Brief Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 13, Number 4 (September-October)

Journal homepage: www.ijmm.ir

# The Prevalence of CTX-M Beta-Lactamase Gene in Urinary Tract Infections in Patients Referring to Bonab City Hospitals

**Reza Mohammadzadeh[1*], Ali Mohammadi-Gollou[1], Yaser Salehabadi[2]**

1. *Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Marahgheh, Maragheh, Iran*
2. *Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran*

## *Article Information*

**Article Subject:**
Molecular Epidemiology

**10.30699/ijmm.13.4.302**

**Corresponding author:**
**Reza Mohammadzadeh**
Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Marahgheh, Maragheh, Iran
**Email:**
rmohamadzadeh82@gmail.com

**Use your device to scan and read the article online**

## *Abstract*

**Background and Aims**: Urinary Tract Infection (UTI) is one of the most common bacterial infections, and several studies have reported the prevalence of UTI caused by ESBL-producing *E.coli* strains in different cities of Iran. The aim of this study was to evaluate antibiotic resistant UTI factors in outpatients and determine the prevalence of ctx-m gene in ESBL-producing *E. coli* strains of Bonab (East Azerbaijan, Iran).

**Materials and Methods:** In 2015, 266 clinical isolates of *E. coli* were collected from clinical laboratories in Bonab. Phenotypic screening and confirmation tests for extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) were carried out using disk diffusion (Kirby Bauer) method. All of the ESBL producing isolates were tested by PCR using specific primers. A total of 10 PCR products were randomly selected and purified and subsequently sent for sequencing.

**Results & Conclusion:** The maximum resistance was seen regarding ampicillin (67.3 %) and the maximum sensitivity was seen regarding imipenem (92.5%). In this study, 45 % of isolates were multidrug resistance, which showed at least resistance for three antibiotics. Out of 154 isolates, 58 (37.7%) isolates were ESBL producers which 94.8% of isolates contained *ctx-m* gene. The prevalence of the *ctx-m* gene, as in other parts of Iran and the world, is high in Bonab. For the treatment of infections suspected to be an ESBL producer, appropriate antibiotics should be selected, and strains that have decreased their sensitivity to ceftazidime, cefotaxime, and cefetoxin should be considered for ESBL genes.

**Keywords:** *Escherichia coli*, UTI, ESBLs, CTX-M

Received: 2019/06/25 Accepted: 2019/09/11 Available online: 2020/01/1

Copyright © 2019 Iranian Journal of Medical Microbiology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**How to cite this article**:

Mohammadzadeh R, Mohammadi-Gollou A, Salehabadi Y. The Prevalence of CTX-M Beta-Lactamase Gene in Urinary Tract Infections in patients referring to Bonab city Hospitals. Iran J Med Microbiol. 2019; 13 (4) :302-309

**Download citation:** BibTeX | RIS | EndNote | Medlars | ProCite | Reference Manager | RefWorks

**Send citation to:** Mendeley Zotero RefWorks

## Introduction

Urinary Tract Infection (UTI) is one of the most common bacterial infections and the second most common infection in patients referred to hospitals **(1)**. Given the role of *Escherichia coli* in the infection of the urethra, it is important to know the pattern of susceptibility of this bacterium to various antibiotics. The use of broad-spectrum antibiotics is widely used in the treatment of bacterial infections today, and this has led to antibiotic resistance in this group of bacteria **(2,3)**. The emergence of new antibiotics such as broad-spectrum cephalosporins and azetronam and their use in the treatment of bacterial infectious diseases has led to the expression of a new class of these enzymes called Extended Spectrum βlactamase (ESBL) **(4)**.

Broad-spectrum antibiotics are transcribed by genes such as *ctx-m*, tem, shv and per. Due to the increasing number of different types of ESBL bla SHV, bla TEM (bla CTX-M) and their different effects on different antibiotics, accurate determination of different types of ESBL enzymes by molecular methods such as PCR is necessary to identify regional resistance. **(5)** Since there is no comprehensive research on this subject in Bonab city so far, in this study we investigated the drug resistance of ESBL-producing *Escherichia coli* strains and *ctx-m* gene in urinary tract isolates obtained from patients referred. We studied hospitals in Bonab city of East Azerbaijan province.

