

بررسی مقایسه‌ای شیوع *اشریشیا کلی* مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف در میان جدایه‌های *اشریشیا کلی* ادراری و مدفوعی زنان مبتلا به عفونت دستگاه ادراری شهرستان کرمان

زهرا نظیری^{۱*}، عبدالله درخشنده^۲، ملیحه اکبرزاده نیای^۳، سحر زارع^۴

۱. استادیار بخش میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
۲. استاد بخش میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
۳. دانشجو دکتری بیوتکنولوژی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
۴. دانشجو دکتری باکتری شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

چکیده

زمینه و هدف: چالش مهم برای درمان عفونت ادراری، گسترش *اشریشیا کلی* مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف می‌باشد. لذا فراوانی ژن‌های بتالاکتاماز اصلی، مقاومت نسبت به بتالاکتام‌ها و توانایی تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف در *اشریشیا کلی* ادراری و مدفوعی زنان دچار عفونت ادراری مقایسه شد.

روش‌ها: این مطالعه در سال ۱۳۹۹ بر روی ۶۰ جدایه *اشریشیا کلی* شامل ۳۰ جدایه از ادرار و ۳۰ جدایه از مدفوع ۳۰ زن دچار عفونت ادراری که به آزمایشگاه‌های تشخیصی شهر کرمان مراجعه کرده بودند، انجام گرفت. حضور ژن‌های *bla*_{CTX-M} و *bla*_{TEM} در این جدایه‌ها با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و مقاومت به سفوتاکسیم و سفتریاکسون با روش انتشار از دیسک و فراوانی جدایه‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف با روش تایید فنوتیپی موسسه استاندارد بالینی و آزمایشگاهی بررسی گردید.

نتایج: فراوانی *bla*_{TEM} و *bla*_{CTX-M} در جدایه‌های مدفوعی به ترتیب ۷۳/۳٪ و ۸۶/۷٪ و در جدایه‌های ادراری به ترتیب ۸۳/۳٪ و ۹۰٪ بود. مقاومت به سفوتاکسیم و سفتریاکسون به طور مساوی در ۱۰٪ از جدایه‌های مدفوعی و ۲۳/۳٪، ۲۰٪ و ۲۰٪ از جدایه‌های ادراری مشاهده شد و ۳/۳٪ از جدایه‌های مدفوعی و ۱۳/۳٪ از جدایه‌های ادراری مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف بودند. این فراوانی‌ها در میان جدایه‌های مدفوعی و ادراری تفاوت معنی داری نداشت. تشابه قابل توجه خصوصیات مورد بررسی در میان جدایه‌های مدفوعی و ادراری هر زن، احتمال وجود تشابه ژنتیکی بین عوامل عفونت ادراری و فلور روده و یا انتقال عناصر ژنتیکی متحرک بین آن‌ها را تقویت می‌کند.

نتیجه‌گیری: انجام تست حساسیت ضد میکروبی روی نمونه‌های بالینی جهت انتخاب مؤثرترین دارو و کاهش هزینه‌های درمانی ضروری است.

کلید واژه‌ها:

اشریشیا کلی، عفونت ادراری، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، بتالاکتاماز وسیع الطیف

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه محفوظ است.

مقدمه

عفونت دستگاه ادراری یک بیماری شایع در سراسر جهان است که توسط هر دو گروه باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت و همچنین یکسری از قارچ‌ها ایجاد می‌گردد (۱). این عفونت معمولاً در اثر تهاجم باکتری‌ها به نواحی تحتانی و فوقانی دستگاه ادراری رخ می‌دهد و بخش‌های مختلف دستگاه ادراری تحت تاثیر قرار می‌گیرند (۲). عفونت‌های دستگاه ادراری هم در مراجعین سرپایی و هم در بیماران بستری در بیمارستان مشاهده می‌شود (۳). همچنین این عفونت‌ها می‌توانند در سنین مختلف هم در مردان و هم در زنان رخ دهند، اما زنان به دلیل وضعیت آناتومیک و فیزیولوژیک خاص خود نسبت به ابتلا به عفونت‌های ادراری حساسیت بیشتری دارند (۲). چرا که ورود عوامل عفونی به دستگاه ادراری معمولاً از راه مجرای ادراری (میزراه) اتفاق می‌افتد و کوتاهتر بودن مجرای ادراری در زنان نسبت به مردان سبب می‌گردد که عوامل عفونی وارد شده قبل از حذف در حین دفع ادرار به مثانه راه پیدا کنند، در نتیجه زنان نسبت به ابتلا به عفونت دستگاه ادراری مستعدتر هستند (۴).

متداول‌ترین ارگانسیم‌های ایجاد کننده عفونت‌های دستگاه ادراری، باکتری‌های روده‌ای به ویژه *اشریشیا کلی* هستند که در اطراف مقعد، دهانه واژن و اطراف مجرای ادراری ساکن هستند. حرکت بالارونده این باکتری‌ها به سمت مجاری ادراری و مثانه سبب بروز عفونت ادراری می‌گردد (۳، ۵). نزدیکی روزنه میزراه در زنان به دهانه واژن و مقعد که حاوی جمعیت بزرگی از باکتری‌ها هستند نیز زنان را آسیب پذیرتر می‌کند (۴).

