مقاله پژوهشی

بررسی فراوانی ژن‌های *SHV*، *TEM* و *CTX-M* در جدایه‌های *اشریشیاکلی* و *کلبسیلا پنومونیه* در کودکان با عفونت مجاری ادراری (UTI) در شهر رشت

شیرین فکری کهن[1]، محمد هدایتی[2]، زهرا شمسی بلسبنه[3]، شایان مجلسی[4]، نجمه رنجی×[5]

تاریخ دریافت ۱۴۰۱/۰۴/۱۱ تاریخ پذیرش ۱۴۰۱/۰۶/۰۲

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: عفونت مجاری ادراری (UTI) یکی از شایع‌ترین عفونت‌ها در کودکان است که به‌سرعت در حال کسب مقاومت‌های بیشتری نسبت به داروهای ضد میکروبی در سراسر دنیا است. هدف از این مطالعه ارزیابی فراوانی ژن‌های *SHV*، *TEM* و *CTX-M* در اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه جداشده از عفونت مجاری ادراری در کودکان در بیمارستان ۱۷ شهریور رشت بود.

مواد و روش کار: در این مطالعه توصیفی-مقطعی، ۴۹ سویه اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه از بیمارستان ۱۷ شهریور از شهر رشت جداسازی و به کمک روش‌های بیوشیمیایی تعیین هویت شدند. حساسیت و مقاومت سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها به روش‌های کربی بور و براث دایلوشن تعیین گردید. برای ارزیابی فراوانی ژن‌های *SHV*، *TEM* و *CTX-M* در جدایه از روش PCR استفاده شد. برای آنالیز آماری از آزمون $\chi 2$ با کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ بهره برده شد.

یافته‌ها: در این مطالعه، بیشترین مقاومت در جدایه‌های اشریشیا کلی به سفتریاکسون (۸۸/۹ درصد) و آمپی‌سیلین (۸۱/۵ درصد) و در جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه به آمپی‌سیلین (۹۵/۵ درصد)، سفتریاکسون (۷۷/۳ درصد) و مشاهده شد. از ۴۹ جدایه، ۸۹/۸ درصد جدایه‌ها دارای ژن *SHV*، ۸۹/۸ درصد جدایه‌ها دارای ژن *CTX-M* و ۱۰۰ درصد جدایه‌ها دارای ژن *TEM* بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که یکی از علل افزایش مقاومت چند دارویی در جدایه‌های بیمارستانی عفونت مجاری ادراری در رشت، افزایش انتقال ژن‌های پلاسمیدی بین این جدایه‌ها باشد.

کلیدواژه‌ها: اشریشیا کلی، *CTX-M*، کلبسیلا پنومونیه، *SHV*، *TEM*

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و سوم، شماره دوم، ص ۷۰-۸۰، اردیبهشت ۱۴۰۱

آدرس مکاتبه: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران. کد پستی: ۳۵۱۶-۴۱۳۳۵، تلفن:۱۳۳۳۴۲۴۰۸۰

Email: n_ranji@iaurasht.ac.ir

مقدمه

عفونت مجاری ادراری (UTI) یکی از شایع‌ترین عفونت‌های باکتریایی در کودکان محسوب می‌شود (۱) که حدود ۷ درصد از کودکان تا ۱۹ سالگی تجربه یک UTI را دارند (۲) و به علت گسترش پاتوژن‌های با مقاومت چند دارویی، باعث یک معضل مهم در درمان این افراد می‌شود (۳). این عفونت ممکن است بر مجرای ادراری تحتانی یا فوقانی تأثیر بگذارد. هرچند تشخیص این دو از هم ممکن است در کودکان یا نوجوانان پیچیده یا حتی غیرممکن باشد. شیوع بالا، شدت عود و بازگشت، مرگ‌ومیر ازجمله چالش‌های همراه با UTI است (۱). عفونت‌های مجاری ادراری هم به‌واسطه باکتری‌های گرم منفی و هم گرم مثبت ایجاد می‌شود. شایع‌ترین علت UTI اشریشیاکلی است و دومین عامل ایجاد آن کلبسیلا پنومونیه است (۴). در مطالعات مشخص‌شده که باکتری‌های مسبب عفونت ادراری اغلب در گروه مقاومت چند دارویی (MDR) یا مقاومت دارویی گسترده (XRD) قرار دارند (۵). باکتری‌ها یا پاتوژن‌های MDR به انواعی از پاتوژن‌ها گفته می‌شود که به چند

۱ دانشجوی دکتری، میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

۲ کارشناس ارشد، ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۳ کارشناس ارشد، زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

٤ کارشناس ارشد، میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

۵ استادیار، ژنتیک مولکولی، دانشکده علوم پایه، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران (نویسنده مسئول)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-03-13]

[DOI: 10.52547/umj.33.2.70]

داروی ضد میکروبی مقاوم‌اند. در حالیکه پاتوژنXRD پاتوژنی است که فقط به یک یا دو گروه داروی ضد میکروبی حساس است و به بقیه داروها در بقیه گروه‌ها مقاوم است (۶). تنوع جغرافیایی در الگوی حساسیت ضد میکروبی در اغلب پاتوژن‌ها مشاهده می‌شود و این امر در تنظیم استراتژی‌های مؤثر ضدمیکروبی در مراکز درمانی ضروری است (۵).

