بررسی شیوع *اشریشیاکلی* حاوی آنزیم‌های بتالاکتاماز طیف گسترده و CTX-M-1 در نمونه‌های عفونت ادراری جمع‌آوری شده از بیمارستان‌های تبریز

محمد مهدی سلطان دلال[۱و۲]
محمد آذرسا[۱]، محمد حسن شیرازی[۱]
عبدالعزیز رستگار لاری[۲]، پرویز اولیاء[۳]
جلیل فلاح مهرآبادی[۴]، آیلار صباغی[۱]
هدروشا ملاآقامیرزایی[۱]
فرناز شامکانی[۵]، سوان آوادیس یانس[۱]
گلناز مبصری[۱]، روناک بختیاری[۱]
محمدکاظم شریفی یزدی[۶*]

۱- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. ۲- مرکز تحقیقات مقاومت‌های میکروبی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. ۳- گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران. ۴- انستیتو بیوانفورماتیک، تهران، ایران. ۵- گروه میکروب-شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز واحد بین‌الملل (ارس)، تبریز، ایران. ۶- گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

[*] نویسنده مسئول: تهران، بلوار کشاورز، خیابان قدس، خیابان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پیراپزشکی، گروه علوم آزمایشگاهی
تلفن: ۸۸۹۹۷۰۴۹-۰۲۱
email: mksharifi@tums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۳/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: مصرف روزافزون مواد ضد میکروبی بتالاکتام در درمان عفونت‌های باکتریایی سبب افزایش مقاومت بر علیه آن‌ها شده است. هم اکنون یکی از معضلات در درمان عفونت‌های بیمارستانی مقاومت آنزیمی به بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBL) در میان ایزوله‌های بالینی به‌ویژه *اشریشیاکلی* می‌باشد. از آنجایی‌که تعدادی از سویه‌ها حساسیت دوگانه در شرایط آزمایشگاهی و درون بدن نشان می‌دهند، انتخاب درمان موثر را با مشکل روبه‌رو می‌کند. در سال‌های اخیر بتالاکتامازهای CTX-M به‌صورت غالب در سراسر جهان شیوع یافته‌اند. میزان شیوع تیپ‌های ESBL در بیشتر نقاط ایران ناشناخته مانده است. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی ESBL و نیز میزان شیوع زیر گروه CTX-M-1 در *اشریشیاکلی* جدا شده از عفونت ادراری در شهر تبریز می‌باشد. ***روش بررسی:*** در این مطالعه ابتدا ۴۰۰ نمونه ادراری از آبان سال ۱۳۸۸ تا فروردین سال ۱۳۸۹ از بیمارستان‌های تبریز جمع‌آوری و ۱۸۸ سویه *اشریشیاکلی* توسط آزمایش‌های بیوشیمیایی تایید شدند. در مرحله بعد تست تعیین حساسیت نسبت به ۱۰ آنتی‌بیوتیک منتخب انجام شد. سپس با استفاده از روش دیسک ترکیبی و سینرژیسم دوبل، سویه‌های تولیدکننده ESBL شناسایی گردیدند. در نهایت با استفاده از روش PCR سویه‌های تولیدکننده آنزیم‌های گروه CTX-M-1 مشخص شدند. ***یافته‌ها:*** نتایج حاصل از تست‌های فنوتیپی نشان داد که از کل ۱۸۸ سویه *اشریشیاکلی* تعداد ۸۲ (۴۳/۶٪) سویه تولیدکننده ESBL می‌باشند. طی روش PCR نیز مشخص شد که از این میان تعداد ۶۹ (۸۴/۱٪) سویه تولیدکننده CTX-M-1 هستند. ***نتیجه‌گیری:*** مطالعه حاضر نشان می‌دهد که سویه‌های *اشریشیاکلی* تولیدکننده CTX-M در حال افزایش هستند. جهت تجویز داروی مناسب نیاز به شناسایی کافی این سویه‌ها می‌باشد.

کلمات کلیدی: *اشریشیاکلی*، بتالاکتاماز طیف گسترده، CTX-M-1، تبریز.