سنگ بنای درمان هرگونه عفونت باکتریایی از جمله عفونت دستگاه ادراری، درمان ضد میکروبی است. یکی از چالش‌های مهم در این زمینه، باکتری‌های مقاومی هستند که سبب عفونت ادراری و عفونت ادراری راجعه می‌شوند. این چالش با افزایش شیوع مقاومت ضد میکروبی و گسترش بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) و باکتری‌های دارای مقاومت چندگانه دارویی پیچیده تر می‌گردد (۳). نگرانی ویژه بیشتر در مورد باکتری‌های اعضاء خانواده *انتروباکتریاسه* به ویژه *اشریشیا کلی* می‌باشد که

دارای پلاسمیدهای اکتسابی کد کننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف هستند. این آنزیم‌ها اثر گسترده‌ای بر روی پنی سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها داشته و با شکستن پیوند آمیدی حلقه بتالاکتام، سبب غیرفعال شدن آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام که یکی از مؤثرترین داروهای ضد میکروبی می‌باشند، می‌گردند. علاوه بر این به دلیل حضور ژن‌های مقاومت نسبت به سایر آنتی بیوتیک‌ها از جمله آمینوگلیکوزیدها، سولفونامیدها و کوئینولون‌ها بر روی پلاسمیدهای حامل ژن‌های بتالاکتام، باکتری‌هایی که این پلاسمیدها را کسب می‌کنند دارای مقاومت چندگانه دارویی شده و این پلاسمیدها به سرعت مقاومت ضد میکروبی را گسترش می‌دهند (۱). در نتیجه این گسترش، گزینه‌های درمانی محدود شده، بیمار پاسخ مناسب به درمان ضد میکروبی نداده و عوارض ناشی از عفونت افزایش می‌یابد. همچنین مدت زمان بستری شدن در بیمارستان طولانی‌تر شده و عود مجدد عفونت سبب افزایش هزینه اقتصادی ناشی از این بیماری خواهد شد (۶).

با توجه به شیوع بالا عفونت ادراری در زنان و افزایش مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های مصرفی متعاقب استفاده بی رویه از داروهای ضد میکروبی، هدف از مطالعه حاضر، بررسی حضور دو ژن اصلی کد کننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف (*bla*_{TEM} و *bla*_{CTX-M}) در سویه‌های *اشریشیا کلی* جدا شده از مدفوع و ادرار زنان مبتلا به عفونت‌های ادراری بود. علاوه بر این، آزمایش تعیین حساسیت جدایه‌ها نسبت به سه آنتی بیوتیک بتالاکتام سفنازیدیم، سفوتاکسیم و سفتریاکسون و آزمایش تایید فنوتیپی حضور بتالاکتامازهای وسیع الطیف بر روی جدایه‌ها انجام گردید. همچنین به منظور بررسی احتمال تشابه خصوصیات سویه‌های *اشریشیا کلی* جدا شده از ادرار زنان مبتلا به عفونت‌های دستگاه ادراری و فلور نرمال دستگاه گوارش آنها، وضعیت حضور ژن‌های کد کننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف، مقاومت نسبت به بتالاکتام‌ها و تولید

مربوط به یک ژن و پنج میکرولیتر آب مقطر استریل و سه میکرولیتر از DNA الگو بود. چرخه دمایی تنظیمی در دستگاه ترموسایکلر برای تشخیص ژن *bla*_{CTX-M} شامل یک چرخه دمایی به مدت پنج دقیقه در ۹۴°C جهت واسرشتگی اولیه و ۲۲ چرخه دمایی شامل یک دقیقه در ۹۴°C جهت واسرشتگی رشته‌های DNA، یک دقیقه در ۵۴°C جهت اتصال آغازگرها، دو دقیقه در ۷۲°C جهت طویل سازی رشته DNA و همچنین یک چرخه دمایی به مدت هفت دقیقه در ۷۲°C جهت طویل سازی نهایی رشته DNA بود. در مورد ژن *bla*_{TEM} دمای اتصال آغازگرها به ۵۳°C کاهش داده شد. سپس الکتروفورز محصولات واکنش PCR در ژل آگاروز ۱٪ به مدت ۶۰ دقیقه در ولتاژ ۹۰ ولت انجام شد و ژل‌ها جهت بررسی حضور ژن‌ها در مقابل اشعه ماوراء بنفش در دستگاه UV ترانس ایلومیناتور (UVitec، انگلستان) مورد بررسی قرار گرفتند. تشکیل باندهای با اندازه ۵۸۸ و ۱۱۵۰ جفت باز به ترتیب نشان دهنده حضور ژن‌های *bla*_{CTX-M} و *bla*_{TEM} در جدایه‌ها می باشد.

آزمایش حساسیت ضد میکروبی جدایه‌های مدفوعی و ادراری اشریشیا کلی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم) و سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم) (پادتن طب، ایران) با استفاده از روش انتشار از دیسک مطابق دستورالعمل موسسه استاندارد بالینی و آزمایشگاهی (CLSI) انجام و نتایج آن تفسیر گردید (۱۱). اشریشیا کلی سویه استاندارد ATCC®25922 جهت کنترل کیفی درستی آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

برای این منظور از روش تایید فنوتیپی توصیه شده توسط CLSI استفاده گردید (۱۱). به این صورت که جدایه‌های مدفوعی و ادراری اشریشیا کلی که حداقل نسبت به یکی از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مورد آزمایش در مرحله قبل مقاومت نشان دادند، با استفاده از روش انتشار از دیسک همزمان در معرض دیسک‌های سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم) به تنهایی و سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم) به همراه کلولانیک اسید (۱۰ میکروگرم) و همچنین دیسک‌های سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم) به تنهایی و سفتازیدیم (۳۰

بتالاکتام‌های وسیع الطیف در جدایه‌های ادراری و مدفوعی هر زن مورد مقایسه قرار گرفت.