رایج‌ترین داروهای ضد میکروبی علیه عفونت‌های ادراری در گروه بتالاکتام قرار دارند. رایج‌ترین بتالاکتام‌ها شامل آمینوپنی‌سیلین‌ها (آمپی‌سیلین) و نسل اول سفالوسپورین‌ها (سفالوتین و سفالکسین) است (۷). تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف extended spectrum β-lactamase (ESBL) یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مقاومت به بتالاکتام‌ها در انتروباکتریاسه محسوب می‌شود (۸). بتالاکتامازها به چهار گروهA ، B، C و D تقسیم می‌شوند. انتروباکتریاسه دارای ژن‌های ESBL نسبت به گروه‌های فاقد این آنزیم‌ها عفونت‌زایی شدیدتری نشان می‌دهد (۹). از مهم‌ترین ژن‌های ESBL می‌توان به *TEM* و *SHV* اشاره نمود از سال ۱۹۹۸، انواع ژن‌های CTX-M به‌عنوان آنزیم‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBL) نیز در اغلب نقاط دنیا افزایش یافته است (۱۰). این سه ژن از خانواده ESBL گروهA هستند که باعث هیدرولیز پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها (به‌جزء سفامایسین) و مونوباکتام‌ها می‌شوند. باکتری‌های دارای ژن SHV به انواع پنی‌سیلین‌های وسیع الطیف ازجمله پایپراسیلین و آمپی‌سیلین مقاوم‌اند. باکتری‌های دارای ژن *TEM* به انواع پنی‌سیلین‌ها و نسل اول سفالوسپورین (به‌جز اکسی ایمونوسفالوسپورین) مقاوم‌اند. آنزیم‌های خانواده CTX-M در هیدرولیز سفالوتین یا سفالوریدین موفق‌تر از هیدرولیز بنزیل پنی‌سیلین عمل می‌کنند (۹).

در این مطالعه با توجه به شیوع روزافزون مقاومت‌های دارویی، سعی شد میزان حضور چندین ژن‌های پلاسمیدی مؤثر در ایجاد مقاومت به بتالاکتام‌ها (*SHV*، *TEM* و *CTX-M*) در جدایه‌های اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه در کودکان مبتلا به عفونت مجاری ادراری در بیمارستان کودکان هفده شهریور شهر رشت موردبررسی قرار گیرد.

مواد و روش کار

جمع‌آوری نمونه و شناسایی باکتری:

در این مطالعه، تعداد ۱۰۰ نمونه در بازه زمانی سه‌ماهه بهمن و اسفند ۱۴۰۰ و فروردین ۱۴۰۱ از کودکان دارای عفونت مجاری ادراری از بیمارستان تخصصی و فوق تخصصی کودکان ۱۷ شهریور شهر رشت جمع‌آوری گردید. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده ابتدا در محیط شکلات آگار و سپس در محیط کشت مک کانکی اگار کشت داده شدند. در ادامه با انجام تست‌های بیوشیمیایی نظیر سیمون سیترات، ایندول، SIM، TSI و MR-VP تعیین هویت نمونه‌ها صورت گرفت. معیارهای ورود به مطالعه، شامل کودکان دچار عفونت ادراری و عدم مصرف هرگونه آنتی‌بیوتیک خوراکی و تزریقی بود. همچنین، افرادی که تحت درمان با آنتی‌بیوتیک بودند در این مطالعه شرکت داده نشدند.

سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش انتشار از دیسک (Disk diffusion):

پس از جداسازی نمونه‌های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه، مقاومت آنتی‌بیوتیکی با انجام تست آنتی بیوگرام از طریق روش استاندارد دیسک دیفیوژن (Kirby-Bauer) و طبق استاندارد CLSI2021، با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی نیتروفورانتوئین (300µg)،، آمیکاسین (30µg)، جنتامایسین (10µg)، مروپنم (10µg)، سفتریاکسون (30µg)، آمپی‌سیلین (10µg)، سفپیم (30µg) و سیپروفلوکساسین (5µg) تعیین گردید. دیسک‌های آنتی بیوتیکی از شرکت پادتن طب (ایران) خریداری شد. به این منظور، بعد از کشت هر جدایه در محیط کشت مایع، سوسپانسیون باکتریایی با غلظت نیم مک فارلند تهیه گردید و این سوسپانسیون روی محیط مولر هینتون آگارمنتقل شد. سپس دیسکهای آنتی بیوتیک به با فاصبه مناسب بوسیله پنس استریل بر سطح پلیت قرار داده شدند و بعد از ۱۸-۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای 37°C، قطر هاله عدم رشد اطراف هر دیسک اندازه گیری و نتایج آن طبق استاندارد CLSI2021 ثبت گردید.

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد:

جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد Minimum (MIC:Inhibitory Concentration) در جدایه‌های مقاوم به سیپروفلوکساین، از روش براث دایلوشن استفاده شد. رقت باکتری به میزان نیم مک فارلند تهیه و به همراه رقت‌های مختلف سیپروفلوکساسین (۱- ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی لیتر) (شرکت روناک دارو، ایران) در لوله‌های آزمایش در دمای $^{\circ}C$ ۳۷ انکوبه گردید. بعد از گذشت ۱۸-۲۴ ساعت از انکوباسیون، اولین لوله‌ای که کدورت قابل مشاهده‌ای نداشت به‌عنوان MIC در نظر گرفته شد.

استخراج DNA و انجام واکنشPCR:

در ابتدا جدایه‌های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه در محیط مولر هینتون براث به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای $^{\circ}C$ 37 انکوبه شدند. بعد از رسیدن به کدورت سلولی مناسب، از کیت CinnaPure-DNA (شرکت سیناژن، ایران) جهت استخراج DNA استفاده شد. برای تأیید استخراج، نمونه‌ها در ژل آگارز ۱/۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس، اجزای واکنش PCR در حجم نهایی l20 µl با استفاده از کیت R Master Mix 2X (شرکت

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-03-13]
[DOI: 10.52547/umj.33.2.70]

سیناژن، ایران) با افزودن DNA، جفت پرایمر (20 pmol) و آب استریل به محلول PreMix (حاوی آنزیم، کوفاکتور و بافر مخصوص) آماده شد. سنتز پرایمرها توسط شرکت سیناژن (تهران، ایران) صورت گرفت (جدول ۱). واکنش PCR طبق برنامه ذیل در دستگاه ترمال سایکلر Bio-Rad (امریکا) انجام شد: یک مرحله واسرشت شدن ابتدایی در $94^{\circ}C$ بمدت ۳ دقیقه، سپس ۳۰ سیکل به ترتیب در دمای $94^{\circ}C$ بمدت ۳۰ ثانیه، $57^{\circ}C$ (ژن *SHV* و *TEM*) یا $52^{\circ}C$ (ژن *CTX-M*) به مدت ۴۵ ثانیه، $72^{\circ}C$ بمدت ۱ دقیقه، و یک مرحله گسترش نهایی در دمای $72^{\circ}C$ بمدت ۵ دقیقه. بعد از اتمام واکنش، محصولات PCR در ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شدند تا از حضور یا عدم حضور محصول ژنی اطمینان حاصل شود.

