتر بافر TBE حل کرده و پس از اضافه کردن ۵ میکرولیتر رنگ اتیدیوم بروماید(محصول شرکت سینا ژن) در سینی مخصوص الکتروفورز ریخته شد. جهت انجام الکتروفورز ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR با ٤ میکرولیتر رنگ نشانگر لودینگ بافر، مخلوط و به چاهک ژل منتقل شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری تی دانشجویی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

پس از انجام تست آنتی‌بیوگرام برای شناسایی فنوتیپی باکتری‌های تولید کننده ESBL با استفاده از دیسک‌های ترکیبی سفوتاکسیم ـ کلاولانیک اسید و سفتازدیم ـ کلاولانیک اسید مشخص شد که ۵۳ نمونه ESBL مثبت بودند.

محصول الکتروفورز واکنش PCR انجام شده در تصویر ۱ نشان داده شده است.

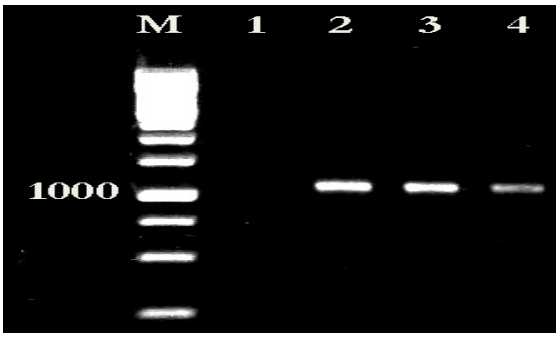
نتایج حاصله نشان داد، بیشترین مقاومت باکتری نسبت به آنتی بیوتیک نالیدیکسیک اسید و کمترین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ایمی‌پنم بوده است(جدول ۱).

بیشترین میزان شیوع ۲۷ مورد (۵۰/۹٤ درصد)مربوط به ژن TEM و کمترین میزان شیوع ۲۵ مورد(۳۲/۷ درصد) مربوط به ژن CTX-M10 بود.

از مجموع ۱۲۳ ایزوله، ۲۷ نمونه(۵۰/۹٤ درصد) دارای ژن TEM، ۲۵ نمونه (٤۷/۱٦ درصد)دارای ژن SHV، ۱۹ واحد ژن(۳۵/۸٤ درصد)۱۹ CTX-M، ۱۷ ایزوله(۳۲/۷۰ درصد) واجد ژن CTX-M10 بودند و همچنین ۱۲ سویه(۲۲/٦٤ درصد) دارای هر دو ژن SHV و TEM، ۹ سویه(۱٦/۹۸ درصد) دارای ژن‌های CTX-M9 و TEM، (۱۵/۰۹ درصد) ۸ نمونه دارای ژن‌هایCTX-M10 و TEM و۷ (۱۳/۲)ایزوله واجد SHV و CTX-M9، (۱۱/۳۲ درصد) دارای ژن‌های CTX-M10 و SHV، ۲ نمونه (۳/۲ درصد) دارای ژن‌های CTX-M9 و CTXM10 و ۲(۳/۲ درصد)۲ واجد ۳ ژن ، CTX-M9 و CTX-M10 بودند.

جدول۱: الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری اشرشیا کلی جدا شده از بیماران با عفونت ادراری

آنتی بیوتیک	حساس	حدواسط	مقاوم	جمع
نالیدیکسیک اسید	۵۰(٤۰/٦۵)	۱۰(۸/۱٤)	٦۳(۵۱/۲۱)	۱۲۳(۱۰۰)
سفوتاکسیم	٦۷ (۵۳/٦)	۸(٦/۳۸)	٤۸(۳۹/۰۲)	۱۲۳(۱۰۰)
سفتازدیم	۸۱(٦۵/۸۵)	۲۰(۱٦/۳۱)	۲۲(۱۷/۸۸)	۱۲۳(۱۰۰)
سیپروفلوکساسین	۸۵(٦۵/۱۰)	۱۰(۸/۱٤)	۲۸(۲۲/۷٦)	۱۲۳(۱۰۰)
ایمی‌پنم	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)