روش‌ها

این مطالعه در سال ۱۳۹۹ بر روی تعداد ۶۰ جدایه اشریشیا کلی شامل ۳۰ جدایه از نمونه ادرار میانی و ۳۰ جدایه از نمونه مدفوع که قبلاً از ۳۰ زن متاهل غیر آبستن ۷۰-۲۰ ساله مبتلا به عفونت دستگاه ادراری جمع‌آوری شده بود، انجام گرفت (۷). این زنان به صورت سرپایی طبق دستور پزشک به آزمایشگاه‌های تشخیصی در شهر کرمان مراجعه کرده بودند و سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک و بیماری گوارشی در یک ماه قبل از نمونه‌گیری نداشتند. از همه زنان شرکت کننده در این مطالعه رضایتنامه کتبی آگاهانه اخذ گردیده و اصول اخلاقی براساس معاهده هلسینکی رعایت و مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه شیراز (کد: PHD9133242) قرار گرفته است.

در آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه شیراز جداسازی و تایید جدایه‌های اشریشیا کلی با کشت نمونه‌ها بر روی محیط مک‌کانکی آگار (مرک، آلمان) و محیط ائوزین متیلن بلو آگار (مرک، آلمان) به مدت ۲۴ ساعت و همچنین انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی تشخیصی متداول از جمله آزمایش اکسیدان، کاتالاز، اندول، حرکت، MR-VP و سیترات صورت گرفت (۷).

بررسی ژنوتیپی حضور ژن‌های کد کننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف

برای این منظور ابتدا DNA جدایه‌ها با روش جوشاندن استخراج گردید (۸). سپس جهت تشخیص حضور ژن *bla*_{CTX-M} با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) از آغازگرهای 5'-F: 3'-gatatcgttggtggtgccata-3' و accgccgataattcgcat-3' (۹) و جهت تشخیص حضور ژن *bla*_{TEM} از آغازگرهای 5'-F: 3'-tccttgaagacgaaagggc-3' و 5'-acgctcagtgaacgaaaac-3' (۱۰) استفاده گردید. اجزاء تشکیل دهنده واکنش PCR در هر میکروتیوب ۰/۲ میلی لیتری استریل شامل میزان ۱۰ میکرولیتر از Taq DNA Polymerase 2x Master Mix RED (آمپلیکون، دانمارک)، یک میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای جلو و معکوس

از میان ۳۰ زن مورد مطالعه، در (۵۰٪) ۱۵ زن، جدایه ادراری و جدایه مدفوعی هر فرد از نظر حضور ژن‌های کدکننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف وضعیت مشابهی داشته و دارای هر دو ژن bla_{CTX-M} و bla_{TEM} بودند. در (۳۰٪) ۹ زن، جدایه ادراری و جدایه مدفوعی هر فرد فقط از نظر حضور ژن bla_{TEM} تشابه داشته و در (۶۷٪) ۲ زن، جدایه ادراری و جدایه مدفوعی هر فرد فقط از نظر حضور ژن bla_{CTX-M} تشابه بودند. در (۶۷٪) ۲ زن، جدایه ادراری و جدایه مدفوعی هر فرد از این نظر که دارای ژن bla_{CTX-M} و فاقد ژن bla_{TEM} بودند با هم تشابه داشتند. در (۳/۳٪) ۱ زن، جدایه ادراری و جدایه مدفوعی از این نظر که دارای ژن bla_{TEM} و فاقد ژن bla_{CTX-M} بودند با هم تشابه بودند. در (۳/۳٪) ۱ زن، جدایه ادراری و جدایه مدفوعی فقط از نظر عدم حضور ژن bla_{CTX-M} با هم مشابهت داشتند.

از میان ۶۰ جدایه/اشریشیا کلی مورد آزمایش، به ترتیب (۱۶/۷٪) ۱۰، (۱۵٪) ۹ و (۱۵٪) ۹ جدایه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفنازیدیم، سفوتاکسیم و سفتریاکسون مقاومت نشان دادند. فراوانی مقاومت نسبت به این سه آنتی‌بیوتیک در میان جدایه‌های مورد آزمایش با هم اختلاف معنی‌داری نداشت ($P=1$). فراوانی جدایه‌های مقاوم نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام به تفکیک منشاء جدایه‌ها در شکل ۱ گزارش شده است (شکل ۱). بررسی آماری نتایج نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین فراوانی مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفنازیدیم ($P=0/166$)، سفوتاکسیم ($P=0/472$) و سفتریاکسون ($P=0/472$) در میان جدایه‌های ادراری و مدفوعی می‌باشد.

پنج الگوی مختلف از وضعیت مقاومت یا حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفنازیدیم، سفوتاکسیم و سفتریاکسون در میان جدایه‌های اشریشیا کلی مشاهده گردید که فراوانی این الگوها در میان کل جدایه‌ها و همچنین به تفکیک در جدایه‌های ادراری و مدفوعی در جدول ۲ گزارش شده است (جدول ۲). این الگوها شامل مقاومت تنها نسبت به یکی از آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش و مقاومت یا حساسیت همزمان نسبت به هر سه آنتی‌بیوتیک بتالاکتام مورد آزمایش بودند. الگوی مقاومت

میکروگرم) به همراه کلوالانیک اسید (۱۰ میکروگرم) (پادتن طب، ایران) قرار گرفتند. پس از انجام مراحل گرمخانه گذاری به مدت ۱۸-۲۴ در دمای 37°C ، قطر هاله مهار رشد اطراف دیسک‌های سفوتاکسیم و سفنازیدیم به تنهایی با قطر هاله مهار رشد اطراف دیسک‌های حاوی هر یک از این آنتی‌بیوتیک‌ها به همراه کلوالانیک اسید مقایسه گردید. طبق دستورالعمل CLSI، جدایه‌هایی که قطر هاله مهار رشد اطراف دیسک‌های حاوی کلوالانیک اسید حداقل به میزان ۵ میلی‌متر بیشتر از این قطر در اطراف همان دیسک‌ها به تنهایی بود، به عنوان جدایه‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) در نظر گرفته شدند (۱۱). به منظور تعیین درصد‌های فراوانی و همچنین مقایسه نتایج به دست آمده در جدایه‌های مدفوعی و ادراری اشریشیا کلی از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶، آمریکا) استفاده گردید. برای اعلام معنی‌داری اختلاف نتایج بدست آمده، میزان P کمتر یا مساوی ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

از میان ۶۰ جدایه/اشریشیا کلی مورد آزمایش، (۷۸/۳٪) ۴۷ جدایه دارای ژن bla_{CTX-M} و (۸۸/۳٪) ۵۳ جدایه دارای ژن bla_{TEM} بودند. فراوانی این دو ژن در میان جدایه‌های مورد آزمایش با هم اختلاف معنی‌داری نداشت ($P=1$). فراوانی ژن‌های bla_{CTX-M} و bla_{TEM} به تفکیک در جدایه‌های ادراری و مدفوعی در شکل ۱ گزارش شده است (شکل ۱).

