مقاله پژوهشي

ارمغان دانش، مجله علمي پژوهشي دانشگاه علوم پزشكي ياسوج
دوره 19، شماره3، خرداد 1393(شماره پي در پي86)

# تعيين مولكولي فراواني ژن‌هاي TEM، CTX-M و SHV در سويه‌هاي اشرشياكولي مقاوم به آنتي‌بيوتيك‌هاي بتالاكتام جدا شده از عفونت‌هاي ادراري بيمارستان‌هاي شهر ياسوج

رويا مرتضوي[1]، عبدالمجيد خسرواني[2*]، نفيسه السادات نقوي[3]

[1]گروه ميكروبيولوژي، دانشگاه آزاد اسلامي، واحد فلاورجان، فلاورجان، ايران، [2]گروه ميكروب شناسي، دانشگاه علوم پزشكي ياسوج، ياسوج، ايران،[3] گروه زيست شناسي دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، فلاورجان، ايران

تاريخ دريافت: 1392/10/3 تاريخ پذيرش: 1392/12/17

## چكيده

**زمينه و هدف:** عفونت‌هاي ادراري يكي از بيماري‌هاي عفوني رايج مي‌باشند كه عوامل متعددي از جمله باكتري اشرشياكولي در ايجاد آن نقش مهمي دارد. هدف اين مطالعه تعيين ژن‌هاي ايجاد كننده مقاومت نسبت به آنتي‌بيوتيك‌هاي خانواده بتالاكتام در باكتري اشرشياكولي جدا شده از عفونت‌هاي ادراري انسان در شهر ياسوج بود.

**روش بررسي:** در اين مطالعه توصيفي ـ تحليلي كه طي يک دوره 7 ماهه در سال 1391انجام شد، تعداد 123 نمونه باكتري اشرشياكولي از بيمارستان‌هاي شهر ياسوج جمع آوري شد. براي بررسي مولكولي ژن‌هايCTX-M ، SHV و TEMM ايجاد كننده مقاومت آنتي بيوتيكي از روش PCR استفاده شد. داده‌ها با آزمون آماري تی دانشجويی تجزيه و تحليل شدند.

**يافته‌ها:** فراواني ژن‌هاي TEM(50/94 درصد)، SHV (47/16 درصد)، CTX-M-9(35/84 درصد) ، CTX-M-10 (32/07 درصد)، بود. بدين ترتيب بيشترين شيوع مربوط به ژن TEM و كمترين شيوع مربوط به ژن CTX-M10 بود.

**نتيجه‌گيري:** با توجه به شيوع بالاي مقاومت در برابر آنتي‌بيوتيك‌هاي بتا لاكتام، اين مطالعه نشان داد كه وجود ژن‌هاي ذكر شده نقش مهمي در تسهيل گسترش مقاومت ضد ميكروبي در اين منطقه دارد.

**واژه های كليدي:** *اشرشياكولي*، عفونت ادراري، ژن

*نويسنده مسئول: دكتر عبدالمجيد خسرواني، ياسوج، دانشگاه علوم پزشكي، دانشكده پزشكی، گروه ميكروب شناسي