## Materials and Methods

A total of 266 positive urine cultures of *E. coli* from hospital labs were collected and studied in 2015. Criteria for data entry in this study were sample patient satisfaction and urine culture positive for *E. coli* and data exclusion criteria were patient dissatisfaction, urine culture positive for *E. coli* and recorded or incomplete data. Blood agar (Difco, USA) was used as a primary medium for bacterial detection by API kit (Biomerieux France) and antibiogram antibacterial test. After bacterial inoculation in eosin methylene blue agar medium (Merck, Germany), MR / VP medium (Oxoid, UK) and SIM agar medium (Merck, Germany) to investigate bacterial motility and molar Hinton broth medium (Merck, Germany) Bacteria were used for antibiotic testing as well as the Mulherton Agar medium (Merck, Germany) for antibiotic testing.

Screening tests for selected strains resistant to selected cephalosporins and other antibiotics were performed by disk diffusion method and the diameter of bacterial growth halo was measured. Finally, using Rosco's CLSI tables, the bacteria were divided into three groups of susceptible, intermediate, and resistant, and the results of each isolate were recorded for all discs used. Antimicrobial susceptibility to amikacin and ciprofloxacin were also determined. Antimicrobial susceptibility testing of hybrid discs was performed for confirmation of broad-spectrum beta-lactamase producing strains by disk diffusion method.

*E. coli* strain (ATCC 25922) were used as a negative control for antibiogram tests and *Klebsiella pneumoniae* strain (ATCC 7881) were used as positive control.

DNA extraction from the samples was accomplished by boiling and their concentration was measured by spectroscopy and DNA concentration determination. DNA extraction from The ESBL positive strains were performed amplified by PCR executed using specific primers (*Ctx* -F: 5'-TTTGCGATGTGCAGTACCAG-3') and (*Ctx* -R: 5'-GATATCGTTGGTGGTGCCAT-3') genes. *Ctx*-M was amplified and electrophoresis on agarose gel was used to evaluate the results of various experiments, including DNA extraction and PCR.

For statistical analysis of the relationship between the data obtained in different stages of this study, the data were entered into SPSS 21 (SPSS Inc., Chicago, Ill., USA) and the significance of the data was analyzed by Chi-square test.

## Results and Discussion

A total of 266 specimens of suspected urine cultures of *E. coli* were collected from outpatients referred to hospitals. Bacterial isolates were cultured on eosin methylene blue agar medium, Triple Sugar Iron agar medium (TSI), Simon citrate agar, SIM and MR / VP. Acid-acidity in the TSI tube, citrate test negative, indole production, motility and H2S production were confirmed for culture.

According to the statistical analysis, 99.26% of the isolates were identified as *E.coli* and only two

isolates were identified as Enterobacter and Serachia. The results of these kits indicate that in 99.26% of the cases the results are consistent with classical biochemical tests.

The isolates were evaluated for susceptibility to antibiotics ampicillin, ciprofloxacin, ceftraxation, imipim, amikacin, cefipim, azotrenam, cefotaxime and ceftazidime.

The maximum and minimum resistance for each of antibiotics were seen for ampicillin (67.3%) and imipim (5.3%) respectively. Also, the highest antibiotic susceptibility among the isolates was related to imipim (92.5%). Also, 45% of strains isolated from E. *coli* showed resistance to more than three antibiotics.

During the screening test out of 154 samples out of 264 confirmed *E.coli*, 112 were selected according to CLSI criteria and 42 others were selected according to resistance to different antibiotic groups. In the final test (combined disk), 58 *E. coli* strains (37.7%) out of 154 strains were reported as ESBL producing bacteria. In addition, a total of 58 ESBL producers were selected in accordance with CLSI criteria.

The *ctx-m* gene as one of the ESBL-producing genes was investigated in this study. Of the 264 *Escherichia coli* samples, 68 (25.5%) had *ctx-m* gene, and of the 58 ESBL positive, 55 (94.8%) were *ctx-m* positive. The *ctx-m* gene had a 544 bp region. It should be noted that in some isolates lacking ESBL, the *ctx-m* gene was also identified (Figure 1).

Ampicillin resistance was very high (67.3%) among the studied isolates, which was in agreement with the results of other studies in Iran and elsewhere in the world. The frequency of resistance of *E.coli* isolates to cefteriaxone, cefotaxime and ceftazidime were 50.8%, 48.5% and 30.5%, respectively **(6-8)**. The least antibiotic resistance was observed in imipenem (5.3%) and the highest susceptibility was to this antibiotic. Consistent with the results of other studies in Iran and somewhere else in the world that reported high sensitivity **(9–11)**.