مقدمه

در بین مقاومت‌های دارویی، مقاومت به داروهای ضد میکروبی بتالاکتام (β-lactam) نگرانی اصلی برای درمان عفونت‌های میکروبی می‌باشد.[۱] مکانیسم اصلی مقاومت باکتریایی در برابر آنتی‌بیوتیک‌های کلاس بتالاکتام، تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز می‌باشد. این آنزیم‌ها آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام را قبل از این‌که به پروتیین‌های باندشونده به پنی‌سیلین Penicillin Binding Protein (PBP) در غشای سیتوپلاسمی برسند، هیدرولیز و غیرفعال می‌کنند.[۲] بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) دسته‌ای از آنزیم‌های بتالاکتاماز می‌باشند که اهمیت ویژه‌ای در درمان ضد میکروبی دارند. این آنزیم‌ها قادر به هیدرولیز کامل اکسی مینو بتالاکتام‌ها (Oximino-β-lactams) از قبیل نسل سوم سفالوسپورین‌ها می‌باشند.[۳] میزان تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در میان آنتروباکتریاسه در سراسر جهان متفاوت می‌باشد. در یک مطالعه که اخیرا توسط بانک اطلاعاتی Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST) منتشر شده، بیشترین میزان تولید ESBL به‌ترتیب توسط *کلبسیلا پنومونیه* و *اشریشیاکلی (E.coli)* صورت می‌گیرد.[۲] بروز عفونت‌های اداری توسط باکتری‌های *اشریشیاکلی* تولیدکننده ESBL در سراسر جهان همواره رو به افزایش است.[۴] بتالاکتامازها به دو صورت مولکولی (Ambler) و عملکردی (Bush-Jacoby-Medeiros) طبقه‌بندی

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-22]

می‌شوند.[۲] طبقه‌بندی بتالاکتامازها به‌لحاظ عملکردی هنگامی شروع شد که سفالوسپورینازها از پنی‌سیلینازها متمایز شدند.[۵] ESBLها به‌لحاظ مولکولی در کلاس A و به‌لحاظ عملکردی در گروه دو قرار دارند.[۲] این آنزیم‌ها ابتدا در دهه ۱۹۸۰ شناسایی شدند که بیشتر از نوع TEM و SHV بودند و در نتیجه جهش‌های نقطه‌ای (Point mutation) از آنزیم‌های اصلی فاقد فعالیت وسیع‌الطیف ایجاد شده‌اند. این آنزیم‌ها به‌طور مکرر توسط پلاسمید کد می‌شوند. پلاسمیدهای تولیدکننده ESBL، ژن‌های مقاومت به دیگر کلاس‌هایی آنتی‌بیوتیکی مانند آمینوگلیکوزیدها را نیز حمل می‌کنند.[۶] بتالاکتامازهای CTX-M توسط پلاسمید کد می‌شوند. آن‌ها قادر به هیدرولیز سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف بوده و به‌وسیله اسید کلاولانیک و تازوباکتام مهار می‌شوند.[۳] بتالاکتامازهای CTX-M به‌طور فزاینده‌ای در *اشریشیاکلی* و *کلبسیلا پنومونیه* شایع هستند. این آنزیم‌ها براساس تغییرات اسید آمینه به پنج گروه اصلی (CTX-M1, CTX-M2, CTX-M8, CTX-M9, CTX-M25) تقسیم می‌شوند.[۲] منشاء بعضی از این آنزیم‌ها از ژن‌های کروموزومی *Kluyvera spp.* (از باکتری‌های محیطی) می‌باشد که ژن‌های مربوطه در درون پلاسمید وارد شده و سپس به باکتری‌های پاتوژن منتقل شده‌اند.[۲] تیپ‌های CTX-M2 و CTX-M3 در سراسر جهان شیوع یافته و در کشورهای مختلف از جمله آرژانتین، تیپ‌های غالب می‌باشند. تا به‌حال بیش از ۵۰ نوع CTX-M شناسایی شده‌اند.[۷و۸] در طی بررسی‌هایی که در سال‌های اخیر در ایران انجام شده، آنزیم‌های ESBL، به‌خصوص CTX-M افزایش پیدا کرده‌اند. بیشترین شیوع CTX-M مربوط به زیر گروه CTX-M-1 بوده و بقیه زیر گروه‌ها یا شیوع نداشته و یا درصد کمی را تشکیل می‌دهند.[۷] لذا هدف از این مطالعه بررسی فراوانی ESBL و نیز میزان شیوع زیر گروه CTX-M-1 در *اشریشیاکلی* جدا شده از عفونت ادراری در تبریز می‌باشد.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی ابتدا ۴۰۰ نمونه ادرار از بیماران بستری و سرپایی بیمارستان‌های تبریز در طی شش ماه از آبان‌ماه سال ۱۳۸۸ تا فروردین‌ماه ۱۳۸۹ جمع‌آوری و بر روی محیط کشت انتخابی EMB آگار (ساخت شرکت Merck، Germany) کشت داده شدند. سپس توسط تست‌های بیوشیمیایی از قبیل سیمون سیترات، لیزین دکربوکسیلاز، اوره آز، TSI، SIM و MR/VP که بر روی کلنی‌ها انجام گرفت، ۱۸۸ (۴۷٪) سویه *E.coli* شناسایی گردید. کلنی‌های مربوط به سویه‌های *E.coli* در محیط Skim milk broth در ۷۰ °C- ذخیره شدند تا در مراحل بعدی از این سویه‌ها استفاده شود (تمامی محیط‌های کشت از شرکت مرک آلمان تهیه گردید).