بررسی آماری نتایج نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین فراوانی ژن bla_{CTX-M} در میان جدایه‌های ادراری و مدفوعی ($P=0/347$) و فراوانی ژن bla_{TEM} در میان جدایه‌های ادراری و مدفوعی ($P=1$) می‌باشد.

چهار الگوی مختلف از وضعیت حضور یا عدم حضور ژن‌های bla_{CTX-M} و bla_{TEM} در میان جدایه‌های اشریشیا کلی مشاهده گردید که فراوانی این الگوها در میان کل جدایه‌ها و همچنین به تفکیک در جدایه‌های ادراری و مدفوعی در جدول ۱ گزارش شده است (جدول ۱).

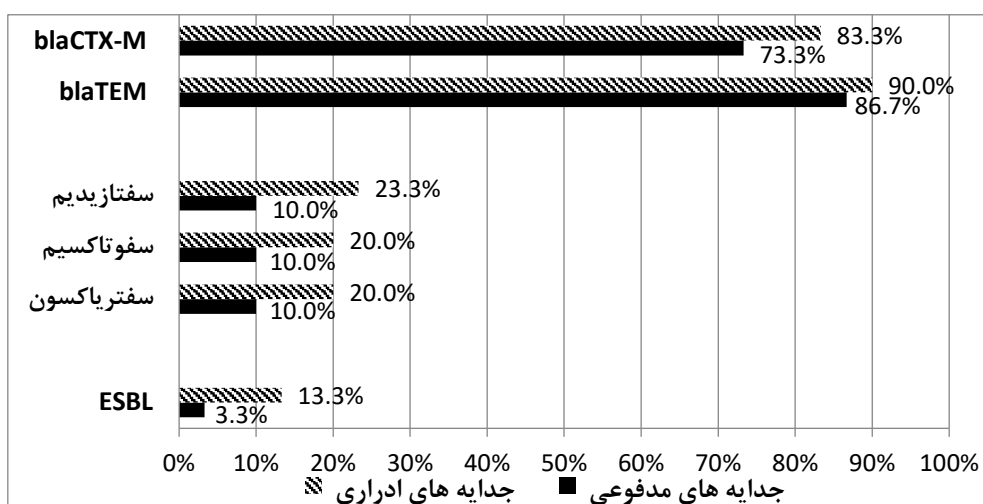
M و *bla*_{TEM} می‌باشد. همچنین (۸۰٪) ۴ جدایه دیگر متعلق به نمونه‌های ادرار بودند که سه مورد از آن‌ها دارای هر دو ژن *bla*_{TEM} و *bla*_{CTX-M} بودند و یک مورد فقط دارای ژن *bla*_{TEM} بود. همه این پنج جدایه نسبت به هر سه آنتی‌بیوتیک بتالاکتاماز مورد آزمایش مقاومت نشان دادند. فراوانی جدایه‌های مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف به تفکیک منشأ جدایه‌ها در شکل ۱ گزارش شده است (شکل ۱). بررسی آماری نتایج نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین فراوانی جدایه‌های مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف در میان جدایه‌های ادراری و مدفوعی می‌باشد (P=۰/۳۵۳).

از میان ۳۰ زن مورد مطالعه، در (۸۳/۳٪) ۲۵ زن، جدایه ادراری و جدایه مدفوعی هر فرد به طور مشابه مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف نبودند. اما در (۱۶/۷٪) ۵ زن دیگر، جدایه ادراری و جدایه مدفوعی هر فرد از نظر تولید یا عدم تولید آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف وضعیت مشابهی نداشتند. جدایه‌های مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف به طور همزمان هم در نمونه ادرار و هم در نمونه مدفوع هیچ یک از زنان مورد آزمایش مشاهده نگردید.

همزمان نسبت به فقط دو آنتی‌بیوتیک بتالاکتاماز در بین جدایه‌های اشریشیا کلی مورد آزمایش مشاهده نشد (جدول ۲).

از میان ۳۰ زن مورد مطالعه، در (۶۲/۳٪) ۱۹ زن، جدایه ادراری و جدایه مدفوعی هر فرد به طور مشابه نسبت به هر سه آنتی‌بیوتیک حساس بودند. در (۶/۷٪) ۲ زن، جدایه ادراری و جدایه مدفوعی هر فرد به طور مشابه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم و سفتریاکسون حساس بودند و در (۳/۳٪) ۱ زن، جدایه ادراری و جدایه مدفوعی به طور مشابه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم و سفتریاکسون حساس بودند. هر دو جدایه ادراری و مدفوعی فقط در (۳/۳٪) ۱ زن به طور مشابه نسبت به سفتریاکسون مقاوم بودند. در (۲۳/۳٪) ۷ زن دیگر، جدایه ادراری و جدایه مدفوعی هر فرد از نظر حساسیت یا مقاومت نسبت به سه آنتی‌بیوتیک بتالاکتاماز مورد آزمایش تشابهی نداشتند.