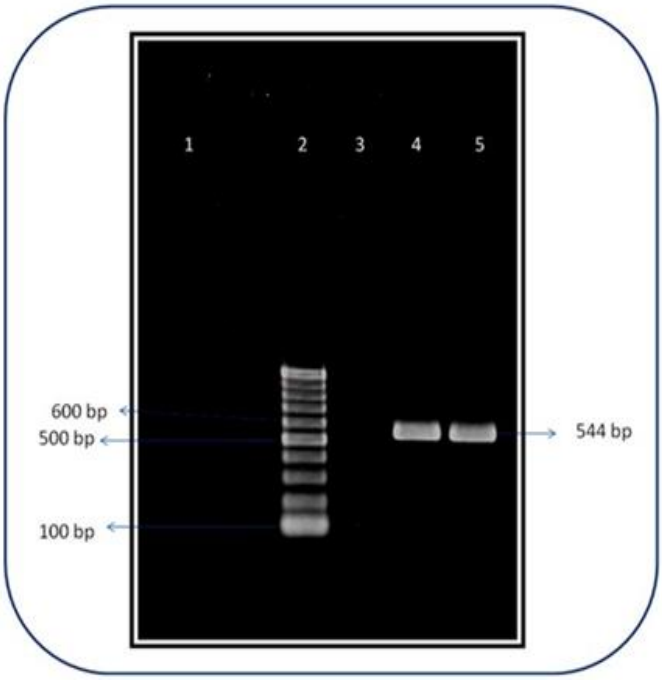



**Figure 1.** PCR product electrophoresis for the ctx-m gene. Lane 1: Blank, Lane 2: Marker (100bp DNA Ladder) Lane 3: Ctx-m negative control, Lane 4: Ctx-m positive control, Lane 5: PCR positive ctx-m gene.

Different prevalence of *ctx-m* gene in Iran and other countries can be due to cephalosporins and fluoroquinolones usage patterns in treatment of infections, transferability of *ctx-m* gene from animal reservoirs such as poultry and pets to humans, international travel, observance of control standards Nosocomial infection, primary origin of *ctx-m* gene from *Kluyvera*, transmission and movement of plasmids carrying *ctx-m* gene among different strains **(12,13)**.

The prevalence of the *ctx-m* gene, as in other parts of Iran and the world, is high in Bonab. For the treatment of infections suspected to be an ESBL producer, appropriate antibiotics should be selected, and strains that have decreased their sensitivity to ceftazidime, cefotaxime, and cefetoxin should be considered for ESBL genes.

## Acknowledgments

The authors would like to express their gratitude and appreciation to the staff of the Diagnostic Laboratories of Bonab city Hospitals and the University of Maragheh Microbiology Laboratory.

## Conflict of Interest

The authors declared no conflict of Interest.

مقاله کوتاه

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۱۳ ـ شماره ۴ ـ مهر و آبان ۱۳۹۸

Journal homepage: www.ijmm.ir

# بررسی فراوانی ژن مقاومت بتالاکتاماز CTX-M در ایزوله‌های عفونت ادراری بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های شهرستان بناب

رضا محمدزاده[1*]، علی محمدی گللو[1]، یاسر صالح‌آبادی[2]

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

۲. گروه سم شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

**اطلاعات مقاله**

**تاریخچهٔ مقاله**

**دریافت: ۱۳۹۸/۴/۴**

**پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۲۰**

**انتشار آنلاین: ۱۳۹۸/۱۰/۱۰**

**موضوع:**

اپیدمیولوژی مولکولی

**IJMM1398;13(4): 302-309**

**نویسندهٔ مسئول:**

**رضا محمدزاده**، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

ایمیل:

rmohamadzadeh82@gmail.com

## چکیده

**زمینه و اهدف:** عفونت مجاری ادراری (UTI) یکی از شایع‌ترین عفونت‌های باکتریایی است و مطالعات متعددی، شیوع UTI ناشی از سویه‌های *E.coli* مولد بتالاکتاماز با طیف گسترده (ESBL) را در شهرهای مختلف ایران گزارش کرده‌اند. هدف از این مطالعه، بررسی عوامل UTI مقاوم به آنتی‌بیوتیک در بیماران سرپایی و تعیین شیوع ژن *ctx-m* در سویه‌های مولد ESBL شهر بناب (آذربایجان‌شرقی، ایران) است.