شناسایی فنوتیپی سویه‌های تولیدکننده ESBL: پس از تأیید وجود *E.coli*، به پیشنهاد سازمان Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)، به‌منظور غربال‌گری اولیه ارگانیسم‌های تولیدکننده ESBL، از آزمون دیسک آگار دیفیوژن Disk Agar Diffusion (DAD) استفاده گردید.[۹] در این روش پس از تهیه محیط مولر هینتون آگار (۷/۲ الی ۷/۴ =PH)، سوسپانسیون میکروبی استاندارد با غلظت نیم مک فارلند (0.5 McFarland standard) تهیه گردید. ۱۵ دقیقه پس از پخش کردن کامل سوسپانسیون میکروبی بر روی محیط مذکور، دیسک‌های جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۱/۲۵ میکروگرم)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (پنج میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، آموکسی‌سیلین (۳۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم) و استرپتومایسین (۱۰ میکروگرم) که از شرکت Mast آلمان تهیه شده بودند، به‌فاصله حداقل ۲/۵cm از یکدیگر، بر روی محیط مذکور قرار گرفتند. پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته در دمای ۳۷ °C، با استفاده از خط‌کش، هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری و با استانداردهای جهانی (CLSI) مقایسه شده و طبق دستورالعمل شرکت سازنده دیسک‌ها، نمونه‌های مورد نظر به‌صورت مقاوم (R)، نیمه حساس (I) و حساس (S) گزارش گردیدند. هر گونه کاهش حساسیت در این سویه‌ها می‌تواند گواهی بر وجود این مقاومت باشد. برای این منظور، به پیشنهاد سازمان جهانی CLSI از آزمون Combined disk استفاده شد. در این آزمون همانند الگوی روش دیسک آگار دیفیوژن پس از تهیه محیط مولر هینتون آگار، سوسپانسیون میکروبی با غلظت نیم مک فارلند (حاوی $۱/۵\times۱۰^{۸}$ باکتری) به‌طور کامل در محیط مذکور پخش شد. سپس دیسک‌های سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم- کلاولانیک اسید (۳۰-۱۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم) و سفوتاکسیم- کلاولانیک اسید (۳۰-۱۰ میکروگرم) به‌فاصله حداقل ۲/۵ سانتی‌متر از یکدیگر بر روی محیط قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ °C، هاله عدم رشد اطراف

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-22]