جدول (۱): مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR (۱۱)

طول محصول PCR	توالی پرایمر	نام پرایمر
800 bp	5′-CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC-3′	TEM-F
	5′-CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC-3′	TEM-R
713 bp	5′-AGCCGCTTGAGCAAATTAAAC-3′	SHV-F
	5′-ATCCCGCAGATAAATCACCAC-3′	SHV-R
1018 bp	5′-GTTACAATGTGTGAGAAGCAG-3′	CTX-M-F
	5′-CCGTTTCCGCTATTACAAAC-3′	CTX-M-R

جهت بررسی معنی‌دار بودن نتایج تحقیق ازجمله وضعیت حساسیت و مقاومت به دارو و حضور یا عدم حضور ژن، از آزمون آماری $\chi 2$ بهره برده شد. سطح معنی‌دار بودن کمتر از ۰/۰۵، با کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ بررسی شد.

یافته‌ها

در این مطالعه ۲۲ نمونه کلبسیلا پنومونیه و ۲۷ نمونه اشریشیا کلی از عفونت مجاری ادراری در کودکان بستری در بیمارستان ۱۷ شهریور جداسازی شد. توزیع سن و جنسیت در جدول ۲ ذکر شده است. عفونت ادراری به‌واسطه اشریشیا کلی در کودکان مؤنث ۷۴/۰۷ درصد بود و فراوانی قابل‌توجهی نسبت به کودکان مذکر نشان داد. در حالی که شیوع عفونت ادراری به‌واسطه کلبسیلا پنومونیه در کودکان مذکر، ۵۹/۰۹ درصد بود. دسته بندی کودکان از نظر سن طبق مطالعه یوسفی و همکاران صورت گرفت (۱۲). در کودکان یک سال یا کمتر شیوع عفونت ادراری به‌واسطه اشریشیا کلی، ۴۸/۱۴ درصد بود. در کودکان یک سال یا کمتر شیوع عفونت ادراری به‌واسطه کلبسیلا پنومونیه، ۸۱/۸۱ درصد بود (جدول ۲).

جدول (۲): توزیع سن و جنس کودکان با عفونت مجاری ادراری

عفونت	جنسیت	تعداد (درصد)
اشریشیا کلی	زنان (درصد)	۲۰ (۷۴/۰۷)
	مردان (درصد)	۶ (۲۲/۲۲)
	تعیین نشده (درصد)	۱ (۳/۷)
کلبسیلا پنومونیه	زنان (درصد)	۹ (۴۰/۹)
	مردان (درصد)	۱۳ (۵۹/۰۹)
عفونت	سن (سال)	تعداد (درصد)
اشریشیا کلی	≤۱	۱۳ (۴۸/۱۴)
	>۱- ≤۶	۷ (۲۵/۹۲)
	>۶-≤۱۲	۷ (۲۵/۹۲)
کلبسیلا پنومونیه	≤۱	۱۸ (۸۱/۸۱)
	>۱- ≤۶	۳ (۱۳/۶۳)
	>۶-≤۱۲	۱(۴/۵۴)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-03-13]

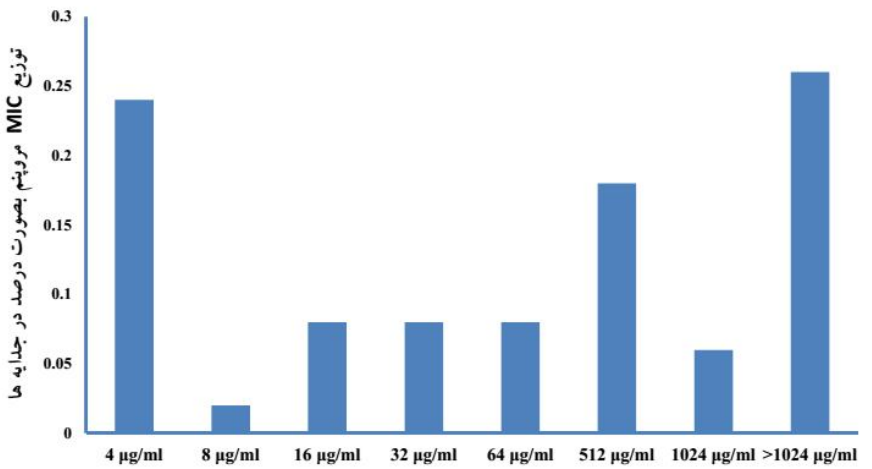
[DOI: 10.52547/umj.33.2.70]

در مطالعه حاضر، در جدایه‌های اشریشیا کلی بیشترین مقاومت به سفتریاکسون (۸۸/۹ درصد) و آمپی‌سیلین (۸۱/۵ درصد) و سفپیم (۶۶/۶ درصد) و در جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه بیشترین مقاومت به آمپی‌سیلین (۹۵/۵ درصد)، سفتریاکسون (۷۷/۳ درصد) و سفپیم (۵۹/۲ درصد) مشاهده شد. بیشترین حساسیت در هر دو گروه جدایه‌های اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه به مروپنم (۱۰۰ درصد) مشاهده شد. همچنین حساسیت به آمیکاسین و جنتامایسین به ترتیب با فراوانی ۷۰ درصد و ۶۳ درصد در جدایه‌های اشریشیا کلی مشاهده شد. در جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه، حساسیت به سیپروفلوکساسین با فراوانی /۵۹ درصد و نیتروفورانتوئین با فراوانی ۵۰ درصد گزارش شد (جدول ۳). نتایج حاصل از آزمون تعیین حساسیت جدایه‌های اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه در عفونت مجاری ادراری نسبت به ۸ آنتی‌بیوتیک نشان داد که تفاوت معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) از نظر فراوانی بین نمونه‌های مقاوم، نیمه حساس و حساس وجود دارد.