تصویر ۱: محصول الکتروفورز واکنش PCR ژن‌های بررسی شده، M؛ سایز مارکر، چاهک ۱؛ کنترل منفی، چاهک ۲ و۳؛ ایزوله های دارای ژن TEM ، چاهک۴؛ کنترل مثبت

بحث

امروزه عفونت‌های ادراری یکی از بیماری‌های عفونی رایج در جهان به شمار می‌رود. باکتری‌ها عامل اصلی عفونت‌های ادراری می‌باشند که در میان آنها اشرشیاکلی نقش مهمی در ایجاد این عفونت‌ها دارد. از طرفی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به عنوان یک مشکل اساسی در درمان و کنترل این عفونت‌ها محسوب می‌شود(۱). هدف این مطالعه تعیین ژن‌های ایجاد کننده مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام در باکتری اشرشیاکولی جدا شده از عفونت‌های ادراری انسان در شهر یاسوج بود.

این مطالعه نشان داد بیشترین فراوانی ژن سویه‌های اشرشیاکولی مقاوم آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مربوط به ژن TEM و کمترین فراوانی مربوط به ژن CTX-M10 بود. در تحقیقی که به وسیله بانت و همکاران در سال ۲۰۰٤ انجام گرفت افزایش چشمگیری در شیوع ارگانیسم‌های تولید کننده CTX-M *اشرشیا کولی* دیده شد که تقریباً با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد(۱۵). در سال‌های اخیر آنزیم CTX-M به عنوان شایع‌ترین نوع ESBL در اروپا، آمریکای شمالی و آسیا گزارش شده و انواع تیپ‌های مختلف از این نوع آنزیم شناسایی شدند(۱۷ و۱٦).

با توجه به شیوع بالای ESBLها (٦٤ درصد) در تهران نسبت به کشورهای مختلف جهان، احتمالاً یکی از مهم‌ترین دلایل این موضوع، مصرف خود سرانه و بیش از حد آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام در ایران می‌باشد(۱۸). در مطالعه تشکری و همکاران که در سال ۱۳۸۹ در رفسنجان انجام گرفت میزان تولید ESBL، ۱۰/۲۷ درصد گزارش گردید، ولی شیوع ESBL در فلسطین اشغالی ۱۲ درصد گزارش شد که در مقایسه با مطالعه حاضر از شیوع کمتری برخوردار بود(۲۰ و۱۹). بررسی دیگری حاکی از آن است که میزان مولدین ESBL، را در بین ایزوله‌های مولد عفونت ادراری ۱۸/۵ درصد گزارش کرده است(۲۱). در مطالعه‌ای که به وسیله شریفی یزدی و همکاران در تهران انجام شد، میزان شیوع ژن‌های TEMو SHV، ۸۷/۱ درصد و ۷۰/٦ درصد گزارش شد که در مقایسه با مطالعه حاضر شیوع نسبتاً بیشتری را نشان می‌دهد(۲۱). در پژوهشی که در سال ۲۰۱۰ به وسیله شارما و همکاران در هند (۲۲) بر روی شناسایی ژن SHV و TEM در *اشرشیاکولی* و *کلبسیلا پنومونیه* انجام گرفت، از مجموع ۲۰۰ ایزوله اشرشیاکولی و *کلبسیلا پنومونیه*، ۷۰ نمونه اشرشیاکولی و ٦۰ نمونه *کلبسیلا پنومونیه* تولید کننده ESBL بودند که از این تعداد ٥٦ نمونه دارای ژن TEMو ٦۰ نمونه دارای ژن SHV بودند(۲۲). فراوان‌ترین ESBL یافت شده در این مطالعه و مطالعات مشابه TEM بود در حالی که مطالعات بسیاری فراوان ترین را SHV گزارش کردند. مقایسه این نتایج نشان می‌دهد که میزان ESBL در سویه‌های ایزوله شده از کشورهای مختلف و هم‌چنین در یک کشور از یک بیمارستان با بیمارستان دیگر

متفاوت می‌باشند، که این مسئله بستگی به سیستم کنترل عفونت و نحوه درمان بیماران آن بیمارستان دارد.