نتایج آزمایش تایید فنوتیپی حضور بتالاکتامازهای وسیع الطیف نشان داد که از میان ۶۰ جدایه اشریشیا کلی مورد آزمایش، فقط (۸/۳٪) ۵ جدایه مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBLs) بودند. از این میان (۲۰٪) ۱ جدایه متعلق به نمونه مدفوع بود که در بررسی مولکولی مشخص گردید که دارای هر دو ژن *bla*_{CTX-M}



شکل ۱: فراوانی ژن‌های *bla*_{TEM} و *bla*_{CTX-M} جدایه‌های مقاوم نسبت به سفتازیدیم، سفوتاکسیم و سفتریاکسون و جدایه‌های مولد ESBL به تفکیک در میان جدایه‌های اشریشیا کلی ادراری و مدفوعی

جدول ۱: فراوانی الگوی توزیع دو نوع اصلی از ژن‌های مولد آنزیم بتالاکتاماز در جدایه‌های اشریشیا کلی

الگوی توزیع	جدایه‌های مدفوعی اشریشیا کلی (۳۰)	جدایه‌های ادراری اشریشیا کلی (۳۰)	کل جدایه‌های اشریشیا کلی (۶۰)
حضور <i>bla</i> _{CTX-M} به تنهایی	۴ (۱۳٪/۳)	۲ (۶٪/۷)	۶ (۱۰٪/۰)
حضور <i>bla</i> _{TEM} به تنهایی	۸ (۲۶٪/۷)	۴ (۱۳٪/۳)	۱۲ (۲۰٪/۰)
حضور همزمان <i>bla</i> _{CTX-M} و <i>bla</i> _{TEM}	۱۸ (۶۰٪/۰)	۲۳ (۷۶٪/۷)	۴۱ (۶۸٪/۳)
عدم حضور هر دو ژن <i>bla</i> _{CTX-M} و <i>bla</i> _{TEM}	۰ (۰٪/۰)	۱ (۳٪/۳)	۱ (۱٪/۷)

جدول ۲: فراوانی الگوی توزیع مقاومت نسبت به سه آنتی‌بیوتیک بتالاکتام در بین جدایه‌های اشریشیا کلی

الگوی توزیع مقاومت آنتی‌بیوتیکی	جدایه‌های مدفوعی اشریشیا کلی (۳۰)	جدایه‌های ادراری اشریشیا کلی (۳۰)	کل جدایه‌های اشریشیا کلی (۶۰)
مقاومت فقط نسبت به سفتازیدیم	۱ (۳٪/۳)	۱ (۳٪/۳)	۲ (۳٪/۳)
مقاومت فقط نسبت به سفوتاکسیم	۱ (۳٪/۳)	۰ (۰٪/۰)	۱ (۱٪/۷)
مقاومت فقط نسبت به سفتریاکسون	۱ (۳٪/۳)	۰ (۰٪/۰)	۱ (۱٪/۷)
مقاومت نسبت به هر سه آنتی‌بیوتیک بتالاکتام	۲ (۶٪/۷)	۶ (۲۰٪/۰)	۸ (۱۳٪/۳)
حساسیت نسبت به هر سه آنتی‌بیوتیک بتالاکتام	۲۵ (۸۳٪/۳)	۲۳ (۷۶٪/۷)	۴۸ (۸۰٪/۰)

بحث

ژن‌های *bla*_{CTX-M} و *bla*_{TEM} از فراوان‌ترین ژن‌های گزارش شده در جدایه‌های اشریشیا کلی مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در نمونه‌های انسانی، حیوانی و محیطی می‌باشند (۱۲). چنان‌که در مطالعه حاضر ۱۰۰٪ جدایه‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف دارای ژن *bla*_{TEM} و ۸۰٪ از آن‌ها دارای ژن *bla*_{CTX-M} بودند. به طور مشابه، در بررسی باکتری‌های اشریشیا کلی جدا شده از نمونه‌های بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری در بیمارستانی در اتیوپی مشخص شد که ژن *bla*_{CTX-M} در ۸۸٪ از جدایه‌ها حضور دارد (۱۳). همچنین در مطالعه Jena و همکاران در سال ۲۰۱۷، ژن *bla*_{TEM} با فراوانی ۹۳٪/۴۷ و پس از آن ژن *bla*_{CTX-M} با فراوانی ۸۲٪/۶ شایع‌ترین ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های اشریشیا کلی جدا شده از ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری بودند (۱۴). مطالعات متعددی حضور همزمان دو ژن *bla*_{CTX-M} و *bla*_{TEM} را در جدایه‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف گزارش کردند. به طور مثال، سیدجوادی و همکاران

امروزه افزایش شیوع و گسترش سریع باکتری‌های تولیدکننده آنزیم بتالاکتاماز وسیع‌الطیف منجر به عدم موفقیت درمان بیماری‌های عفونی، افزایش نرخ عفونت‌های بیمارستانی و در نتیجه تهدید بهداشت عمومی در سراسر جهان شده است. از نظر پراکندگی، شیوع ارگانیزم‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در نقاط مختلف جهان متفاوت است. با توجه به اهمیت باکتری اشریشیا کلی در ایجاد عفونت ادراری، مطالعات متعددی در زمینه مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در این باکتری در کشورهای مختلف و همچنین چندین منطقه از کشور ایران انجام گرفته است. در مطالعه حاضر نیز فراوانی دو ژن بتالاکتاماز اصلی، مقاومت نسبت به سه آنتی‌بیوتیک بتالاکتام و توانایی تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در جدایه‌های اشریشیا کلی ادراری و جدایه‌های اشریشیا کلی مدفوعی زنان مبتلا به عفونت دستگاه ادراری بررسی و مورد مقایسه قرار گرفت.