جدول (۳): الگوی حساسیت جدایه‌های اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه از نمونه‌های عفونت ادراری نسبت به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها در روش انتشار از دیسک بر طبق CLSI 2021

باکتری	حساسیت	نیتروفورانتوئین	آمیکاسین	جنتامایسین	مروپنم	سفتریاکسون	آمپی‌سیلین	سفپیم	سیپروفلوکساسین
اشریشیا کلی	حساس (درصد)	۱۳ (۴۸/۲)	۱۹ (۷۰)	۱۷ (۶۳)	۲۷ (۱۰۰)	۳ (۱۱/۱)	۵ (۱۸/۵)	۲ (۷/۴)	۱۱ (۴۰/۷)
	نیمه حساس (درصد)	۶ (۲۲/۲)	۱ (۳/۷)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۷ (۲۶)	۹ (۳۳/۳)
	مقاوم (درصد)	۸ (۲۹/۶)	۹ (۳۳/۳)	۱۰ (۳۷)	۰ (۰)	۲۴ (۸۸/۹)	۲۲ (۸۱/۵)	۱۸ (۶۶/۶)	۷ (۲۵/۹)
کلبسیلا پنومونیه	حساس (درصد)	۱۱ (۵۰)	۱۰ (۴۵/۴)	۱۰ (۴۵/۴)	۲۲ (۱۰۰)	۵ (۲۲/۷)	۱ (۴/۵)	۸ (۳۶/۳)	۱۳ (۵۹)
	نیمه حساس (درصد)	۳ (۱۳/۶)	۱ (۴/۶)	۱ (۴/۶)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۴/۵)	۵ (۲۲/۷)
	مقاوم (درصد)	۸ (۳۶/۴)	۱۱ (۵۰)	۱۱ (۵۰)	۰ (۰)	۱۷ (۷۷/۳)	۲۱ (۹۵/۵)	۱۳ (۵۹/۲)	۸ (۱۸/۳)

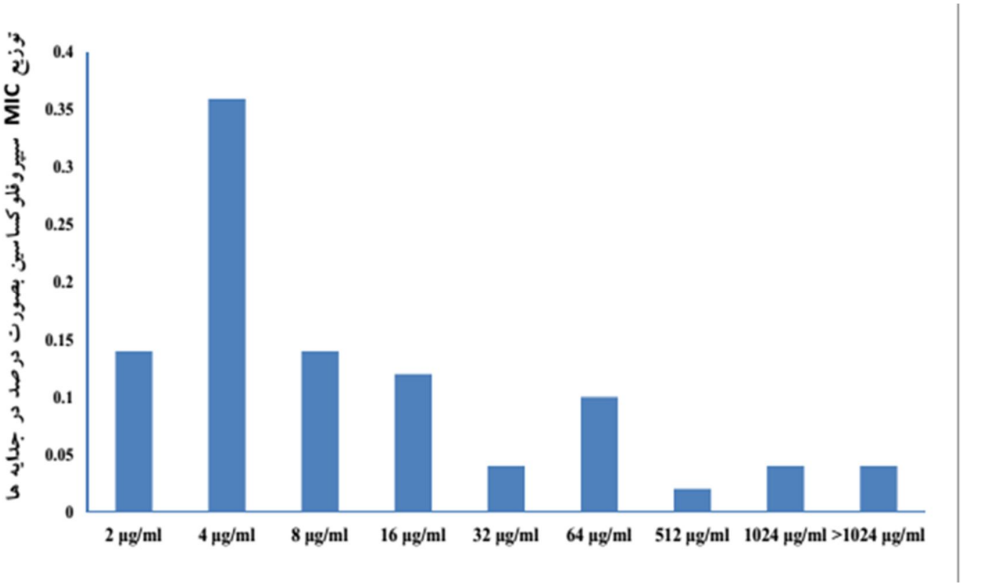
در این مطالعه جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی از روش براث دایلوشن استفاده شد و مشخص شد که همه جدایه‌ها مقاوم به مروپنم (MIC≥4µg/ml) (نمودار ۱) و سیپروفلوکساسین (MIC≥1µg/ml) بودند (نمودار ۲).



نمودار (۱): توزیع میزان MIC (به‌صورت درصد) در عفونت‌های مجاری ادراری مقاوم به مروپنم

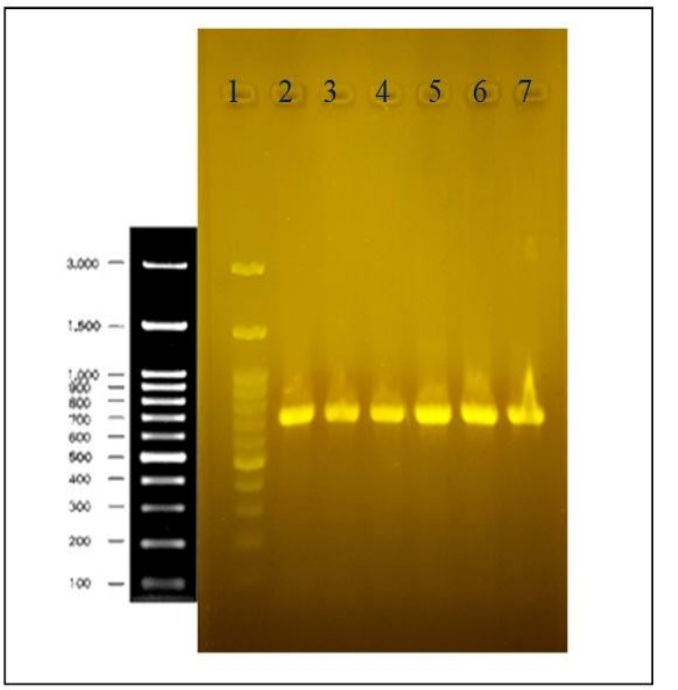
[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-03-13]

[DOI: 10.52547/umj.33.2.70]



نمودار (۲): توزیع میزان MIC (به‌صورت درصد) در عفونت‌های مجاری ادراری مقاوم به سیپروفلوکساسین

