مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و پنجم/شماره‌ی ۴۳۰/هفته‌ی دوم تیر ماه ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۲۷

فراوانی ژن‌های blaCTX-M، blaTEM و blaSHV در ایزوله‌های Escherichia Coli جدا شده از نمونه‌های ادراری کودکان در کرمانشاه

غلامرضا یوسفی فتمه‌سری[۱]، میترا همتی[۲]، سیدحمیدرضا مرتضوی[۱]، فیض‌اله منصوری[۳]، محسن عزیزی[۴]، میثاق اعتمادی مجد[۵]، لیلی دولتی[۶]، کمال احمدی[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: Escherichia coli به عنوان عامل اصلی عفونت‌های ادراری در بیشتر گروه‌های سنی از جمله کودکان، به علت تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز طیف گسترده (Extended-spectrum beta-lactamases یا ESBL) توانایی کسب مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالایی دارد. هدف از انجام این مطالعه، تعیین فراوانی Escherichia coli مولد بتالاکتامازهای طیف گسترده در نمونه‌های ادراری کودکان در کرمانشاه بود.

روش‌ها: در مطالعه‌ی توصیفی- تحلیلی حاضر، در مجموع تعداد ۹۵ ایزوله‌ی Escherichia coli با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی اختصاصی شناسایی شد. پس از تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن، ایزوله‌های مولد ESBL با استفاده از روش فنوتیپی دیسک ترکیبی مشخص شد. فراوانی ژن‌های blaCTX-M، blaTEM و blaSHV با استفاده از پرایمرهای اختصاصی آن‌ها و روش Polymerase chain reaction (PCR) تعیین گردید.

یافته‌ها: از مجموع ۹۵ ایزوله‌ی Escherichia coli، ۲۴ نمونه (۲۵/۳ درصد) دارای ESBL و ۷۱ نمونه (۷۴/۷ درصد) فاقد ESBL بودند. فروانی ژن‌های blaCTX-M، blaTEM و blaSHV به ترتیب شامل ۴۷/۵، ۳۷/۵ و ۴/۱۷ درصد بود. بیشترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۸۳/۲ درصد)، سفکسیم (۶۹/۵ درصد) و کوتریموکسازول (۶۷/۴ درصد) و همچنین، بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی نسبت به ایمی‌پنم (۹۰/۵ درصد)، نروفلوکساسین (۸۶/۳ درصد) و نیتروفورانتوئین (۸۳/۲ درصد) مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه، شیوع ESBL درکودکان برابر با ۲۵/۳ درصد و بیشترین فراوانی در ژن CTX-M بود. با توجه به این یافته‌ها و سطح به نسبت بالای مقاومت به سفالوسپورین‌های نسل سوم مثل سفکسیم، لزوم انجام مراقبت‌های بیشتر پزشکی در استفاده‌ی مناسب و صحیح از آنتی‌بیوتیک‌ها و مطالعات بیشتر در این زمینه پیشنهاد می‌گردد.

واژگان کلیدی: Escherichia coli، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، بتالاکتامازهای طیف گسترده

ارجاع: یوسفی فتمه‌سری غلامرضا، همتی میترا، مرتضوی سیدحمیدرضا، منصوری فیض‌اله، عزیزی محسن، اعتمادی مجد میثاق، دولتی لیلی، احمدی کمال. **فراوانی ژن‌های blaCTX-M، blaTEM و blaSHV در ایزوله‌های Escherichia Coli جدا شده از نمونه‌های ادراری کودکان در کرمانشاه.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۳۰): ۵۵۷-۵۵۱

مقدمه

عفونت‌های دستگاه ادراری (Urinary tract infection یا UTI) از جمله شایع‌ترین عفونت‌های باکتریال در کودکان و نوزدان محسوب می‌شود. با وجود شیوع بیشتر این عفونت‌ها در جنس مؤنث، در اوایل زندگی در پسرها به نسبت جنس مخالف بیشتر رخ می‌دهند (۳-۱). پاتوژن‌های مختلفی عامل این عفونت‌ها هستند، که در این میان

۱- استادیار، گروه اطفال، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۲- دانشیار، گروه اطفال، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۳- دانشیار، گروه بیماری‌های عفونی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۴- گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۵- دانشجوی پزشکی، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۶- گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه کردستان، کردستان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: کمال احمدی
Email: k.ahmadi@kums.ac.ir