دیسک‌های حاوی کلاولانیک اسید نسبت به بدون کلاولانیک اسید سنجیده شد. به‌طوری که اگر هاله عدم رشد اطراف دیسک سفتازیدیم- کلاولانیک اسید بزرگ‌تر یا مساوی پنج میلی‌متر نسبت به سفتازیدیم به‌تنهایی باشد و یا این‌که هاله عدم رشد اطراف دیسک سفوتاکسیم- کلاولانیک اسید بزرگ‌تر یا مساوی ۳mm نسبت به سفوتاکسیم به‌تنهایی باشد، سویه مورد نظر را می‌توان بر طبق ضابطه CLSI، به‌عنوان مولد ESBL در نظر گرفت.[۱۰]

شناسایی CTX-M-1: برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) ابتدا ایزوله‌های ذخیره شده در Skim milk broth بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شدند و پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته، برای استخراج DNA از این سویه‌ها از روش Boiling استفاده شد.[۱۱] جهت طراحی پرایمر از توالی‌های مربوط به ژن‌های گروه CTX-M-1 در باکتری *اشریشیاکلی* که در بانک ژن ثبت شده بود، استفاده گردید. توالی‌های موجود با استفاده از برنامه MEGA 4 multiple-alignment هم‌تراز شدند. سپس نواحی مشترک در زیر خانواده‌ها مشخص گردید و طراحی پرایمر با استفاده از برنامه Generunner انجام شد. به‌منظور اطمینان از عملکرد اختصاصی این پرایمرها از برنامه BLAST در NCBI استفاده گردید. توالی پرایمرهای مذکور بدین‌صورت می‌باشد:

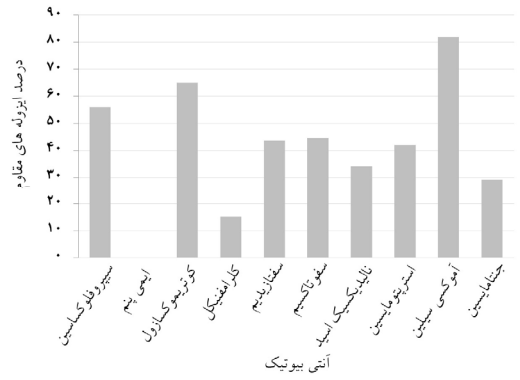
CTX- M-1/F :5'-CGTGGCGATGAATAAGCTG-3'
CTX- M-1/R :5'- GGTGGTATTGCCTTTCATCC-3'[۱۱]

در این فرایند DNA استخراج شده به‌همراه پرایمرهای مربوط به ژن‌های گروه CTX-M-1 در سویه‌های غربال مثبت، در مخلوط واکنش ترکیب شده و جهت تکثیر DNA، PCR صورت گرفت.

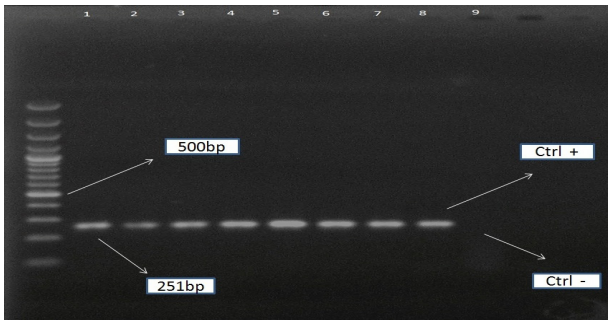
واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵µl شامل: ۵۰ mM، ۱/۵µl MgCl2، ۲/۵µl بافر ۱۰x، ۱۰mM، ۱µl dNTP، ۱µl پرایمر ۵۰ Pmol/µl از هر کدام، (۵U/µl)، ۱/۵µl Taq DNA polymerase، ۲µl DNA الگو ۵۰Pmol/µl و ۱۴/۵µl H2O در طی ۴۰ سیکل، تحت برنامه زمانی ترموسایکلر شامل: مرحله اولیه باز شدن دو رشته DNA به‌مدت سه دقیقه در دمای ۹۴ °C، مرحله باز شدن دو رشته به مدت یک دقیقه در دمای ۹۴ °C، مرحله اتصال پرایمرها به‌مدت یک دقیقه در دمای ۵۹ °C، مرحله طویل شدن رشته هدف به مدت یک دقیقه در دمای ۷۲ °C و مرحله طویل شدن نهایی به‌مدت ده دقیقه در دمای ۷۲ °C انجام شد. قطعه مورد نظر از طریق واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز فراوان‌سازی شده و محصولات ۲۵۱bp بعد از الکتروفورز بر روی ژل آگارز، مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس محصول الکتروفورز از روی ژل استخراج گردید وجهت تعیین توالی (سکانسینگ) ارسال شد. محصول سکانسینگ با استفاده از فرمت FASTA هم‌تراز (Alignment) شد که در نهایت تشابه بالایی (۸۸/۵ درصد) با ژن اصلی مشاهده شد که این امر صحت طراحی پرایمرها و تکثیر درست و مناسب قطعه مورد نظر در طی روند PCR را نشان می‌دهد.[۱۲]