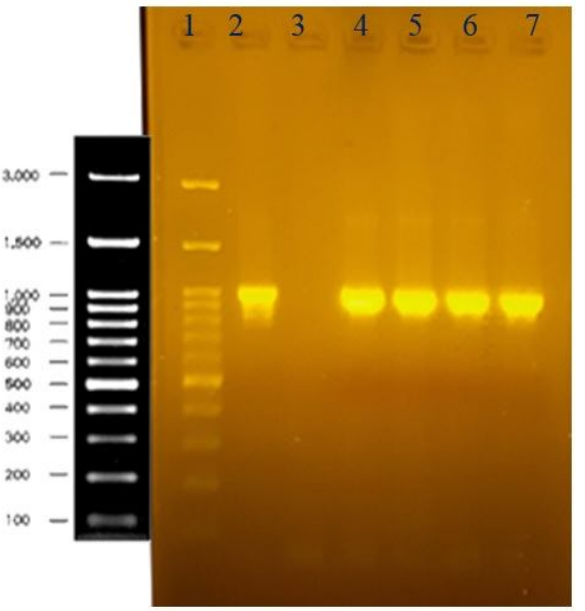
در ۲۷ نمونه اشریشیا کلی و ۲۲ نمونه کلبسیلا پنومونیه حضور یا عدم حضور ژن‌های *SHV*، *TEM* و *CTX-M* نشان داد که درمجموع از بین ۴۹ مورد عفونت باکتریایی، ۸۹/۸ درصد موارد دارای ژن *SHV* (شکل ۱)، ۸۹/۸ درصد موارد دارای ژن *CTX-M* (شکل ۲) و ۱۰۰ درصد موارد دارای ژن *TEM* (شکل ۳) بودند (جدول ۴).



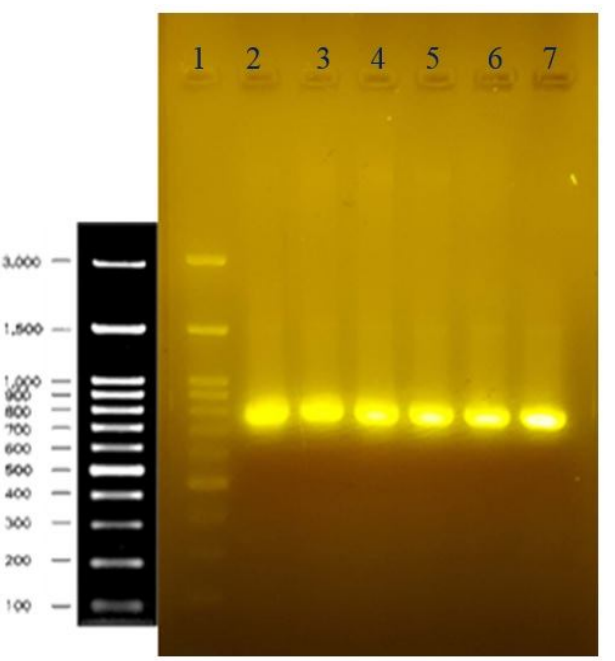
شکل (۱): الکتروفورز محصولات PCR ژن *SHV* روی ژل آگارز ۱/۵ درصد. نمونه‌ها به ترتیب اولین چاهک از سمت چپ (DNA لدر ۱۰۰bp) و چاهک‌های ۲ تا ۷ مربوط به شش نمونه دارای باند مربوط به ژن *SHV* با طول 713bp.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-03-13]

[DOI: 10.52547/umj.33.2.70]



شکل (۲): الکتروفورز محصولات PCR ژن *CTX-M* روی ژل آگارز ۱/۵ درصد. نمونه‌ها به ترتیب اولین چاهک از سمت چپ (DNA لدر ۱۰۰bp) و چاهک‌های ۲ و ۴ تا ۷ مربوط به پنج نمونه دارای باند مربوط به ژن *CTX-M* با طول ۱۰۱۸bp و چاهک ۳ مربوط به نمونه فاقد ژن *CTX*-M.



شکل (۳): الکتروفورز محصولات PCR ژن *TEM* روی ژل آگارز ۱/۵ درصد. نمونه‌ها به ترتیب اولین چاهک از سمت چپ (DNA لدر ۱۰۰bp) و چاهک‌های ۲ تا ۷ مربوط به شش نمونه دارای باند مربوط به ژن *TEM* با طول ۸۰۰bp.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-03-13]

[DOI: 10.52547/umj.33.2.70]

جدول (۴): توزیع ژن‌های پلاسمیدی مؤثر در ایجاد مقاومت به بتالاکتام‌ها

نام ژن	فراوانی در اشریشیا کلی (درصد)	فراوانی در کلبسیلا پنومونیه (درصد)	فراوانی (درصد)
SHV	۲۲ (۸۱/۵)	۲۰ (۹۰/۹)	۴۴ (۸۹/۸)
TEM	۲۷(۱۰۰)	۲۲(۱۰۰)	۴۹ (۱۰۰)
CTX-M	۲۵ (۹۲/۶)	۱۹(۸۶/۴)	۴۴ (۸۹/۸)

بحث و نتیجه‌گیری

عفونت مجاری ادراری یکی از شایعترین بیماری‌های عفونی در دنیا است (۱۳) و اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونی از مهم‌ترین موارد مسبب UTI با مقاومت چند دارویی محسوب می‌شوند (۱۴). مطالعات اپیدمیولوژی نشان می‌دهد الگوی مقاومت دارویی در نواحی مختلف جهان متغیر است (۱۳). در این مطالعه توزیع مقاومت چند داروی آنتی‌بیوتیک و توزیع حضور ژن‌های ایجاد کننده مقاومت به بتالاکتام‌ها (*TEM*،SHV و *CTX-M*) به‌واسطه انتقال افقی (پلاسمیدی) در جدایه‌های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه جدا شده از ادرار کودکان با عفونت ادراری در بیمارستان ۱۷ شهریور شهر رشت مورد بررسی قرار گرفت.