باکتری Escherichia coli (E.coli) خود به تنهایی عامل به ترتیب حدود ۹۰ و ۵۰ درصد از عفونت‌های ادراری کسب شده از جامعه و مراکز درمانی می‌باشد (۵-۴). در درمان عفونت‌های حاصل از Escherichia coli از آنتی‌بیوتیک‌های مختلفی نظیر انواع بتالاکتام استفاده می‌گردد. آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام به دلیل داشتن طیف اثر گسترده و همچنین، سمیت انتخابی بر علیه اکثر باکتری‌ها، از جایگاه ویژه‌ای در درمان بیماری‌های عفونی مختلف برخوردار هستند. بتالاکتامازها، آنزیم‌های باکتریایی می‌باشند که با هیدرولیز حلقه‌های انواع مختلف بتالاکتام شامل پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها، می‌توانند باعث بی‌اثر کردن این داروها شوند (۶). بتالاکتامازهای طیف گسترده (Extended-spectrum beta-lactamases یا ESBL) با انتشار مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در سراسر دنیا، از جمله مشکلات موجود در درمان بیماری‌های عفونی مختلف قلمداد می‌شود. این آنزیم‌ها با تنوع بالا، در کلاس A از بتالاکتامازها قرار دارند و و در طول زمان، توانایی تغییر از مکانی به مکان دیگر را دارند (۷). در میان بتالاکتامازهای مختلف، CTX-M دارای گستردگی و توانایی اثر بیشتری بر روی داروهای بتالاکتام است، اما رایج‌ترین بتالاکتاماز موجود در بین خانواده‌ی انتروباکتریاسه‌ها، ژن TEM محسوب می‌شود (۸). به دلیل این که ESBL در بیشتر موارد توسط پلاسمید حمل می‌شود و توانایی انتقال هم‌زمان ژن‌های مقاومت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها را هم دارد، می‌تواند باعث انتشار طیف وسیعی از مقاومت‌های میکروبی و به دنبال آن محدود کردن استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های مرسوم شود (۹). باکتری‌های مولد آنزیم‌های ESBL به دلیل مقاومت بالا به آنتی‌بیوتیک‌های رایج، می‌توانند در روند درمان بیماری‌های عفونی اختلال ایجاد کنند و حتی در بعضی از موارد باعث مرگ و میر در بیماران شوند (۱۰). هدف از انجام این پژوهش، تعیین فراوانی ژن‌های بتالاکتاماز طیف گسترده (TEM، SHV و CTX-M) در ایزوله‌های Escherichia coli جدا شده از نمونه‌های ادراری کودکان بیمارستان محمد کرمانشاهی شهر کرمانشاه بود.

روش‌ها

این مطالعه‌ی توصیفی- مقطعی در فاصله‌ی زمانی ۹ ماه (از بهمن ماه ۱۳۹۴ تا آبان ماه ۱۳۹۵) بر روی ۹۵ ایزوله‌ی Escherichia coli جداسازی شده از نمونه‌های ادراری بیماران سرپایی کمتر از ۱۵ سال بیمارستان محمد کرمانشاهی شهر کرمانشاه انجام گرفت. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری و انتقال به آزمایشگاه، با استفاده از لوپ استاندارد در شرایط استریل بر روی محیط‌های اختصاصی MacConkey agar و Eosin methylene blue کشت داده شد. سپس، برای شناسایی حضور باکتری Escherichia coli از روش‌های اختصاصی شامل کشت در محیط Indole، Methyl red، Voges-Proskauer و Citrate (IMVIC) و Triple sugar iron (TSI) استفاده گردید و در نهایت تعداد ۹۵ ایزوله‌ی Escherichia coli تأیید شده مورد بررسی قرار گرفت.

سپس با استفاده از روش دیسک دیفیوژن (Kirby-Bauer) و ۱۴ دیسک آنتی‌بیوتیکی (MAST, England) شامل سفکسیم، سفتریاکسون، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، کوتریموکسازول، ایمی‌پنم، آمیکاسین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسیلین، نروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید، نیتروفورانتوئین، آزترئونام، و آمپی‌سیلین، برای تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها استفاده شد. برای این کار، در ابتدا سوسپانسیونی از کشت باکتری پس از مقایسه با استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند بر روی محیط Muller-Hinton (Merck, Germany) کشت داده و دیسک‌های مورد بررسی با فاصله‌ی مناسب از هم در روی آن‌ها قرار داده شد و پس از گرم‌خانه‌گذاری، نتایج به دست آمده از آن‌ها با جداول استاندارد Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) مورد مقایسه قرار گرفت. از سویه‌ی استاندارد Escherichia coli ATCC 25922 به عنوان شاهد کیفی استفاده شد. ایزوله‌هایی که قطر هاله‌ی عدم رشد آن‌ها حداقل برای یکی از آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون و آزترئونام به ترتیب ۲۲، ۲۷، ۲۵ و ۲۷ میلی‌متر بود، از نظر حضور بتالاکتامازهای طیف گسترده مورد بررسی قرار گرفتند (۱۱).