یافته‌ها

در این مطالعه ابتدا ۱۸۸ ایزوله *E.coli* از بیماران بستری و سرپایی بیمارستان‌های تبریز جمع‌آوری و پس از جداسازی توسط آزمون‌های بیوشیمیایی تایید شدند. براساس نتایج حاصل از آزمون غربالی دیسک آگار دیفیوژن، ۸۴ (۴۴/۷٪) سویه به‌عنوان تولیدکننده ESBL مطرح شدند. در طی آزمون سینرژیسم دوبل، تعداد ۸۲ (۴۳/۶٪) سویه به‌عنوان تولیدکننده نهایی ESBL تعیین شدند. نتایج حاصل از



نمودار-۱: بررسی میزان مقاومت نسبت به ۱۰ آنتی‌بیوتیک منتخب



شکل-۱: ژل آگارز حاوی نمونه‌های PCR حاصل از تکثیر ژن‌های گروه CTX-M-1. سمت چپ مارکر ۱۰۰bp، یک تا هفت: ایزوله‌های مثبت، هشت: کنترل مثبت، ۹: کنترل منفی

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-22]

آزمون تعیین حساسیت نسبت به ۱۰ آنتی‌بیوتیک انتخاب شده نیز در نمودار ۱ نشان داده شده است. در این آزمون هیچ سویه مقاومی نسبت به ایمی‌پنم مشاهده نشد. در طی روش PCR که بر روی ۸۲ سویه منتخب انجام شد، مشخص شد که از این میان ۶۹ (۸۴/۱٪) سویه تولیدکننده CTX-M-1 هستند (شکل ۱).