در مطالعه جبرالدینی و همکاران در شهرستان گراش در استان فارس در سال ۱۳۹۶ از ۱۰۸ جدایه UTI، ۵۰/۹ درصد جدایه‌های اشریشیا کلی در جنس مذکر و ۴۹/۱ درصد در جنس مؤنث مشاهده شد. کلبسیلا پنومونیه در ۳۷/۵ درصد موارد متعلق به جنس مذکر و ۶۲/۵ درصد موارد مربوط به جنس مؤنث بود (۱۵). در مطالعه برزگر و همکاران در سال‌های ۲۰۱۷ تا ۲۰۱۸ در اردبیل به ترتیب ۶۵/۶ درصد و ۳۴/۴ درصد سویه‌های اشرشیاکلی ازUTI ، مربوط به زنان و مردان بود (۱۶). در مطالعه سرخی و همکاران در سال ۲۰۲۲ در یک مطالعه ۹ ساله در شهر امیرکلا (مازندران) مشخص شد که ۸۹/۷ درصد موارد UTI مربوط به کودکان مؤنث و ۱۰/۳ درصد موارد مربوط به کودکان مذکر بود (۱۷). در مطالعه حاضر مشابه با دیگر مطالعات، عفونت ادراری به‌واسطه اشریشیا کلی در کودکان مؤنث فراوانی بیشتری (۷۴/۰۷ درصد) نسبت به کودکان مذکر نشان داد. با این حال برخلاف دیگر مطالعات، شیوع عفونت ادراری به‌واسطه کلبسیلا پنومونیه در کودکان مذکر فراوانی بیشتری (۵۹/۰۹ درصد) داشت ($P<۰/۰۵$).

در مطالعه اسلامی و همکاران در سال ۱۳۹۴ در نمونه‌های ادراری کودکان مراجعه‌کننده به بیمارستان بوعلی ساری، بالاترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به کارباپنم‌ها (۶۶ درصد) و آمیکاسین (۵۸ درصد) مشاهده شد (۱۸). در مطالعه دوستی و همکاران در سال ۱۳۹۴، بیشترین مقاومت به آمپی‌سیلین (۹۵/۷۸ درصد)، تری متوپریم-سولفامتوکسازول (۶۲/۱۰ درصد) و نیتروفورانتوئین (۴۱/۱۰ درصد) و بیشترین حساسیت به سیپروفلوکساسین (۴۶/۳۱ درصد) و سفتریاکسون (۴۴/۲۱ درصد) در جدایه‌های اشریشیا کلی از عفونت‌های ادراری در زنان و کودکان در شهرستان فارسان (استان چهارمحال و بختیاری) گزارش شد (۱۹). در مطالعه میراعلمی و همکاران در سال ۱۳۹۴ در استان تهران، بیشترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیکهای پنی‌سیلین و اریترومایسین به ترتیب ۹۶ درصد و ۹۴/۵ درصد و بیشترین حساسیت به آنتی‌بیوتیکهای سیپروفلوکساسین و ایمی پنم (۶۷/۲ درصد) در نمونه‌های ادراری گزارش شد (۲۰). در مطالعه حاضر، در جدایه‌های اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه بیشترین مقاومت به سفتریاکسون و آمپی‌سیلین و سفپیم و بیشترین حساسیت به مروپنم به روش انتشار از دیسک مشاهده شد. هرچند نتایج MIC مقاومت صددرصدی جدایه‌ها را به دو آنتی‌بیوتیک مروپنم و سیپروفلوکساسین نشان داد. علت اختلاف فاحش بین نتایج انتشار از دیسک و MIC می‌تواند دقت بالاتر روش براث دایلوشن در تعیین MIC باشد. لذا با توجه به اینکه روش معمول در مراکز درمانی برای تعیین مقاومت و حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌ها جهت تعیین استراتژی‌های درمانی برای بیماران، روش انتشار از دیسک است، لازم است برای کاهش هزینه‌های درمانی و رسیدن به نتایج مطلوب در زمان کوتاهتر، از استراتژی‌های دقیق‌تری جهت تعیین مقاومت و حساسیت در جدایه‌ها استفاده شود. هرچند باکتری‌ها در محیط‌های درمانی و بیمارستانی به دلیل انتقال افقی بشدت در زمان کوتاهی قادر به کسب مقاومت‌های جدید هستند و تغییر استراتژی‌های تعیین مقاونت و حساسیت به تنهایی کارساز نخواهد بود. در مقایسه با مطالعات دیگران، در مطالعه حاضر نیز تفاوت فراوانی پروفایل مقاومت آنتی‌بیوتیکی مشاهده شد که توانمندی بسیار زیاد باکتری‌های بیماری زا را در کسب مقاومت‌های جدید از طرق مختلف نشان می‌دهد.

در مطالعه ملکی و همکاران در بیمارستان الزهرا اصفهان در سال ۲۰۱۸ از ۲۵ جدایه کلبسیلا پنومونیه،۹۲ درصد ژن CTX-M و ۷۶ درصد ژن TEM داشتند (۱۳). در مطالعه دهشیری و همکاران در یاسوج در سال ۲۰۱۸ از ۶۲ جدایه کلبسیلا پنومونیه جدا شده از نمونه ادراری، ۸۵/۵ درصد دارای ژن *SHV-1*، ۱۶/۱ درصد دارای ژن *TEM-1*، ۲۷/۴ درصد ژن CTXM-*1*، ۸/۱ درصد ژن-*CTXM*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-03-13]

[DOI: 10.52547/umj.33.2.70]