**Email:** khosravani2us@yahoo.com

**مقدمه**

عفونت‌هاي ادراري يکي از بيماري‌هاي عفوني رايج مي‌باشند که ممکن است داراي علايم و يا بدون علايم باشند. اگر چه عوامل مختلفي در ايجاد عفونت‌هاي ادراري دخالت دارند، اما باکتري‌ها عامل اصلي عفونت‌هاي ادراري مي‌باشند(1). در اين ميان، باکتري *اشرشياکولي* نقش مهمي در ايجاد اين عفونت دارد. تخمين زده شده است که حدوداً 50ـ40 درصد از زنان حداقل يک بار عفونت دستگاه ادراري را در طول زندگي خود تجربه کرده اند و 33 درصد از زنان در ايالات متحده که از عفونت دستگاه ادراري رنج مي‌برند نياز به درمان ضد ميکروبي در سن 24 سالگي را دارند (3 و2). عفونت‌هاي دستگاه ادراري يکي از علت‌هاي شايع بيماري ناشي از تب درکودکان خردسال است. اين عفونت‌ها در 1 درصد پسران و 8ـ3 درصد از دختران تشخيص داده شده‌اند(4). مقاومت آنتي‌بيوتيکي به عنوان يک مشکل اساسي در درمان و کنترل عفونت‌ها محسوب مي‌شود. باکتري‌هاي توليد کننده بتالاکتامازهاي وسيع الطيف به واسطه توانايي هيدروليز اکثر آنتي‌بيوتيک‌هاي بتالاکتام به عنوان يک مشکل اساسي در جوامع پزشکي مطرح هستند. بنابراين اين بتالاکتامازها جديد بوده و (بتالاکتاماز هاي وسيع الطيف) ESBL نام‌گذاري شده‌اند. شيوع مقاومت آنتي در باکتري‌هاي جدا شده از عفونت‌هاي ادراري رو به افزايش بسيار مهم است.

استراتژي‌هاي مختلفي به وسيله باکتري‌ها به کار گرفته مي‌شود، تا از اثرات زيان بار آنتي‌بيوتيک‌ها مصون بمانند. يکي از مهم‌ترين استراتژي‌ها که در باکتري‌هاي گرم منفي به خصوص باکتري اشرشياکولي عليه آنتي‌بيوتيک‌هاي بتالاکتام گرفته مي‌شود، توليد آنزيم هاي بتالاکتامازي است(5).

اين آنزيم‌ها از طريق هيدروليز هسته مرکزي در آنتي‌بيوتيک‌هاي بتالاکتام باعث غير فعال شدن آن‌ها مي‌شوند.

پيدايش آنتي‌بيوتيک‌هاي جديد از قبيل سفالوسپورين‌هاي وسيع الطيف، ازترئونام‌ها و رواج استفاده از آن‌ها در درمان بيماري‌هاي عفوني باكتريال منجر به بروز دسته جديدي از اين آنزيم‌ها به نام بتالاكتاماز وسيع‌الطيف شده است(6). مقاومت به آنتي‌بيوتيک‌هاي بتا لاكتام مسئله رو به رشدي است و توليد بتالاكتامازها، معمول‌ترين مكانيسم مقاومت دارويي است. پايداري سويه‌هاي باكتريايي نسبت به بتالاكتام‌ها در اثر توليد زياد بتالاكتامازهاو بروز جهش در آن ها مي‌باشد. الگوهاي مختلفي براي طبقه‌بندي بتالاكتامازها وجود دارد. يكي از اين روش‌ها كه عمدتاً از آن استفاده مي‌شود به وسيله مديروس و جكوبي ابداع شده كه بر اساس آن نوع سوبسترا، ممانعت كنندگي و خصوصيات فيزيكي نظير وزن مولكولي و نقطه ايزوالكتريک بتالاكتامازها،به 4گروه اصليA،B،C وD طبقه‌بندي مي‌شوند. بر اساس اين طبقه‌بندي، آنزيم‌هاي وسيع‌الطيف در گروه A قرار گرفته و شامل مشتقات آنزيم‌هاي موتاسيون يافته TEM وSHV مي‌باشد(8 و7).

بتالاكتامازهاي تيپ CTX-M به طور گسترده از طريق پلاسميدهاي حامل ESBL كه فاقد TEM و SHV مي‌باشند منتشر گرديد(10 و9). فاكتورهاي متفاوتي باعث ايجاد ارگانيسم‌هاي توليد كننده ESBL مي‌شوند از جمله؛ بستري شدن در بيمارستان به خصوص در بخش مراقبت‌هاي ويژه (ICU) استفاده از كاتاترها و استفاده زياد از آنتي‌بيوتيک‌ها بيشترين عفونت با ميكروارگانيسم‌هاي توليد كننده ESBL بيماران بستري در بخش مراقبت‌هاي ويژه مي‌باشد، اما اين عفونت‌ها در ساير بخش‌هاي بيمارستاني هم اتفاق مي‌افتد. مطالعات قبلي نشان داد كه CTX-M-β-Lactamase توليد شده به وسيله اشرشياكولي به عنوان غالب‌ترين نوع ESBL در دنيا بوده است(11). هدف اين مطالعه بررسي وجود ژن‌هاي بتالاكتامازي با استفاده از روش PCR در سويه‌هاي