در ادامه، برای انجام روش تأییدی تولید ESBL یا Phenotypic confirmatory test (PCT) از روش دیسک ترکیبی استفاده شد. در این روش از دیسک‌های ۳۰ میکروگرمی سفوتاکسیم و سفتازیدیم در مجاورت دیسک مرکب آن‌ها با ۱۰ میکروگرم کلاولانیک اسید (MAST, England) در محیط Muller-Hinton و مشابه روش انتشار از دیسک انجام گرفت. در صورتی که قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری در اطراف دیسک ترکیبی حداقل ۵ میلی‌متر یا بیشتر از قطر هاله‌ی عدم رشد دیسک منفرد همان آنتی‌بیوتیک بود، به عنوان ایزوله‌ی ESBL مثبت Escherichia coli شناسایی گردید. در این جا از سویه‌ی استاندارد Escherichia coli ATCC 35218 به منظور کنترل کیفی سویه‌های مولد بتالاکتاماز طیف گسترده استفاده شد.

سپس، برای انجام واکنش Polymerase chain reaction (PCR)، DNA نمونه‌ها با روش Boiling استخراج شد و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) فراوانی ژن‌های SHV، TEM و CTX-M مورد بررسی قرار گرفت (۱۰). واکنش PCR به شکل تکی برای هر کدام از ژن‌ها با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر Mastermix (سیناکلون، ایران)، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها، ۳ میکرولیتر DNA باکتری و آب‌مقطر استریل تا حجم ۲۵ میکرولیتر بود.

جدول ۱. توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی Escherichia coliهای Extended-spectrum Beta-lactamases (ESBLs)

نام ژن	توالی نوکلئوتیدی پرایمرها (3́-5́)	دمای Annealing (°c)	وزن محصول (bp)	رفرنس
blaCTX-M– F	TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA	۵۱	۵۴۴	۱۰
blaCTX-M-R	CGATATCGTTGGTGGTGCCATA			
blaTEM - F	AGTGCTGCCATAACCATGAGTG	۶۱	۴۳۱	۱۰
blaTEM- R	CTGACTCCCCGTCGTGTAGATA			
blaSHV- F	ATTTGTCGCTTCTTTACTCGC	۶۴	۹۲۸	۱۰
blaSHV- R	TTTATGGCGTTACCTTTGACC			

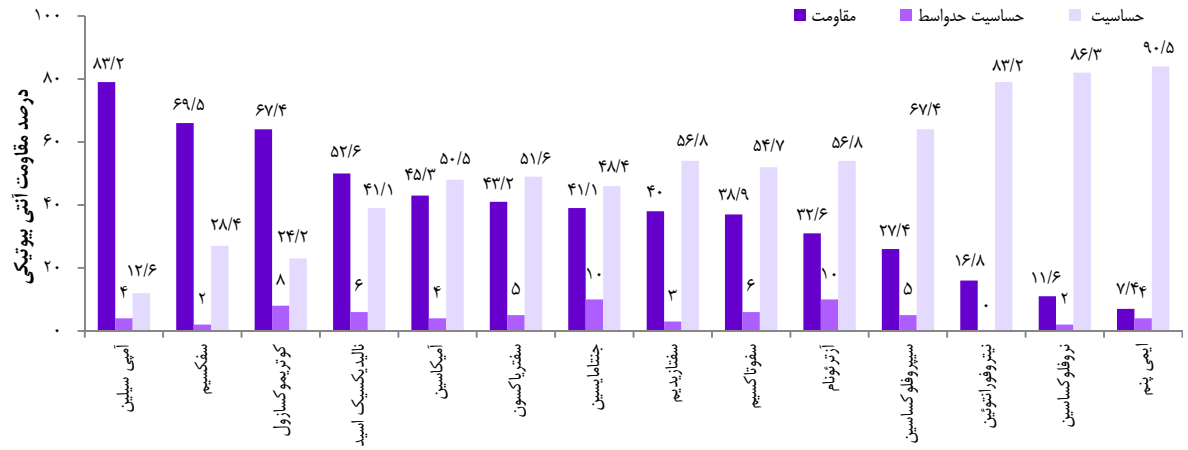
چرخه‌ی دمایی واکنش PCR برای هر سه ژن بتالاکتاماز مورد بررسی، شامل ۵ دقیقه دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و سپس، ۳۵ چرخه‌ی اصلی شامل دناتوراسیون در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، تکثیر در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و در انتها، ۵ دقیقه تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد بود (جدول ۱). در نهایت، محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید، مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج به دست آمده، به همراه مشخصات نمونه‌های مورد بررسی جمع‌آوری گردید و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