*2*و ۶۵/۵ درصد ژن*CTXM-3* داشتند (۲۱). در مطالعه صادقی و همکاران در بیمارستان رازی رشت در سال ۲۰۲۲، از ۲۶۳ اشریشیا کلی جدا شده از ادرار، ۱۲۱ جدایه ESBL مثبت بودند و به ترتیب ۳۴/۷ درصد، ۳۶/۴ درصد و ۳۸/۸ درصد دارای ژن‌های SHV، *TEM* و *CTX-M* بودند (۲۲). در مطالعه رضایی و همکاران در ساری در سال ۲۰۱۵، ۳۰/۵ درصد نمونه‌ها ESBL مثبت بودند. ژنوتایپینگ باکتری‌های مولد ESBL نشان داد ژن‌های *SHV*،*TEM* و *CTX* به ترتیب در ۴۹ درصد، ۴۴ درصد و ۲۸ درصد جدایه‌ها حضور داشتند (۲۳). در مطالعه میراعلمی و همکاران در استان تهران، از مجموع ۵۵ نمونه مورد بررسی، ۲۶ نمونه دارای ژن *TEM*، و ۴۱ نمونه دارای ژن *CTX*-M بودند و در هیچ یک از نمونه‌ها ژن *SHV*گزارش نشد (۲۰). در مطالعه اسلامی و همکاران در سال ۱۳۹۴ در نمونه‌های ادراری کودکان در ساری، شیوع ژن TEM، ۴۹ درصد و ژن *CTX*، ۲۸ درصد از عفونت اشریشیا کلی گزارش شد (۱۸). در مطالعه دوستی و همکاران در سال ۱۳۹۴، از میان ۹۵ نمونه ادراری دارای عفونت اشریشیا کلی، ژن *TEM* در ۶۲/۱۰ درصد موارد، ژن *CTX-M* در ۳۳/۶۸ درصد موارد و ژن*SHV* در ۸/۴۲ درصد موارد گزارش شد(۱۹). در مطالعه حاضر در مقایسه با دیگر مطالعات، فراوانی هر سه ژن بالاتر بود. بطوریکه در همه موارد عفونی، ژن *TEM* حضور داشت و در ۸۱/۵درصد از جدایه‌های اشریشیا کلی و ۹۰/۹درصد از جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه ژن *SHV* و در ۹۲/۶درصد از جدایه‌های اشریشیا کلی و در ۸۶/۴درصد جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه ژن *CTX-M* حضور داشت. این مشاهدات در بیمارستان کودکان از انتقال سریع این ژن‌ها به‌واسطه انتقال افقی (به‌واسطه پلاسمید) و بی‌اثر شدن بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها خبر می‌دهد و امید است برای رفع و پخش بیشتر این عوامل عفونی بخصوص در مراکز درمانی و بیمارستان‌ها، از آنتی‌بیوتیک‌های مؤثرتری استفاده شود.

پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی، حضور دیگر ژن‌های مؤثر در ایجاد مقاومت چند دارویی در عفونت ادراری در کودکان مورد ارزیابی قرار گیرد تا بتواند راهگشای انتخاب داروهای مناسب‌تر جهت درمان باشد. از مشکلات این تحقیق، تعداد کودکان موردمطالعه بود که محدودیت زمانی مانع بررسی جمعیت بزرگ‌تر شد. همچنین برای بررسی ژن‌های دیگر مؤثر در ایجاد مقاومت نیاز به صرف هزینه و زمان بیشتری است که از موانع این تحقیق بود.

در این مطالعه در کودکان با عفونت مجاری ادراری در بیمارستان فوق تخصصی ۱۷ شهریور رشت مشخص شد شیوع مقاومت چند دارویی بشدت بالا بوده و از دلایل افزایش چنین مقاومت‌هایی می‌توان به وجود ژن‌های پلاسمیدی اشاره نمود که به‌واسطه انتقال افقی توانسته‌اند به سویه‌های دیگر منتقل و باعث ایجاد سویه‌های مقاوم در این مرکز درمانی شوند.

References:

1. Leung AKC, Wong AHC, Leung AAM, Hon KL. Urinary Tract Infection in Children. Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov 2019;13(1):2-18.
2. Delbet JD, Lorrot M, Ulinski T. An update on new antibiotic prophylaxis and treatment for urinary tract infections in children. Expert Opin Pharmacother 2017;18(15):1619-25.
3. Mahony M, McMullan B, Brown J, Kennedy SE. Multidrug-resistant organisms in urinary tract infections in children. Pediatr Nephrol 2020;35(9):1563-73.
4. Hyun M ,Lee JY, Kim HA, Ryu SY. Comparison of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Acute Pyelonephritis in Korean Patients. Infect Chemother 2019;51(2):130-41.
5. Iqbal Z, Mumtaz MZ, Malik A. Extensive drug-resistance in strains of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolated from paediatric urinary tract infections. J Taibah Univ Med Sci 2021;16(4):565-74.
6. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect 2012;18(3):268-81.
7. Marchisio M, Porto A, Joris R, Rico M, Baroni MR, Di Conza J. Susceptibility to β-lactams and quinolones of Enterobacteriaceae isolated from urinary tract infections in outpatients. Braz J Microbiol 2015;46(4):1155-9.
8. Wachino J-i, Doi Y, Yamane K, Shibata N, Yagi T, Kubota T, et al. Nosocomial spread of ceftazidime-resistant Klebsiella pneumoniae strains producing a

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-03-13]

[DOI: 10.52547/umj.33.2.70]

novel class a beta-lactamase, GES-3, in a neonatal intensive care unit in Japan. Antimicrob Agents Chemother 2004;48(6):1960-7.