مقاومت دارویی باکتری‌ها و انجام اقدامات کنترلی برای جلوگیری از شیوع بیشتر مقاومت دارویی تاکید می‌کند.

در مطالعه حاضر ۳/۳٪ از جدایه‌های مدفوعی و ۱۳/۳٪ از جدایه‌های ادراری مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف بودند. در یک مطالعه مروری، شیوع تلفیقی سویه‌های اشریشیا کلی روده‌ای مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف در جهان در فاصله سال‌های ۲۰۰۳-۲۰۱۸ حدود ۱۶/۵٪ گزارش شده و بیان گردیده است که این فراوانی از ۲/۶٪ در فاصله سال‌های ۲۰۰۳-۲۰۰۵ به ۲۱/۱٪ در فاصله سال‌های ۲۰۱۵-۲۰۱۸ افزایش پیدا کرده است. همچنین بیشترین فراوانی این سویه‌ها در جنوب شرقی آسیا (۲۷٪) و کمترین فراوانی در اروپا (۶٪) مشاهده شده است (۲۱). علاوه بر این، میزان شیوع متفاوتی از سویه‌های اشریشیا کلی مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف، از ۳/۳٪ در جدایه‌های بیماران مبتلا به عفونت ادراری در فرانسه (۲۲) تا ۷۳/۵۸٪ در جدایه‌های کلینیکی در هند (۲۳)، در مطالعات گوناگون در سراسر جهان گزارش شده است. در ایران نیز فراوانی جدایه‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف در میان باکتری‌های اشریشیا کلی جدا شده از نمونه‌های ادراری مشکوک به عفونت در کرج ۲۳/۳۳٪ (۱۸)، در میان باکتری‌های اشریشیا کلی جدا شده از عفونت ادراری در تبریز ۲۶٪ (۲۴)، در میان باکتری‌های اشریشیا کلی جدا شده از نمونه‌های ادراری در سنجند ۲۷٪ (۱۷) و در میان باکتری‌های اشریشیا کلی جدا شده از نمونه‌های ادراری مشکوک به عفونت در فردیس کرج ۳۵/۷٪ (۲۵) گزارش شده است. تنوع فراوانی باکتری‌های اشریشیا کلی مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف در نقاط مختلف جهان و حتی در نواحی مختلف در یک کشور می‌تواند تحت تاثیر تفاوت در آنتی بیوتیک‌های متداول مورد استفاده به ویژه میزان تجویز یا استفاده خودسرانه از داروهای گروه سفالوسپورین‌ها در این مناطق باشد. با وجود اینکه فراوانی باکتری‌های اشریشیا کلی مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف در مطالعه حاضر کمتر از مطالعات قبلی نام برده شده که در ایران انجام گرفته و همچنین کمتر از میانگین جهانی ذکر شده در مطالعه Bezabih و همکاران (۲۱) می‌باشد، اما بالا

در سال ۲۰۱۶ بیان کردند که ۲۲٪ از جدایه‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف مربوط به نمونه‌های ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری بستری در بیمارستانی در ایران، به طور همزمان دارای هر دو ژن *bla*_{TEM} و *bla*_{CTX-M} بودند (۱۵). حضور همزمان دو ژن *bla*_{TEM} و *bla*_{CTX-M} در ۵ سویه از ۲۰ سویه اشریشیا کلی مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف جدا شده از نمونه‌های خون، ادرار، مدفوع و مایعات مجاری تنفسی بیماران بستری در بیمارستانی در هند، گزارش شده است (۱۶). در مطالعه حاضر نیز (۸۰٪) ۴ جدایه از ۵ جدایه مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف به طور همزمان دارای هر دو ژن *bla*_{CTX-M} و *bla*_{TEM} بودند.

در مطالعه حاضر مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های سفتازیدیم، سفوتاکسیم و سفتریاکسون به طور مساوی در ۱۰٪ از جدایه‌های مدفوعی و ۲۳/۳٪، ۲۰٪ و ۲۰٪ از جدایه‌های ادراری مشاهده شد. در مطالعات دیگر در ایران، فراوانی مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک‌ها به ترتیب ۲۵٪، ۳۲٪ و ۲۷٪ در باکتری‌های اشریشیا کلی جدا شده از نمونه‌های ادراری در سنجند (۱۷) و به ترتیب ۱۶/۶۶٪، ۳۱/۶۶٪ و ۳۰٪ در باکتری‌های اشریشیا کلی جدا شده از نمونه‌های ادراری بیماران مشکوک به عفونت ادراری در کرج (۱۸) گزارش گردید. در مطالعه‌ای در پاکستان فراوانی باکتری‌های اشریشیا کلی مقاوم به آنتی بیوتیک‌های سفتازیدیم، سفوتاکسیم و سفتریاکسون در نمونه‌های ادرار بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری به ترتیب ۴۳/۴۹٪، ۷۶/۵۴٪ و ۶۴/۳۵٪ بود (۱۹). این فراوانی در میان باکتری‌های اشریشیا کلی جدا شده از عفونت ادراری در چین به ترتیب ۲۰/۴٪، ۳۸/۳٪ و ۳۸/۳٪ گزارش شد (۲۰). در مطالعه حاضر، با وجود این که فراوانی مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های سفتازیدیم، سفوتاکسیم و سفتریاکسون در باکتری‌های اشریشیا کلی جدا شده از نمونه‌های ادرار میانی و مدفوع زن‌های مبتلا به عفونت دستگاه ادراری نسبتاً کمتر از فراوانی گزارش شده در مطالعات قبلی بود، اما این میزان مقاومت دارویی نیز می‌تواند زنگ خطری برای روش‌های درمانی رایج و سلامت عمومی باشد و بر نیاز به نظارت مستمر بر روی وضعیت