اشرشیاکولي جدا شده از عفونت‌هاي ادراري در شهر یاسوج بود.

**روش بررسي**

طي یک دوره 7 ماهه در سال 91 تعداد 200 نمونه ادراري مثبت از بیمارستان‌ها و آزمایشگاه‌هاي بالیني شهر یاسوج جمع‌آوري شدند. این نمونه‌ها به آزمایشگاه میکروب‌شناسي دانشگاه علوم پزشکي یاسوج براي انجام آزمایش‌هاي بعدي منتقل شدند. نمونه‌ها مربوط به هر دو جنس(مرد و زن) بودند و بر روي محیط کشت انتخابي ائوزین متیلن بلو کشت داده شده و به مدت 24 ساعت در دماي 37 درجه سانتي‌گراد انکوبه شدند. از طریق انجام تست‌هاي بیوشیمیایي شامل تست هیدرولیز اوره، آزمایش تولید اندول، تست MR-VP و استفاده از محیط TSI بر روي کلني ها، 123 ایزوله اشرشیاکلاي شناسایي شدند.

شناسایي فنوتیپي باکتري‌هاي تولید کننده ESBL از دیسک‌هاي ترکیبي سفتازدیم ـ کلاولانیک اسید و سفوتاکسیم-کلاولانیک اسید استفاده شد. دیسک‌ها مربوط به شرکت Rosco بود. باکتري اشرشیا کلي بر روي محیط مولر هینتون آگار به روش کشت چمني به وسیله سواپ سر پنبه‌اي کشت داده شد، سپس دیسک حاوي سفوتاکسیم ـ کلاولانیک اسید در مرکز پلیت قرار داده شد و دیسک آنتي‌بیوتیک سفوتاکسیم به فاصله 30 میلي‌متر از دیسک ترکیبي در پلیت قرار داده شد. براي آنتي‌بیوتیک دیگر هم این روش استفاده شد. سپس پلیت‌ها را به مدت 24 ساعت در انکوباتور، دماي 37 درجه سانتي‌گراد نگهداري شد. پس از این مدت افزایش قطر هالي عدم رشد در اطراف دیسک‌هاي ترکیبي سفوتاکسیم ـ کلاولانیک اسید و سفتازدیم ـ کلاولانیک اسید به اندازه 5 میلي‌متر نسبت به هاله عدم رشد اطراف هر یک از دیسک‌هاي سفوتاکسیم و سفتازدیم به تنهایي نشان دهنده مثبت بودن آزمایش یعني تولید آنزیم بتالاکتاماز

وسيع الطيف به وسيله باكتري بود.

استخراج DNA به وسيله كيت استخراج DNA به شماره DN8115C محصول شركت سيناژن انجام شد. براي بررسي مولكولي باكتري‌هاي توليد كننده ESBL از روش PCR استفاده شد. براي اين منظور واكنش PCR در حجم نهايي 25 ميكروليتر شامل؛ 0/4 ميكروليتر DNTP، 0/8 ميكروليتر كلريد منيزيم، 2 ميكروليتر بافر PCR، 16/8 ميكروليتر آب مقطر استريل، 1 ميكروليتر پرايمر فوروارد، 1 ميكروليتر پرايمر DNA Template 0/25 ميكروليتر Taqpolymerase و 2/75 ميكروليتر DNA Template انجام شد و براي نمونه كترل مثبت از سوش استاندارد(ATCC35218) *E.coli* 1763 استفاده شد. پرايمرهاي ذكر شده براي بررسي حضور ژن‌هاي TEM, SHV, CTX-M9, CTXM10 استفاده شدند (13 و12).