9. Komijani M, Bouzari M, Rahimi F. Detection of TEM, SHV and CTX-M Antibiotic Resistance Genes in Escherichia coli Isolates from Infected Wounds. Med Lab J 2017;11(2):30-5.
10. Jena J ,Sahoo RK, Debata NK, Subudhi E. Prevalence of TEM, SHV, and CTX-M genes of extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli strains isolated from urinary tract infections in adults. Biotech 2017;7(4):244.
11. Salah FD, Soubeiga ST, Ouattara AK, Sadji AY, Metuor-Dabire A, Obiri-Yeboah D, et al. Distribution of quinolone resistance gene (qnr) in ESBL-producing Escherichia coli and Klebsiella spp. in Lomé, Togo. Antimicrob Resist Infect Control 2019;8(1):104.
12. Yousefi P, Cyrus A, Moghaddasi Z, Dorreh F, Aravand A. The Frequency of Recurrence of Urinary Tract Infection (UTI) in 1- Month to 12-Year-Old Children without Congenital Abnormalities Referred to Arak Amir Kabir Hospital. J Adv Med Biomed Res 2011;19(76):66-76.
13. Maleki N, Tahanasab Z, Mobasherizadeh S, Rezaei A, Faghri J. Prevalence of CTX-M and TEM β-lactamases in Klebsiella pneumoniae Isolates from Patients with Urinary Tract Infection, Al-Zahra Hospital, Isfahan, Iran. Adv Biomed Res 2018;7:10.
14. Behzadi P, Behzadi E, Yazdanbod H, Aghapour R, Akbari Cheshmeh M, Salehian Omran D. A survey on urinary tract infections associated with the three most common uropathogenic bacteria. Maedica 2010;5(2):111-5.
15. Jabrodini A, Heidari F, Taghavi SF, Shokouh MR. The Investigation of Frequency and Antibiotic Resistance Pattern of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Isolated From Urinary Tract Infection in Outpatients Referred to Amiralmomenin Ali Hospital in Gerash City in 2017: A Short Report. J Rafsanjan Univ Med Sci 2018;17(1):75-84.
16. Barzegar S, Arzanlou M, Teimourpour A, Esmaelizad M, Yousefipour M, MohammadShahi J, et al. Prevalence of the Integrons and ESBL Genes in Multidrug-Resistant Strains of Escherichia coli Isolated from Urinary Tract Infections, Ardabil, Iran. Iran J Med Microbiol 2022;16(1):56-65.
17. Sorkhi H, Shahhoseini F, Hajiahmadi M, Pournajaf A, Halaji M, Mohammadi M. A Nine-Year Follow-Up of Antimicrobial Resistance Profile in Children with Urinary Tract Infection in Northern Iran. Iran J Med Microbiol 2022;16(1):43-8.
18. Eslami G, Rezaie MS, Salehifar E, Rafiei A, Langaie T, Rafati MR, et al. Epidemiology of Extended Spectrum Beta Lactamases Producing E. coli Genes in Strains Isolated from Children with Urinary Tract Infection in North of Iran. J Maz Univ Med Sci 2016;25(132):270-9.
19. doosti a, Daryousi M, Barza R, Pasand M. Antibiotic resistance and distribution of beta-lactamase resistance genes in Escherichia coli strains isolated from urinary tract infection in women and children in the city Farsan. J Shahrekord Univ Med Sci 2016;17(6):53-61.
20. Miraalami G, Parviz M, Khalajzadeh S. Evaluation of Antibiotic Resistance in Extended-spectrum Beta-lactamase (ESBL) Genes in the E. coli Isolates of Urinary Infections. J Babol Univ Medical Sci 2015;17(8):19-26.
21. Dehshiri M, Khoramrooz SS, Zoladl M, Khosravani SA, Parhizgari N, Motazedian MH, et al. The frequency of Klebsiella pneumonia encoding genes for CTX-M, TEM-1 and SHV-1 extended-spectrum beta lactamases enzymes isolated from urinary tract infection. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2018;17(1):4.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-03-13]

[DOI: 10.52547/umj.33.2.70]

Resistant Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Escherichia coli among Uropathogens of Pediatrics in North of Iran. Biomed Res Int 2015;2015:309478.

22. Sadeghi M, Sedigh Ebrahim-Saraie H, Mojtahedi A. Prevalence of ESBL and AmpC genes in E. coli isolates from urinary tract infections in the north of Iran. New Microbes New Infect 2021;45:100947.
23. Rezai MS, Salehifar E, Rafiei A, Langaee T, Rafati M, Shafahi K, et al. Characterization of Multidrug

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-03-13]

[DOI: 10.52547/umj.33.2.70]

Original Article

INVESTIGATION OF *SHV*, *TEM*, AND *CTX-M* GENES FREQUENCY IN *ESCHERICHIA COLI* AND *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ISOLATES IN CHILDREN WITH UTI IN RASHT CITY, IRAN

*Shirin Fekri Kohan[1], Mohammad Hedayati[2], Zahra Shamsi Balasbaneh[3], Shayan Majlesi[4],Najmeh Ranji[5]**

Received: 02 July, 2022; Accepted: 24 August, 2022

Abstract

Background & Aims: Urinary tract infection (UTI) is one of the common infections in children which is rapidly acquiring more and more resistance to antimicrobial drugs in the worldwide. The aim of this study was to evaluate the frequency of SHV, TEM and CTX-M genes in Escherichia Coli and Klebsiella Pneumoniae strains isolated from UTI in children in 17 Shahrivar hospital from Rasht city, Iran.

Materials & Methods: In this descriptive cross-sectional study, 49 strains of Escherichia Coli and Klebsiella Pneumoniae were isolated from 17 Shahrivar hospital from Rasht city and identified by biochemical tests. The resistance and susceptibility of the strains to antibiotics was determined by both Kirby Bauer and Broth dilution methods. To evaluate frequency of SHV, TEM, and CTX-M genes in the isolates, the PCR method was used. To statistical analysis, $\chi 2$ test was used with SPSS software version 19.

Results: In this study, the most resistance was observed to Ceftriaxone (88.9%) and ampicillin (81.5%) in Escherichia Coli and to ampicillin (95.5%) and Ceftriaxone (77.3%) in Klebsiella Pneumoniae. Of 49 isolates, 89.8% had SHV gene, 89.8% had CTX-M gene, and 100% had TEM gene.

***Conclusion*:** We concluded that one of the reasons of increasing multi drug resistance in nosocomial isolates of UTI in Rasht may be an increase in horizontal transfer of plasmid genes between these isolates.

Keywords: Escherichia Coli, CTX-M, Klebsiella Pneumoniae, SHV, TEM

Address: Najmeh Ranji, Department of Biology, Faculty of Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran. P.O.Box:3516-41335.
***Tel*:** +98 1333424080
Email: n_ranji@iaurasht.ac.ir

SOURCE: STUD MED SCI 2022: 33(2): 80 ISSN: 2717-008X

Copyright © 2022 Studies in Medical Sciences

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[1] *PhD student, Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran*

[2] *MSc, Genetics, Gilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran*

[3] *MSc, Cell & Molecular Biology, Faculty of Basic Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran*

[4] *MSc, Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran*

[5] *Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran. (Corresponding Author)*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-03-13]

[DOI: 10.52547/umj.33.2.70]