در این مطالعه، از ۹۵ ایزوله‌ی Escherichia coli شناسایی شده، ۵۳ مورد (۵۵/۸ درصد) در پسران و ۴۲ مورد (۴۴/۲ درصد) در دختران بود. با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایش دیسک دیفیوژن، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در برابر آمپی‌سیلین (۸۳/۲ درصد)، سفکسیم (۶۹/۵ درصد) و کوتریموکسازول (۶۷/۴ درصد) و همچنین، بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی نسبت به ایمی‌پنم (۹۰/۵ درصد)، نروفلوکساسین (۸۶/۳ درصد) و نیتروفورانتوئین (۸۳/۲ درصد) مشاهده شد (شکل ۱). از مجموع این ایزوله‌ها، تعداد ۲۴ ایزوله (۲۵/۳ درصد) به عنوان ESBL مثبت و ۷۱ ایزوله (۷۴/۷ درصد) به عنوان ESBL منفی شناسایی شد. فراوانی ژن‌های بتالاکتاماز طیف گسترده برای CTX-M، TEM و SHV به ترتیب شامل ۱۱ (۴۷/۵ درصد)، ۹ (۳۷/۵ درصد) و ۱ (۴/۱۷ درصد) تعیین گردید. از نظر آماری، بین حضور ژن‌های ESBL با متغیرهای جنس و سن در بیماران رابطه‌ی معنی‌داری وجود نداشت ($P > ۰/۰۵۰$)، اما بین وجود ژن CTX-M در ایزوله‌های Escherichia coli با مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم ($P = ۰/۰۵۰$)، سفوتاکسیم ($P = ۰/۰۲۴$) و سیپروفلوکساسین ($P = ۰/۰۰۱$) رابطه‌ی معنی‌داری مشاهده شد. فراوانی گروه‌های سنی و ESBLs شناسایی شده در جدول ۲ آمده است. نتایج PCR ژن‌های blaCTX-M، blaTEM و blaSHV در شکل ۲ آمده است.

بحث

در این مطالعه، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در برابر آمپی‌سیلین (۸۳/۲ درصد)، سفکسیم (۶۹/۵ درصد) و کوتریموکسازول (۶۷/۴ درصد) مشاهده شد. علیزاده طاهری و همکاران، در پژوهش خود مقاومت به دو آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین و کوتریموکسازول را ۹۳/۶ و ۴۸/۹ درصد گزارش کردند (۱۲).



شکل ۱. درصد مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های Escherichia coli در کودکان

جدول ۲. فراوانی ایزوله‌های واجد و فاقد Extended-spectrum Beta-lactamases (ESBL) در گروه‌های سنی کودکان

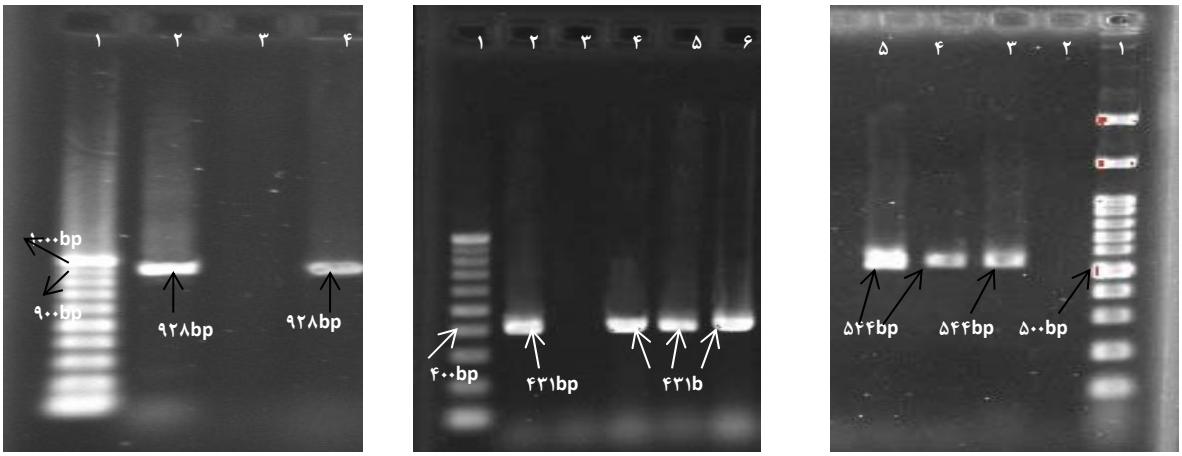
فراوانی سنی	۲ >	۲-۵	۶-۹	۱۰-۱۵	تعداد (درصد)
پسر	۷	۱۷	۱۹	۱۰	۴۲ (۴۴/۲)
دختر	۱۱	۹	۱۳	۹	۵۳ (۵۵/۸)
ESBL مثبت	۴	۷	۸	۵	۲۴ (۲۵/۳)
ESBL منفی	۱۴	۱۹	۲۴	۱۴	۷۱ (۷۴/۷)