برنامه زماني در دستگاه ترموسايكلر براي 35 سيكل جهت بررسي حضور ژن‌ها شامل اين موارد بود؛ First Denaturation 95 درجه سانتي‌گراد به مدت 5 دقيقه، Denaturation بعدي 95 درجه سانتي‌گراد به مدت 45 ثانيه، دماي Annealing براي ژن TEM، 58 درجه سانتي‌گراد، براي ژن CTX-M9 و CTXM10 60 درجه سانتي گراد و براي ژن SHV 62 درجه سانتي‌گراد، 72Extention درجه سانتي‌گراد به مدت 1 دقيقه و Final Extention 72 درجه سانتي‌گراد به مدت 7 دقيقه. رنگ نشانگر از تركيب رنگ برموفنل بلو و يک ماده غليظ وچسبنده مثل گليسرول يا سوكروز تشكيل شده كه ويسكوزيته نمونه با اين بافر افزايش يافته وانتقال آن به داخل چاهک ژل تسهيل مي‌گردد. ملكول‌هاي DNA به علت داشتن فسفات كه داراي بافر منفي است به سمت قطب مثبت حركت مي‌كنند. رنگ نشانگر نيز خود باردار شده همراه DNA به علت داشتن فسفات كه داراي بار منفي است به سمت قطب مثبت حركت مي‌كند. همراه نمونه‌ها ماركر DNA جهت تعيين وزن باند

مورد نظر در الکتروفورز استفاده شد. الکتروفورز نمونه‌ها در ولتاژ ثابت 90 ولت به مدت حدوداً یک ساعت انجام شد و سپس زیر نور UV مشاهده شد.

پس از پایان کار دستگاه ترموسایکلر، محصول PCR جهت بررسي ژن‌ها بر روي ژل آگاروز منتقل گردید. براي ردیابي ژن‌هاي هدف تکثیر یافته درمحصول PCR نمونه‌هاي آزمایش شده از ژل یک درصد آگاروز استفاده شد. براي این منظور یک گرم پودر آگاروز در100 میلي‌لیتر بافر TBE حل کرده و پس از اضافه کردن 5 میکرولیتر رنگ اتیدیوم بروماید (محصول شرکت سینا ژن) در سیني مخصوص الکتروفورز ریخته شد. جهت انجام الکتروفورز 10 میکرولیتر از محصول PCR با 4 میکرولیتر رنگ نشانگر لودینگ بافر، مخلوط و به چاهک ژل منتقل شد.

داده‌هاي جمع‌آوري شده با نرم‌افزار SPSS و آزمون آماري تي دانشجويي تجزیه و تحلیل شدند.

## یافته‌ها

پس از انجام تست آنتي‌بیوگرام براي شناسایي فنوتیپي باکتري‌هاي تولید کننده ESBL با استفاده از دیسک‌هاي ترکیبي سفوتاکسیم ـ کلاولانیک اسید و سفتازدیم ـ کلاولانیک اسید مشخص شد که 53 نمونه ESBL مثبت بودند.

محصول الکتروفورز واکنش PCR انجام شده در تصویر 1 نشان داده شده است.

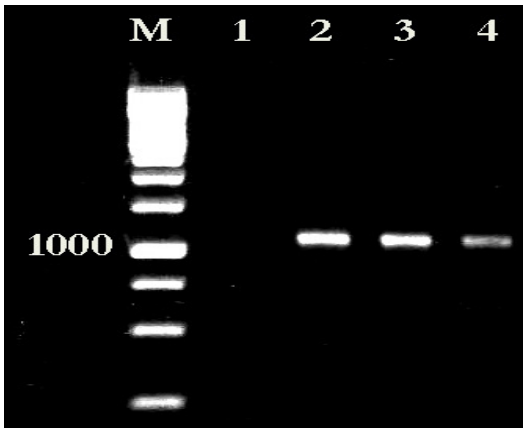
نتایج حاصله نشان داد، بیشترین مقاومت باکتري نسبت به آنتي بیوتیک نالیدیکسیک اسید و کمترین میزان مقاومت نسبت به آنتي بیوتیک ایمي‌پنم بوده است(جدول 1).