کاهش هزینه‌های درمانی و کنترل عفونت ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از همکاری زنان شرکت‌کننده در این مطالعه کمال قدردانی را دارند. علاوه بر این از زحمات آقای دکتر محسن علی نژاد از گروه یورولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان به دلیل همکاری در جمع‌آوری نمونه‌ها و همچنین از خانم دکتر مریم بهادری بدلیل جداسازی باکتری اشریشیا کلی از نمونه‌ها صمیمانه قدردانی می‌گردد. این مقاله حاصل از یک تحقیق با حمایت مالی دانشگاه شیراز می‌باشد. تحقیق حاضر بر روی جدایه‌های نمونه‌های ادرار و مدفوع تحویل داده شده به آزمایشگاه‌های تشخیصی در شهر کرمان با اخذ رضایت‌نامه کتبی آگاهانه انجام شده و مورد تایید کمیته اخلاق دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز (کد: PHD9133242) قرار گرفته است.

تضاد منافع

تعارض منافع وجود ندارد.

مشارکت نویسندگان:

- (۱) مفهوم پردازی و طراحی مطالعه، یا جمع‌آوری داده‌ها، یا تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها: عبدالله درخشنده، زهرا نظیری، سحر زارع، ملیحه اکبرزاده نیاکی
- (۲) تهیه پیش نویس مقاله یا بازبینی آن جهت تدوین محتوای اندیشمندانه: زهرا نظیری، ملیحه اکبرزاده نیاکی
- (۳) تایید نهایی دستنوشته پیش از ارسال به مجله: همه نویسندگان

بودن میزان فراوانی ژن‌های *bla*_{TEM} و *bla*_{CTX-M} در جدایه‌های مطالعه حاضر به دلیل احتمال بیان شدن و بروز فنوتیپی این ژن‌ها در نسل‌های بعدی این باکتری‌ها و همچنین به دلیل حضور این ژن‌ها بر روی عناصر ژنتیکی قابل انتقال و احتمال انتقال افقی این ژن‌ها بین گونه‌های مشابه یا گونه‌های دیگر از باکتری‌ها می‌تواند یک خطر جدی برای بهداشت عمومی باشد.

بر اساس نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر، وجود تشابه قابل توجه بین وضعیت حضور ژن‌های *bla*_{TEM} و *bla*_{CTX-M} حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم، سفوتاکسیم و سفتریاکسون و همچنین وضعیت توانایی تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف در میان باکتری‌های اشریشیا کلی جدا شده از نمونه مدفوع و نمونه ادرار هر زن، به همراه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین فراوانی ژن‌های *bla*_{TEM} و *bla*_{CTX-M} مقاومت نسبت به سفتازیدیم، سفوتاکسیم و سفتریاکسون و همچنین تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف در میان این جدایه‌ها، احتمال وجود تشابه ژنتیکی بین سویه‌های ایجاد کننده عفونت ادراری و فلور روده و یا انتقال عناصر ژنتیکی متحرک بین آن‌ها را تقویت می‌کند.

نتیجه‌گیری

از آنجا که در بیماران عفونی مهم‌ترین عامل عدم پاسخ به درمان ضد میکروبی، مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد، شناسایی سویه‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف و همچنین انجام تست حساسیت ضد میکروبی بر روی نمونه‌های بالینی جهت انتخاب مؤثرترین روش درمان آنتی‌بیوتیکی و در نتیجه

References

1. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature Reviews Microbiology*. 2015;13(5):269-84.
2. Vasudevan R. Urinary tract infection: an overview of the infection and the associated risk factors. *Journal of Microbiology & Experimentation*. 2014;1(2):42-54.
3. Abou Heidar NF, Degheili JA, Yacoubian AA, Khauli RB. Management of urinary tract infection in women: A practical approach for everyday practice. *Urology annals*. 2019;11(4):339-46.
4. Foxman B. The epidemiology of urinary tract infection. *Nature Reviews Urology*. 2010;7(12):653-60.
5. Bono MJ, Leslie SW, Reygaert WC. Urinary Tract Infection. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. PMID: 29261874.
6. Gajdács M, Albericio F. Antibiotic resistance: from the bench to patients. *Antibiotics*. 2019;8(3):129.
7. Bahadori M, Motamedifar M, Derakhshandeh A, Firouzi R, Motamedi Boroojeni A, Alinejad M, et al. Genetic relatedness of the *Escherichia coli* fecal population and strains causing urinary tract infection in the same host. *MicrobiologyOpen*. 2019;8(6):e00759.
8. Bahadori M, Motamedifar M, Derakhshandeh AA, Motamedi Borujeni A, Ali Nejad M, Nazari Z. Comparison of Antibiotic Resistance and Frequency of Virulence Genes in Urinary and Fecal *Escherichia coli* in Patients with Urinary Tract Infection. *Armaghane-danesh*, 2018; 23(3): 378-89.
9. Tabar MM, Mirkalantari S, Amoli RI. Detection of ctx-M gene in ESBL-producing *E. coli* strains isolated from urinary tract infection in Semnan, Iran. *Electronic physician*. 2016;8(7):2686-90.
10. Brinas L, Zarazaga M, Sáenz Y, Ruiz-Larrea F, Torres C. β -Lactamases in ampicillin-resistant *Escherichia coli* isolates from foods, humans, and healthy animals. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2002;46(10):3156-63.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing CLSI supplement M100. 28TH ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute;2018.
12. Ortega-Paredes D, Haro M, Leoro-Garzón P, Barba P, Loaiza K, Mora F, et al. Multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from canine faeces in a public park in Quito, Ecuador. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2019;18:263-8.
13. Sewunet T, Asrat D, Woldeamanuel Y, Ny S, Westerlund F, Aseffa A, et al. Polyclonal spread of blaCTX-M-15 through high-risk clones of *Escherichia coli* at a tertiary hospital in Ethiopia. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2022;29:405-12.
14. 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. *3 Biotech*. 2017;7(4):1-7.
15. Seyedjavadi SS, Goudarzi M, Sabzehali F. Relation between blaTEM, blaSHV and blaCTX-M genes and acute urinary tract infections. *Journal of Acute Disease*. 2016;5(1):71-6.
16. Sharma M, Pathak S, Srivastava P. Prevalence and antibiogram of Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL) producing Gram negative bacilli and further molecular

characterization of ESBL producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. Journal of clinical and diagnostic research. 2013;7(10):2173-7.