بحث

بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف دسته‌ای از آنزیم‌های بتالاکتاماز هستند که اهمیت ویژه‌ای در درمان ضد میکروبی دارند.[۳] میزان تولید ESBL در میان آنتروباکتریاسه در سراسر جهان متفاوت می‌باشد.[۲] اولین آندمی‌های CTX-M در آمریکای لاتین و اروپای شرقی گزارش شد اما پس از سال ۲۰۰۰ گزارش‌های فراوانی از گسترش این ژن به کشورهای اروپای غربی مانند فرانسه، انگلستان، یونان، اسپانیا و حتی مغولستان ارایه شد.[۱۵-۱۳] در سال‌های اخیر آنزیم CTX-M به‌عنوان شایع‌ترین نوع ESBL به‌خصوص در اروپا و آمریکای شمالی گزارش شده است و انواع تیپ‌های مختلف این آنزیم شناسایی و معرفی شده‌اند.[۱۶] در ایران نیز مطالعات پراکنده‌ای در این مورد صورت گرفته است. Masjedian، با بررسی ۱۴۸ سویه *اشریشیاکلی* و ۷۰ سویه *کلبسیلا پنومونیه* با دو روش دیسک ترکیبی و دیسک دوگانه به‌ترتیب ۵۱٪ (۷۶ مورد) و ۷۰٪ (۴۹ مورد) را مولد ESBL گزارش نمود. این محققین سویه‌های *اشریشیاکلی* و *کلبسیلا پنومونیه* مورد مطالعه را به‌ترتیب ۵۰٪ و ۶۳٪ دارای پلاسمیدهای مقاومت مربوط به آنزیم‌های ESBL گزارش نمود.[۱۷] Sadeghi، ۲۲۱ سویه کلبسیلا و ۲۵۵ سویه *اشریشیاکلی* را از شهرهای تهران و تبریز جدا کرده و با تست‌های Tree Dimensional Test (TDT)، Test Double Disk Synergy (DDST) و E-test تولید ESBL را بررسی کرد. درصد شیوع این مقاومت در گونه‌های کلبسیلا در بیماران بستری و سرپایی شهر تهران به‌ترتیب ۳۱/۴٪ و ۱۲/۲٪ و در *اشریشیاکلی* به‌ترتیب ۶/۱٪ و ۱/۷٪ به‌دست آمد. این ارقام برای شهر تبریز برای گونه‌های کلبسیلا به‌ترتیب ۲۱/۴٪ و ۹/۱٪ و برای *اشریشیاکلی* ۴/۶٪ و ۱/۱٪ به‌ثبت رسید.[۱۸] در مطالعه Mirsalehian با استفاده از روش‌های DAD و PCR که بر روی ۱۵۰ ایزوله آنتروباکتریاسه صورت گرفت، ۵۹/۳ درصد ایزوله‌ها را به‌عنوان تولیدکننده ESBL تعیین کرد که به‌ترتیب *کلبسیلا پنومونیه*، *اشریشیاکلی* و *آنتروباکتر* بیشترین موارد را شامل می‌شدند. در این مطالعه نشان داده شد که بتالاکتاماز TEM (۵۵/۵ درصد) رایج‌ترین نوع ESBL است.[۱۹] در مطالعه Shahcheraghi، که بر روی ۲۰۰ سویه *اشریشیاکلی* از نمونه‌های بالینی مختلف صورت گرفت با استفاده از تست‌های DAD و PCR نشان داد که ۵۲/۵ درصد دارای ژن ESBL هستند که ۲۴ درصد از سویه‌ها دارای ژن TEM و شش درصد از سویه‌ها دارای ژن SHV بودند.[۲۰] Mirzaee، ۱۶۰ ایزوله *اشریشیاکلی* را از نظر تولید بتالاکتامازهای CTX-M با روش PCR بررسی کرد که ۳۷/۸ درصد مثبت بودند. گروه CTX-M-I، ۳۵/۷۸ درصد و گروه CTX-M-III، ۲/۱ درصد از موارد مثبت را تشکیل می‌دادند.[۷] در مطالعه Soltan Dallal که به‌روش DAD و PCR بر روی ۲۰۰ ایزوله *اشریشیاکلی* انجام گرفت، ۶۴ درصد (۱۲۸ سویه) از ایزوله‌ها تولیدکننده ESBL بودند. ژن‌های TEM و SHV به‌ترتیب ۷۴ (۵۷/۸٪) و هفت (۵/۵٪) مورد را شامل می‌شدند.[۱۲و۲۱] براساس نتایج حاصل از این مطالعه و سایر مطالعات انجام شده، استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام وسیع‌الطیف باعث گسترش روزافزون آنزیم‌های ESBL در ایران و نیز سراسر جهان شده است و کاربرد این دسته از آنتی‌بیوتیک‌ها روز به روز محدودتر می‌شود. استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، به‌خصوص سفالوسپورین‌ها باعث افزایش شیوع آنزیم‌های ESBL در *اشریشیاکلی* (که شایع‌ترین عامل عفونت‌های ادراری می‌باشد) شده است. لذا شناسایی کامل ESBLها توسط آزمایشگاه‌ها، محدود کردن استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های ممانعت‌کننده از عملکرد بتالاکتامازها، می‌تواند کارایی آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام را تا حد امکان حفظ کند.