بیشترین میزان شیوع 27 مورد (50/94 درصد)مربوط به ژن TEM و کمترین میزان شیوع 25 مورد (32/7 درصد) مربوط به ژن CTX-M10 بود. از مجموع 123 ایزوله، 27 نمونه (50/94 درصد)

داراي ژن TEM، 25 نمونه (47/16 درصد) داراي ژن SHV، 19 واحد ژن (35/84 درصد) CTX-M 19، 17 ايزوله (32/70 درصد) واجد ژن CTX-M10 بودند و هم‌چنين 12 سويه (22/64 درصد) داراي هر دو ژن SHV و TEM، 9 سويه (16/98 درصد) داراي ژن‌هاي CTX-M9 و TEM، (15/09 درصد) 8 نمونه داراي ژن‌هاي CTX-M10 و TEM و 7 (13/2) ايزوله واجد SHV و CTX-M9، (11/32 درصد) داراي ژن‌هاي CTX-M10 و SHV، 2 نمونه (3/2 درصد) داراي ژن‌هاي CTX-M9 و CTXM10 و 2 (3/2 درصد) 2 واجد 3 ژن ، CTX-M9 و CTX-M10 بودند.

**جدول1: الگوي مقاومت آنتي بيوتيكي باكتري اشرشيا كلي جدا شده از بيماران با عفونت ادراري**

| آنتي بيوتيک | حساس | حد واسط | مقاوم | جمع |
|---|---|---|---|---|
| نالیدیکسیک اسید | 50 (40/65) | 10 (8/14) | 63 (51/21) | 123 (100) |
| سفوتاکسیم | 67 (53/6) | 8 (6/38) | 48 (39/02) | 123 (100) |
| سفتازدیم | 81 (65/85) | 20 (16/31) | 22 (17/88) | 123 (100) |
| سیپروفلوکساسین | 85 (65/10) | 10 (8/14) | 28 (22/76) | 123 (100) |
| ایمی‌پنم | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |




**تصوير 1: محصول الكتروفورز واكنش PCR ژن‌هاي بررسي شده، M؛ سايز ماركر، چاهک 1؛ كنترل منفي، چاهک 2 و3؛ ايزوله هاي داراي ژن TEM ، چاهک4؛ كنترل مثبت**

**بحث**

امروزه عفونت‌هاي ادراري يكي از بيماري‌هاي عفوني رايج در

جهان به شمار مي‌رود. باكتري‌ها عامل اصلي عفونت‌هاي ادراري مي‌باشند كه در ميان آنها اشرشياكلي نقش مهمي در ايجاد اين عفونت‌ها دارد. از طرفي مقاومت آنتي‌بيوتيكي به عنوان يک مشكل اساسي در درمان و كنترل اين عفونت‌ها محسوب مي‌شود (1). هدف اين مطالعه تعيين ژن‌هاي ايجاد كننده مقاومت نسبت به آنتي‌بيوتيک‌هاي خانواده بتالاكتام در باكتري اشرشياكولي جدا شده از عفونت‌هاي ادراري انسان در شهر ياسوج بود.

اين مطالعه نشان داد بيشترين فراواني ژن سويه‌هاي اشرشياكولي مقاوم آنتي‌بيوتيک‌هاي بتالاكتام مربوط به ژن TEM و كمترين فراواني مربوط به ژن CTX-M10 بود. در تحقيقي كه به وسيله بانت و همكاران در سال2004 انجام گرفت افزايش چشمگيري در شيوع ارگانيسم‌هاي توليد كننده CTX-M *اشرشيا كولي* ديده شد كه تقريباً با مطالعه حاضر هم‌خواني دارد (15). در سال‌هاي اخير آنزيم CTX-M به عنوان شايع‌ترين نوع ESBL در اروپا، آمريكاي شمالي و آسيا گزارش شده و انواع تيپ‌هاي مختلف از اين نوع آنزيم شناسايي شدند (17 و16).