ESBL: Extended-spectrum Beta-lactamase

Chandramohan و Revell نیز در مطالعه‌ی خود سطح بالایی از مقاومت در برابر این دو آنتی‌بیوتیک پرکاربرد را گزارش نمودند (۱۳). با وجود این که این دو آنتی‌بیوتیک، از جمله داروهای انتخابی و پرکاربرد در درمان عفونت‌های ادراری محسوب می‌شوند (۱۵-۱۴)، اما یافته‌های مطالعه‌ی حاضر به همراه سایر مطالعات انجام شده در این زمینه، حاکی از آن است که مقاومت نسبت به آن‌ها روند افزایشی داشته است.

در داخل کشور، بر طبق مطالعات مختلف انجام گرفته در کودکان، میزان مقاومت در برابر سفالوسپورین‌های مختلف در حال افزایش است. در این مطالعه، ۶۹/۵، ۴۳/۲ و ۴۰/۰ درصد ایزوله نسبت به سفکسیم، سفتریاکسون و سفتازیدیم مقاومت داشتند. آیت‌الهی و همکاران میزان مقاومت در برابر این سه آنتی‌بیوتیک را به ترتیب ۵۷/۹، ۴۱/۶ و ۴۴/۴ گزارش کردند که با نتایج ما هم‌خوانی داشت (۱۶). در مطالعات دیگر هم مقاومت بالایی به این دسته دارویی در کشور گزارش شده است (۱۷، ۱۲). در حالی که Mantadakis و همکاران در یونان، میزان مقاومت کمتری در ایزوله‌های Escherichia coli جدا شده از کودکان نسبت به سفالوسپورین‌ها گزارش کردند (۱۸). از جمله دلایل افزایش مقاومت به این دسته از آنتی‌بیوتیک‌ها در داخل کشور، می‌توان به ضعف در برنامه‌ریزی‌های درمانی و سطح پایین بهداشت عمومی در جامعه و همچنین، استفاده‌ی نامناسب و غیر اصولی از آن‌ها اشاره کرد.

در ایزوله‌های Escherichia coli بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در برابر ایمی‌پنم (۹۰/۵ درصد)، نروفلوکساسین (۸۶/۳ درصد) و نیتروفورانتوئین (۸۳/۲ درصد) تعیین شد که مشابه با نتایج سایر مطالعات بود (۱۹، ۱۳). میزان اثربخشی آنتی‌بیوتیک‌های گروه کاربانم‌ها نشانگر این موضوع است که آن‌ها کماکان از جمله مؤثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌های باکتریایی محسوب می‌شوند. در نتیجه باید در تجویز و مصرف آن‌ها توجه بیشتری اعمال شود. رضایی و عبدی‌نیا، میزان مقاومت در ایزوله‌های عفونت ادراری کودکان نسبت به آمینوگلیکوزیدها در تبریز را ۶۹/۱ درصد گزارش کردند که نسبت به نتایج مطالعه‌ی حاضر بالاتر بود (۱)، اما در مطالعات معماریانی و همکاران در تهران (۲۰) و نیز خوشوقت و همکاران در زنجان (۲۱)، مجموع مقاومت ایزوله‌های مورد بررسی در کودکان نسبت به آمینوگلیکوزیدهای جنتامایسین و آمیکاسین ۱۱/۵۶ و ۲۵/۳۶ درصد عنوان گردید که از درصد گزارش شده در مطالعه‌ی حاضر به میزان ۴۳/۲ درصد کمتر بود.