17. Moosavi SS, Davari K, Amini S. Prevalence of (CTX-M-2) beta lactamase gene in *E. coli* isolated from patients with urinary tract infections (UTI) in Sanandaj, Iran. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2016;20(6):107-15.

18. Saadati P, Bafroee AS, Jabalameli L, Makarem S. Evaluating the antibacterial effect of a new spirooxindole derivative nanoparticle on Extended Spectrum β -Lactamases (ESBLs) producing *Escherichia coli* from patients with urinary tract infections at hospitals of Karaj, Iran. Razi Journal of Medical Sciences. 2020;26(12):56-66.

19. Hussain T, Moqadasi M, Malik S, Zahid AS, Nazary K, Khosa SM, et al. Uropathogens Antimicrobial Sensitivity and Resistance Pattern From Outpatients in Balochistan, Pakistan. Cureus. 2021;13(8):e17527.

20. Jia P, Zhu Y, Li X, Kudinha T, Yang Y, Zhang G, et al. High prevalence of extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* strains collected from strictly defined community-acquired urinary tract infections in adults in china: a multicenter prospective clinical microbiological and molecular study. Frontiers in Microbiology. 2021;12:663033.

21. Bezabih YM, Sabiiti W, Alamneh E, Bezabih A, Peterson GM, Bezabhe WM, et al. The global prevalence and trend of human intestinal carriage of ESBL-producing *Escherichia coli* in the community. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2021;76(1):22-9.

22. Martin D, Fougnot S, Grobost F, Thibaut-Jovelin S, Ballereau F, Gueudet T, et al.. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* in community-onset urinary tract infections in France in 2013. Journal of Infection. 2016;72(2):201-6.

23. Bora A, Hazarika NK, Shukla SK, Prasad KN, Sarma JB, Ahmed G. Prevalence of *bla*TEM, *bla*SHV and *bla*CTX-M genes in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from Northeast India. Indian journal of Pathology and Microbiology. 2014;57(2):249-54.

24. Jalali Dizage L, Nahaei MR, Sadegi J. Study of Antibiotic Susceptibility Pattern and Frequency of Extended Spectrum β -lactamases Genes TEM and SHV in Urinary Tract Isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Tabriz. Journal of Ardabil University of Medical Sciences. 2019;19(3):301-10.

25. Gharavi MJ, Zarei J, Roshani-Asl P, Yazdanyar Z, Sharif M, Rashidi N. Comprehensive study of antimicrobial susceptibility pattern and extended spectrum beta-lactamase (ESBL) prevalence in bacteria isolated from urine samples. Scientific Reports. 2021;11(1):578.

A comparative study of the prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* among urinary and fecal *Escherichia coli* isolates of women with urinary tract infection in Kerman city

Zahra Naziri^{1*}, Abdollah Derakhshandeh², Malihe Akbarzadeh Niaki³, Sahar Zare⁴

1. Assistant Professor of Microbiology; Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

2. Professor of Microbiology; Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

3. PhD student of Biotechnology; Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

4. PhD student of Bacteriology; Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

Corresponding author: Shiraz, Shiraz University, School of Veterinary Medicine,
Department of Pathobiology

Abstract

Background & Aim: Important challenge for treatment of urinary tract infections is the spread of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) producing *Escherichia coli*. Therefore, the frequencies of main beta-lactamase genes, resistance to beta-lactams and the ability of ESBLs production in urinary and fecal *Escherichia coli* of women with urinary tract infections were compared.

Methods: In 60 *Escherichia coli* isolates, including 30 isolates from urine and 30 isolates from stool of 30 women with urinary tract infections, the presence of *bla*_{CTX-M} and *bla*_{TEM} genes was investigated using polymerase chain reaction, resistance to ceftazidime, cefotaxime and ceftriaxone was investigated by the disk diffusion technique and the frequency of ESBLs producing isolates was investigated by the phenotypic confirmation method of the Clinical and Laboratory Standard Institute.

Results: The frequencies of *bla*_{CTX-M} and *bla*_{TEM} in fecal isolates were 73.3% and 86.7%, and in urinary isolates were 83.3% and 90%, respectively. Resistance to ceftazidime, cefotaxime and ceftriaxone was equally observed in 10% of fecal isolates and 23.3%, 20% and 20% of urinary isolates, and 3.3% of fecal isolates and 13.3% of urinary isolates were ESBLs producers. These frequencies were not significantly different between fecal and urinary isolates. The noticeable similarities of the studied characteristics among the fecal and urinary isolates of each woman strengthen the possibility of existence of genetic similarity between urinary infection agents and intestinal flora or transmission of mobile genetic elements between them.

Conclusion: Performing the antimicrobial susceptibility tests on clinical samples is necessary to select the most effective drug and reduce treatment costs.

Keywords:

Escherichia coli, Urinary tract infection, Antibiotic resistance, Extended-spectrum beta-lactamase

How to Cite this Article: Naziri Z, Derakhshandeh A, Akbarzadeh Niaki M, Zare S. A comparative study of the prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* among urinary and fecal *Escherichia coli* isolates of women with urinary tract infection in Kerman city. Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. 2022;10(3):65-75.

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cite.