سپاسگزاری: این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به‌شماره قرارداد ۱۰۳۵۰ مورخ ۱۳۸۹/۴/۱۶ می‌باشد.

References

1. Escudero E, Vinué L, Teshager T, Torres C, Moreno MA. Resistance mechanisms and farm-level distribution of fecal Escherichia coli isolates resistant to extended-spectrum cephalosporins in pigs in Spain. *Res Vet Sci* 2010;88(1):83-7.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-22]

2. Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms. *J Hosp Infect* 2009;73(4):345-54.
3. Tzouvelekis LS, Tzelepi E, Tassios PT, Legakis NJ. CTX-M-type beta-lactamases: an emerging group of extended-spectrum enzymes. *Int J Antimicrob Agents* 2000;14(2):137-42.
4. Azap OK, Arslan H, Serefhanoğlu K, Colakoğlu S, Erdoğan H, Timurkaynak F, Senger SS. Risk factors for extended-spectrum beta-lactamase positivity in uropathogenic Escherichia coli isolated from community-acquired urinary tract infections. *Clin Microbiol Infect* 2010;16(2):147-51.
5. Fleming PC, Goldner M, Glass DG. Observations on the nature, distribution, and significance of cephalosporinase. *Lancet* 1963;1(7296):1399-401.
6. Raveh D, Yinnon AM, Broide E, Rudensky B. Susceptibilities of ESBL-producing Enterobacteriaceae to ertapenem, meropenem and piperacillin-tazobactam with and without clavulanic acid. *Chemotherapy* 2007;53(3):185-9.
7. Mirzaee M, Pourmand MR, Chitsaz M, Mansouri S. Antibiotic resistance to third generation cephalosporins dueto CTX-M-Type extended-spectrum β-lactamases in clinical isolates of Escherichia coli. *Iranian J Publ Health* 2009;38(1):10-7.
8. Yu X, Susa M, Weile J, Knabbe C, Schmid RD, Bachmann TT. Rapid and sensitive detection of fluoroquinolone-resistant Escherichia coli from urine samples using a genotyping DNA microarray. *Int J Med Microbiol* 2007;297(6):417-29.
9. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005;18(4):657-86.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement, M100-17. Wayne: CLSI, 2007.
11. Soltan Dallal MM, Mobasseri G, Fallah Mehrabadi J, Eshraghian MR, Rastegar Lari A, Molla Aghamirzaei H, et al. Detection of CTX-M-1 beta lactamase gene in Escherichia coli isolated from clinical samples by Polymerase Chain Reaction (PCR). *Tehran Uni Med J* 2011;69(1):16-21.
12. Soltan Dallal MM, Molla Aghamirzaei H, Fallah Mehrabadi J, Sabbaghi A, Rastegar Lari A, Eshraghian MR, et al. Molecular detection of TEM and AmpC (Dha, mox) broad spectrum β-lactamase in clinical isolates of Escherichia coli: PCR method. *Tehran Uni Med J* 2010;68(6):872-7.
13. Yates C, Amyes S. Extended-spectrum beta-lactamases in non-typhoidal Salmonella spp. isolated in the UK are now a reality: why the late arrival? *J Antimicrob Chemother* 2005;56(2):262-4.
14. 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.
15. Mugnaioli C, Luzzaro F, De Luca F, Brigante G, Perilli M, Amicosante G, et al. CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases in Italy: molecular epidemiology of an emerging countrywide problem. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(8):2700-6.
16. Cantón R, Coque TM. The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* 2006;9(5):466-75.
17. Masjedian GF, Valehi F, Talebi, Rastegar Lari A. Moulecular evaluation of resistance to espanded antibiotics in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. *Iran J Med Microbiol* 2007;1(2):27-34. [Persian]
18. Sadeghi MR, Nahaei MR, Soltan Dallal MM. Resistance to Extended Spectrum β-Lactam antibiotics in *Escherichia coli* and Klebsiella pneumoniae from hospital. *Tabriz Uni Med J* 2008;30(2):79-86. [Persian]
19. Mirsalehian A, Akbari-Nakhjavani F, Peymani A, Kazemi B, Jabal Ameli F, Mirafshar SM. Prevalence of Extended Spectrum β-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae by phenotypic and genotypic methods in intensive care units in Tehran. *Daru* 2008;16(3):169-173.
20. Shahcheraghi F, Nasiri S and Naviri H. Evalouation of presence the bla-SHV and bla-TEM β-Lactamase genes in clinical isolates resistant *Escherichia coli* to antibiotics from Tehran hospital. *Iran J Med Microbiol* 2007;1(3):1-8. [Persian]
21. Soltan Dallal MM, Sabbaghi A, Fallah Mehrabadi J , Molla Aghamirzaei H , Rastegar Lari A, Eshraghian MR, Fard Saneei A. Evaluation of presence the bla-SHV and bla-AmpC (CITM, FOX) β-lactamase genes in clinical isolates of Escherichia coli. *Iran J Med Council* 2010;28(3):269-276.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-22]