نتیجه گیری

با توجه به میزان بالای تولیدESBL می‌توان به اشرشیاکولی به عنوان یک باکتری تولید کننده ESBL اشاره کرد. تولید ESBL تهدیدی بزرگ برای جامعه به شمار می‌رود. بنابراین برای درمان ارگانیسم‌های تولید کننده آنزیم‌های بتالاکتام پزشکان و بیمارستان‌ها باید در تجویز آنتی‌بیوتیک‌ها دقت نمایند. هم‌چنین سویه‌هایی که در برابر آنتی‌بیوتیک‌های سفتازدیم و سفوتاکسیم مقاومت نشان داده‌اند، باید از نظر تولید ESBL مورد بررسی قرار گیرند.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان بود که با همکاری گروه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انجام شد.

REFERENCES

1-Daoud Z, Afif C. *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections of lebanese patients between 2000-2009:Epidemiology and profile of resistance. ChemoterapyResearch and Practice. 2005. 1-6.
2.Foxman B, BrownP. Epidemiology of urinary tract infections: transmission and risk factors, incidence, and costs, infect. Dis Clin NorthAm 2003; 17: 227–241.
3.Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. Disease Mon 2003; 49: 53–70
4.Li D, Liu B, Chen M, Guo D, Guo X, Liu F, Feng L, Wang L. A multiplex PCR method to detect 14 *Escherichia coli*serogroups associated withurinary tract infections. J Microbiol Methods 2010; 82: 71-7.
5.Li Q, Lee JY, Castillo R, Hixon MS, Pujol C, Doppalapudi VR, et al. A novel antibacterial agent with broad-spectrumactivity and enhanced potency against beta-lactamase-producingstrains. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46(5): 1262-8.
6.Singh S. Extended-Spectrum beta-Lactamases: An overview. Diagnostic Laboratory Services INC,1999.
7.Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39(6): 1211-33.
8.Thomson KS, Prevan AM, Sanders CC. Novelplasmidmediated beta-slactamases in enterobacteriaceae: emerging problems for new beta-lactam antibiotics. CurrClin Top Infect Dis 1996; 16: 151-63.
9.Al-Jasser AM. Extended-spectrum beta-lactamase (ESBLS): a global problem. Kuwait Med Journal 2006; 38(3): 171-85.
10.Medeiros AA. Nosocomial outbreak of multiresistant bacteria extended – spectrum β-lactamases have arrived in North America. J Ann Inter Med 1993;119: 428 -43.
11.Johann D, Pitout D, Daniel B, Gregson L, Deirdre L, Elsayed S. Community-wide out breaks of clonally related CTX-M-14 β-lactanase producing *Escherichia coli* strian in the calgaryhealt region. J ClinMicrobiol 2005; 43(6): 2844-9.
12. Rodriguez-Bano J, Dolores Navarro M, Romero L, Martinez L, Muniain M, Perea-Cano R, Pascual A, Clinical features and epidemiology of Acinetobacter baumannii colonization and infection in Spanish hospitals. J Clin Microbiol,2004. 25(10):819-24.
13.Paterson D L. Resituce in gram-negative bacteria: *enterobacteriaceae*. Am J Med 2006; 119: 20-8.
14.Soltan D, Shamkani F, Sharifi yazdi M, Falah Ch, Molaaghamirzaee H, Sabaghi A, et al. investigation of broad-spectrum β-lactamases (ESBLs) TEM-type in clinical isolates of *E.coli* by phenotypic and genotypic methods. Tabriz Med Jour . 2011; 340(1): 56-62.
15.Bonnet R. Growing group of extended- spectrum β-lactamase, the CTX enzymes. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48:1-14.
16. L. Hannah G, Cheryl B, Nancy S, Robyn A, Vickie B, Barbara B, Roberta C, Claudia C, Sharon H, Ray K, Marguerite N, Shari S, Patricia S, Melissa T-D'Angelo, Patricia M.Griffin P, Gerner S. Recommendation for diagnosis of shiga toxin- producing *Escherichia coli* infections by clinical laboratories. Morbidity and Mortality Wekly Report 2009; 58: 1-14.
17.Khalaf NG, Eletreby MM, Hanson ND. Characterization of CTX-M ESBL in *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* and *Kelebsiellapnemoniae* clinical isolates from Cairo, Egypt. BMC Infections Diseases 2009; 4: 48-53.
18.Tashakori M, Farokhnia M, Shikholislam N, Mirzaee T, Yousefi H, Mokhtari F, et al. Frequency distribution of maturation lactamase enzyme in *E. coli* isolates from patients with urinary tract infections in Ali ibn Abi Talib Hospital Rafsenjan. Rafsenjan Med Jour .2011; 1: 62-8.
19.Navin-Venezias, Hammer-Munz O, Schwartz D, Turner D, Kuzmenko B, Carmeli Y. Occurance and phenotiypiccharacterictics of extended spectrum β-lactamases member of the family Enterobaceriacea at Tel-Aviv medical center. J ClinMicrobiol 2003; 41(1):155-8.
20.Supria S, tankhiwale SV, Sarfaz A, Umesh H. Evalution of extended spectrum β-lactamase in urinary isolates. Indian J Med Res 2004; 120: 553-6.
21.Sharifi Yazdi MK, Azarsa MJ, Rastgar Lari A, Olia P, Falah Mahmudabadi J, Mola aghamirzaee H, et al. Spectrum β- lactamase frequency and CTX-M-1 group in *E. coli* strains isolated from urinary tract infections by, phenotypic methods and PCR in khoye. Rafsenjan Medl Jour 2010; 77: 53-61.
22.Sharma J, Sharma M, Ray P. Detection of TEM and SHV gene in *Escherichia coli* and *Kelebsiellapnemoniae*isolates tertiary care hospital from india. Indian J Med Res. 2010. 132:332-336.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ) **Original Articl**