با توجه به شيوع بالاي ESBLها (64 درصد) در تهران نسبت به كشورهاي مختلف جهان، احتمالاً يكي از مهم‌ترين دلايل اين موضوع، مصرف خود سرانه و بيش از حد آنتي‌بيوتيک‌هاي بتالاكتام در ايران مي‌باشد (18). در مطالعه تشكري و همكاران كه در سال 1389 در رفسنجان انجام گرفت ميزان توليد ESBL، 10/27 درصد گزارش گرديد، ولي شيوع ESBL در فلسطين اشغالي 12 درصد گزارش شد كه در مقايسه با مطالعه حاضر از شيوع كمتري برخوردار بود (20 و19). بررسي ديگري حاكي از آن است كه ميزان مولدين ESBL، را در بين ايزوله‌هاي مولد عفونت ادراري 18/5 درصد گزارش كرده است(21). در مطالعه‌اي كه به وسيله شريفي يزدي و همكاران در تهران انجام شد، ميزان شيوع ژن‌هاي TEMو SHV، 87/1 درصد و 70/6 درصد گزارش شد كه در مقايسه با مطالعه حاضر شيوع نسبتاً بيشتري را نشان مي‌دهد (21). در پژوهشي كه در سال 2010 به وسيله شارما و همكاران در هند (22) بر روي شناسايي ژن SHV و TEM در *اشرشياكولي* و *كلبسيلا پنوموني‌يه* انجام گرفت، از

مجموع 200 ايزوله اشرشياكولي و *كلبسيلا پنوموني‌يه*، 70 نمونه اشرشياكولي و 60 نمونه *كلبسيلا پنوموني‌يه* توليد كننده ESBL بودند كه از اين تعداد 56 نمونه داراي ژن TEMو 60 نمونه داراي ژن SHV بودند(22). فراوان‌ترين ESBL يافت شده در اين مطالعه و مطالعات مشابه TEM بود در حالي كه مطالعات بسياري فراوان ترين را SHV گزارش كردند. مقايسه اين نتايج نشان مي‌دهد كه ميزان ESBL در سويه‌هاي ايزوله شده از كشورهاي مختلف و هم‌چنين در يک كشور از يک بيمارستان با بيمارستان ديگر متفاوت مي‌باشند، كه اين مسئله بستگي به سيستم كنترل عفونت و نحوه درمان بيماران آن بيمارستان دارد.

## نتيجه گيري

با توجه به ميزان بالاي توليدESBL مي‌توان به اشرشياكولي به عنوان يک باكتري توليد كننده ESBL اشاره كرد. توليد ESBL تهديدي بزرگ براي جامعه به شمار مي‌رود. بنابراين براي درمان ارگانيسم‌هاي توليد كننده آنزيم‌هاي بتالاكتام پزشكان و بيمارستان‌ها بايد در تجويز آنتي‌بيوتيک‌ها دقت نمايند. هم‌چنين سويه‌هايي كه در برابر آنتي‌بيوتيک‌هاي سفتازديم و سفوتاكسيم مقاومت نشان داده‌اند، بايد از نظر توليد ESBL مورد بررسي قرار گيرند.

## تقدير و تشكر

اين مطالعه حاصل پايان نامه كارشناسي ارشد ميكروب‌شناسي مصوب دانشگاه آزاد اسلامي واحد فلاورجان بود كه با همكاري گروه ميكروب‌شناسي دانشكده پزشكي دانشگاه علوم پزشكي ياسوج 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

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]Department of Microbiology, Yasuj University of Medical Scienses, 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**, Department of Microbiology, Yasuj University of Medical Scienses, Yasuj, Iran
**Email:** khosravani2us@yahoo.com