شکل ۲. نتایج Polymerase chain reaction (PCR) ژن‌های CTX-M، TEM و SHV (CTX-M): ۱- نشانگر (۱۰۰ bp)، ۲- شاهد منفی، ۳- شاهد مثبت (۵۴۴ bp)، ۴ و ۵- نمونه‌ی مثبت (۵۴۴ bp)؛ (TEM): ۱- نشانگر (۱۰۰ bp)، ۲- شاهد مثبت (۴۳۱ bp)، ۳- شاهد منفی، ۴، ۵ و ۶- نمونه‌ی مثبت (۴۳۱ bp)؛ (SHV): ۱- نشانگر (۱۰۰ bp)، ۲- شاهد مثبت (۹۲۸ bp)، ۳-شاهد منفی، ۴- نمونه‌ی مثبت (۹۲۸ bp)

از جمله دلایل تفاوت در نتایج مطالعه‌ی حاضر با این مطالعات، می‌توان به مواردی همچون تفاوت در الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در مناطق مختلف اشاره کرد. در مطالعه‌ی حاضر، از مجموع ۹۵ ایزوله‌ی Escherichia coli مورد بررسی، تعداد ۲۴ ایزوله (۲۵/۳ درصد) به عنوان مولد ESBL شناسایی شد. در بررسی‌های مختلف انجام گرفته در کودکان، فراوانی این ژن‌ها بین ۳۰/۵-۲۱/۴ درصد گزارش گردید که با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد (۲۳-۲۲، ۲۰)، اما در مطالعات انجام گرفته در سایر کشورها شامل سوئد (۲/۹ درصد)، فرانسه (۴/۶ درصد) و عمان (۱۳/۳ درصد) شیوع پایین‌تری از ایزوله‌های ESBL مثبت در کودکان گزارش شده است (۲۶-۲۴). تفاوت در نتایج حاصل از پژوهش‌های مختلف در این زمینه، می‌تواند حاکی از گسترش ژن‌های بتالاکتاماز طیف گسترده و به خصوص شیوع بالاتر آن‌ها در کشور نسبت به سایر کشورها در ایزوله‌های مورد بررسی باشد.

از نظر فراوانی ژن‌های مورد بررسی، بیشترین شیوع به ترتیب در ژن CTX-M (۴۵/۸۳ درصد) و TEM (۳۷/۵ درصد) و کمترین فراوانی در ژن SHV (۴/۱۷ درصد) بود. در پژوهش صدیقی و همکاران در همدان بر روی نمونه‌های ادراری کودکان، بیشترین و کمترین فراوانی را در ژن‌های CTX-M و SHV معرفی کردند که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مطابقت داشت (۱۹)، اما در مطالعات خوشوقت و همکاران در زنجان (۲۱) و رضایی و همکاران در شمال کشور (۲۳) بیشترین فراوانی ژن‌های ESBL در کودکان در ژن TEM گزارش شد که با نتایج مطالعه‌ی حاضر تفاوت داشت. این تفاوت در نتایج ایزوله‌های مولد ESBL، می‌تواند به دلایلی همچون تنوع در الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها به ویژه بتالاکتام‌های طیف گسترده و همچنین، تفاوت در سیستم‌های کنترل عفونت‌های بیمارستانی باشد (۲۷). با توجه به یافته‌های به دست آمده، بیشترین فراوانی در ژن‌های ESBL در ژن CTX-M بود و سطح به نسبت بالایی از مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی به ویژه بر علیه بتالاکتام‌های مختلف نظیر سفالوسپورین‌ها مشاهده شد. با توجه به این که این داروها از جمله پرکاربردترین آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان‌های ضد میکروبی محسوب می‌شوند، این روند رو به گسترش تولید بتالاکتامازها و به دنبال آن افزایش مقاومت‌های دارویی را می‌توان یک خطر جدی قلمداد کرد. در نتیجه، لازم است توجه بیشتری در جهت کنترل عفونت‌ها، جلوگیری از تجویز بی‌رویه و نامناسب آنتی‌بیوتیک‌ها، اعمال راه‌کارهای مناسب برای شناسایی کامل پاتوژن‌های مولد ESBL در آزمایشگاه‌ها و همچنین، انجام مطالعات دوره‌ای برای شناسایی الگوهای مقاومت دارویی انجام شود.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه که هزینه‌ی این طرح را از محل بودجه‌ی طرح جذب پژوهشگر به شماره‌ی ۹۴۴۵۲ تأمین نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Rezaee MA, Abdinia B. Etiology and antimicrobial susceptibility pattern of pathogenic bacteria in children subjected to UTI: A referral hospital-based study in northwest of Iran. Medicine (Baltimore) 2015; 94(39): e1606.
2. Gheisari A, Ghassemi GR, Jannesari R, Ymani N, Merikhi A. A comparative study of knowledge, attitude and practice among pediatricians and general practitioners toward urinary tract infection in children. J Isfahan Med Sch 2012; 29(168): 245-2467. [In Persian].
3. Eslami M, Ghanbarpour R. Determination of P, S and Afa fimbria coding genes in Escherichia coli isolates from urinary tract infections. J Isfahan Med Sch 2015; 33(331): 546-53. [In Persian].
4. Aghazadeh M, Sari S, Nahaie M, Rasi Hashemi SS, Mehri S. Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of E. coli isolated from urinary tract infection in patients with renal failure disease and renal transplant recipients. Trop J Pharm Res 2015; 14(4): 649-53.
5. Soleimanifard N, Amini K, Moradli Gh. Molecular identification of enteroaggregative and enteropathogenic Escherichia coli pathotypes (EPEC and EAEC) strains isolated from urinary tract infections and their antibiotic susceptibility pattern. J Isfahan Med Sch 2015; 32(310): 1954-64. [In Persian].
6. Jiang X, Ni Y, Jiang Y, Yuan F, Han L, Li M, et al. Outbreak of infection caused by Enterobacter cloacae producing the novel VEB-3 beta-lactamase in China. J Clin Microbiol 2005; 43(2): 826-31.
7. DiPersio JR, Deshpande LM, Biedenbach DJ, Toleman MA, Walsh TR, Jones RN. Evolution and dissemination of extended-spectrum beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae: epidemiology and molecular report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2003). Diagn Microbiol Infect Dis 2005; 51(1): 1-7.
8. Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, et al. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. J Antimicrob Chemother 2007; 59(2): 165-74.
9. Mobasherizadeh M, Bidoki SK, Mobasherizadeh S. Prevalence of CTX-M genes in Escherichia coli strains in outpatient and inpatient cases with urinary tract infections in Isfahan, Iran. J Isfahan Med Sch 2016; 33(360): 2019-25. [In Persian].
10. Akya A, Jafari S, Ahmadi K, Elahi A. Frequency of