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

Mortezavi R[1], Khosravani SAM[2], Naghavi NS[3]

[1]Department of Microbiology, Islamic Azad University, Branch of Flavarjan, Flavarjan, Iran, [2]Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, [3]Department of Biology, Islamic Azad University, Branch of Flavarjan, Flavarjan, Iran

Received: 25 Dec 2013 Accepted: 09 March 2014

Abstract

Background & aim: Urinary tract infections is one of the most common infectious diseases which many factors are involved, but bacteria such as *E.coli* is the most important agent of urinary tract infections. Antibiotic resistance as a major problem in the treatment and control of these infections is considered. The aim of this study was to determine the genes that cause resistance to beta-lactam family of antibiotics on *E.coli* isolated from urinary tract infections in Yasuj city.

Methods: In the present Cross-sectional study which was conducted over a period of seven months in 2013, 123 samples of *E.coli* were collected from Yasuj hospitals for molecular analysis of TEM, SHV CTX-M genes, causing antibiotic resistance by (PCR) method.Data were analyzed using SPSS statistical test.

Results: PCR showed that the gene frequency of TEM (50.94%), SHV (47.16%), CTX-M-9 (35.84%), and CTX-M-10, (32.07%) and the highest and lowest prevalent of genes were related to TEM and CTX-M10 in *E.coli* isolated from urinary tract infections respectively.

Conclusion: According to the high prevalence of resistance to beta-lactam antibiotics, the current study showed that the noted genes play an important role in facilitating the spread of antimicrobial resistance in this region.

Key words: E. coli, Urinary tract Infection, Gene

***Corresponding author: Khosravani SAM**, Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran
Email: khosravani2us@yahoo.com