Tehran University Medical Journal; Vol. 69, No. 5, August 2011: 273-278

The prevalence of extended-spectrum beta-lactamases and CTX-M-1 producing Escherichia coli in urine samples collected at Tabriz city Hospitals

Mohammad Mehdi Soltan Dallal PhD.[1,2]
Mohammad Azarsa MSc.[1]
Mohammad Hassan Shirazi PhD.[1]
Abdolaziz Rastegar Lari PhD.[2]
Parviz Owlia PhD.[3]
Jalil Fallah Mehrabadi PhD.[4]
Aylar Sabbaghi MSc.[1]
Hedrosha Molla Aghamirzaei MSc.[1]
Farnaz Shamkani MSc.[5]
Sevan Avadis Yans MSc.[1]
Golnaz Mobasseri MSc.[1]
Ronak Bakhtiari MSc.[1]
Mohammad Kazem Sharifi Yazdi PhD.[6*]

1- Department of Pathobiology, School Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2- Antimicrobial Resistant Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.
4- MARS Bioinformatics Institute, Tehran, Iran.
5- Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
6- Department of Medical Laboratory Sciences, School of Para Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[*] Corresponding author: Dept. of Medical Laboratory Sciences, Faculty of Para Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Poursina Ave., Ghods St., Keshavarz Blvd., Tehran, Iran.
Tel: +98-21-88997049
email: mksharifi@tums.ac.ir

Received: May 14, 2011 Accepted: June 15, 2011

Abstract

Background: Numerous use of Beta Lactame in treatment of bacterial infections resulted in increments of drug resistance of such bacteria. One of difficulties in treatment of hospital infections is Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) among isolated clinical strains of *E.coli*. Since some of ESBL strains shows double reaction in drug sensitivity test at in vitro and in vivo condition, therefore it makes difficulties in selection of right treatment. In the last years, CTX-M enzymes have become the most prevalent ESBLs in worldwide. The prevalence of ESBL types largely remains unknown in many parts of the Iran. This study was made to find the prevalence of ESBL-producing *E.coli* and molecular detection of CTX-M-1 in Tabriz.

Methods: In the present study, 400 urine samples collected between November 2009 and April 2010, from Tabriz Hospitals were studied. Out of the 400 samples, 188 *E.coli* isolates were detected by standard biochemical tests. Susceptibility to antimicrobial agents was tested to 10 antibiotics by the disk agar diffusion (DAD) method. ESBL production was screened by phenotypic test that included both separate and combined disk agar diffusion techniques. The screened isolates were investigated by PCR assay to detect CTX-M-1 gene.

Results: From the total 188 *E.coli* isolates, 82 (43.6%) were shown to produce ESBLs by phenotypic test. During the PCR method on the 82 isolates, 69 (84.1%) were confirmed as CTX-M-1 producing group.

Conclusion: The present study showed that CTX-M-producing isolates were increasing among *E.coli* strains and indicated the need for adequate susceptibility tests in laboratories for choosing the appropriate antibiotics for treatment.

Keywords: Antimicrobial resistance, CTX-M-1, Escherichia coli, extended-spectrum beta-lactamase.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-22]