blaCTX-M, blaTEM and blaSHV genes in citrobacters isolated from Imam Reza Hospital in Kermanshah. J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(127): 65-73. [In Persian].
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-second informational supplement. CLSI document M100-S22. Wayne, PA: CLSI; 2012.
12. Alizadeh Taheri P, Navabi B, Khatibi E. Frequency and susceptibility of bacteria caused urinary tract infection in neonates: eight-year study at neonatal division of Bahrami Children's Hospital, Tehran Iran. Iran J Public Health 2013; 42(10): 1126-33.
13. Chandramohan L, Revell PA. Prevalence and molecular characterization of extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in a pediatric patient population. Antimicrob Agents Chemother 2012; 56(9): 4765-70.
14. Wolff O, Maclennan C. Evidence behind the WHO guidelines: hospital care for children: what is the appropriate empiric antibiotic therapy in uncomplicated urinary tract infections in children in developing countries? J Trop Pediatr 2007; 53(3): 150-2.
15. Guidoni EBM, Berezin EN, Nigro S, Santiago NA, Benini V, Toporovski J. Antibiotic resistance patterns of pediatric community-acquired urinary infections. Braz J Infect Dis 2008; 12(4): 321-3.
16. Ayatollahi J, Shahcheraghi SH, Akhondi R, Soluti S. Antibiotic resistance patterns of Escherichia coli isolated from children in Shahid Sadoughi Hospital of Yazd. Iran J Ped Hematol Oncol 2013; 3(2): 78-82.
17. Mirsoleymani SR, Salimi M, Shareghi BM, Ranjbar M, Mehtarpoor M. Bacterial pathogens and antimicrobial resistance patterns in pediatric urinary tract infections: a four-year surveillance study (2009-2012). Int J Pediatr 2014; 2014: 126142.
18. Mantadakis E, Tsalkidis A, Panopoulou M, Pagkalis S, Tripsianis G, Falagas ME, et al. Antimicrobial susceptibility of pediatric uropathogens in Thrace, Greece. Int Urol Nephrol 2011; 43(2): 549-55.
19. Sedighi I, Arabestani MR, Rahimbakhsh A, Karimitabar Z, Alikhani MY. Dissemination of extended-spectrum beta-lactamases and quinolone resistance genes among clinical isolates of uropathogenic Escherichia coli in children. Jundishapur J Microbiol 2015; 8(7): e19184.
20. Memariani M, Najar PS, Zahraei ST, Shokouhi Mostafavi SK. Occurrence of SHV, TEM and CTX-M beta-lactamase genes among enteropathogenic Escherichia coli strains isolated from children with diarrhea. Jundishapur J Microbiol 2015; 8(4): e15620.
21. Khoshvaght H, Haghi F, Zeighami H. Extended spectrum betalactamase producing Enteroaggregative Escherichia coli from young children in Iran. Gastroenterol Hepatol Bed Bench 2014; 7(2): 131-6.
22. Kargar M, Gholami M, Doosti A, Najafi A, Aeein V. Frequency of extended spectrum ß- lactamase producing Escherichia coli in hospitalized and out patient children, Yasouj. Armaghane-Danesh 2014; 19(3): 212-22. [In Persian].
23. Rezai MS, Salehifar E, Rafiei A, Langaee T, Rafati M, Shafahi K, et al. Characterization of multidrug resistant extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli among uropathogens of pediatrics in north of Iran. Biomed Res Int 2015; 2015: 309478.
24. Kaarme J, Molin Y, Olsen B, Melhus A. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in healthy Swedish preschool children. Acta Paediatr 2013; 102(6): 655-60.
25. Birgy A, Cohen R, Levy C, Bidet P, Courroux C, Benani M, et al. Community faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in French children. BMC Infect Dis 2012; 12: 315.
26. Al Muharrmi Z, Rafay AM, Balkhair A, Al-Tamemi S, Al Mawali A, Al Sadiri H. Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) in Omani children: Study of prevalence, risk factors and clinical outcomes at Sultan Qaboos University Hospital, Sultanate of Oman. Sultan Qaboos Univ Med J 2008; 8(2): 171-7.
27. Peymani A, Sanikhani R, Naserpour Farvar T, Najafipour R, Moeinirad M, Javadi A. Molecular study of extended-spectrum beta-lactamases among enterobacter spp. isolated from teaching hospitals in Tehran and Qazvin, Iran. Iran J Infect Dis Trop Med 2013; 18(62): 9-15. [In Persian].

Journal of Isfahan Medical School
Received: 24.01.2017
Vol. 35, No. 430, 2nd Week, July 2017
Accepted: 15.02.2017

Frequency of blaCTX-M, blaTEM, and blaSHV Genes in Escherichia Coli Isolated from Urine Samples of Children in Kermanshah City, Iran

Gholamreza Yousefi-Fatmesari[1], Mitra Hemmati[2], Seyyed Hamidreza Mortazavi[1], Faizullah Mansouri[3], Mohsen Azizi[4], Misagh Etemadimajd[5], Leila Dolati[6], Kamal Ahmadi[4]

Original Article

Abstract

Background: Escherichia coli (E. coli), as the main cause of urinary tract infections among most of the age groups including children, due to extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) producing has high ability to acquire antibiotic resistance. The purpose of this study was to determine the frequency of ESBL-producing genes in E. coli extracted from urine samples of children in Kermanshah City, Iran.

Methods: In this cross-sectional study, 95 E. coli isolates were identified via specific biochemical methods. After determination of antibiotic susceptibility using disk diffusion, ESBL-producing isolates were determined by using phenotypic combined disk (double-disk synergy) methods. The frequency of blaTEM, blaCTX-M, and blaSHV genes were determined via using specific primers and polymerase chain reaction (PCR) method.

Findings: Of 95 E. coli isolates, 24 samples (25.3%) were ESBL-positive and 71 (74.7%) were ESBL-negative samples. The frequency of blaCTX-M, blaTEM, and blaSHV genes was 47.5%, 37.5%, and 4.17%, respectively. The highest antibiotic resistance among isolates was to ampicillin (83.2%), cefixime (69.5%), and trimethoprim/sulfamethoxazole (co-trimoxazole) (67.4%), and the most antibiotic sensitivity was to imipenem (90.5%), norfloxacin (86.3%), and nitrofurantoin (83.2%).

Conclusion: The results showed that prevalence of ESBL-producing E. coli in children was 25.3% and blaCTX-M gene was the most common. According to these findings and relatively high level of resistance to third-generation cephalosporins, the need for more medical care in the correct and appropriate use of antibiotics is concluded; further studies on this subject are recommended, too.

Keywords: Escherichia coli, Antibiotic resistance, Extended-spectrum beta-lactamases

Citation: Yousefi-Fatmesari G, Hemmati M, Mortazavi SH, Mansouri F, Azizi M, Etemadimajd M, et al. **Frequency of blaCTX-M, blaTEM, and blaSHV Genes in Escherichia Coli Isolated from Urine Samples of Children in Kermanshah City, Iran.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(430): 551-7.

1- Assistant Professor, Department of Pediatrics, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
2- Associate Professor, Department of Pediatrics, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
3- Associate Professor, Department of Infectious Disease, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
4- Department of Microbiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
5- Student of Medicine, Students Research Committee, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
6- Department of Microbiology, School of Science, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
Corresponding Author: Kamal Ahmadi, Email: k.ahmadi@kums.ac.ir