**مواد و روش کار:** تعداد ۲۶۶ نمونه کشت مثبت ادرار مشکوک به *اشریشیاکلی* از آزمایشگاه‌های شهر بناب در سال ۱۳۹۴ جمع‌آوری و با کمک تست‌های استاندارد میکروبیولوژی و بیوشیمی تأیید شد. آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن و تست تأییدی به روش دیسک ترکیبی برای شناسایی سویه‌های مولد ESBL انجام شد. DNA ایزوله‌های مولد ESBL استخراج گردید و آزمایش PCR برای ژن *ctx-m* انجام شد.

**یافته‌ها:و بحث** بیشترین میزان مقاومت سوش‌ها در برابر آمپی‌سیلین (۶۷/۳ درصد) و بیشترین میزان حساسیت آنها در برابر ایمی‌پنم (۹۲/۵ درصد) دیده شد. در این مطالعه، فراوانی جدایه‌های مقاوم به چند دارو زیاد بود که در بین آنها، ۴۵ درصد از جدایه‌ها به سه یا بیشتر از سه آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند. همچنین از ۱۵۴ سویهٔ *E.coli* بررسی شده، ۵۸ سویه (۳۷/۷ درصد)، مولد ESBL بودند. در نهایت، ۹۴/۸ درصد از سویه‌ها حاوی ژن bla CTX-M بودند. میزان شیوع ژن *ctx-m* مانند سایر نقاط ایران و جهان، در شهرستان بناب نیز بالا است. برای درمان عفونت‌های مشکوک به تولیدکنندهٔ ESBL، باید آنتی‌بیوتیک مناسب انتخاب شود. همچنین سویه‌هایی که حساسیت آن‌ها در برابر سفتازیدیم، سفوتاکسیم و سفترياکسون کاهش پیدا کرده است باید از نظر داشتن ژن‌های ESBL بررسی شوند.

**کلید واژه‌ها:** *اشریشیاکلی*، UTI، ESBLs، CTX-M

کپی‌رایت © مجله میکروب شناسی پزشکی ایران: دسترسی آزاد؛ کپی برداری، توزیع و نشر برای استفاده غیرتجاری با ذکر منبع آزاد است.

## مقدمه

عفونت مجاری ادراری (UTI) یکی از شایع‌ترین عفونت‌های باکتریایی و دومین عفونت شایع در بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان‌ها است (۱). با توجه به نقش باکتری *E. coli* در عفونت مجاری اداری، شناخت الگوی حساسیت این باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف اهمیت بسیاری دارد. امروزه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف در درمان عفونت‌های باکتریایی کاربرد زیادی دارد و همین موضوع باعث ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های این گروه شده است (۲، ۳). پیدایش آنتی‌بیوتیک‌های جدید از قبیل سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف و آزترونام‌ها و رواج استفاده از آن‌ها در درمان بیماری‌های عفونی باکتریایی منجر به تولید آنزیم‌های بتالاکتامازی جدیدی در باکتری‌های مولد عفونت ادراری بر اثر رواج مصرف آنتی‌بیوتیک‌های ذکر شده، شد که دستهٔ جدیدی از این آنزیم‌ها، بتالاکتامازهای وسیع الطیف Extended spectrum βlactamase (ESBL) هستند (۴). آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف توسط ژن‌هایی همچون *ctx-m*، *tem*، *shv* و *per* رونویسی می‌شوند. با توجه به افزایش روزافزون تیپ‌های مختلف آنزیم‌های bla ESBL (SHV، bla TEM، bla CTX-M) و تأثیر متفاوت آنها بر آنتی‌بیوتیک‌های مختلف، تعیین دقیق تیپ‌های مختلف آنزیم‌های ESBL با روش‌های مولکولی مانند PCR از نظر شناخت مقاومت‌های منطقه‌ای، ضروری به نظر می‌رسد (۵). با توجه به اینکه تاکنون روی این موضوع تحقیق جامعی در شهرستان بناب انجام نشده است، ما در این مطالعه مقاومت دارویی سویه‌های *اشریشیاکلیِ* مولد ESBL و ژن ctx-m را در ایزوله‌های عفونت ادراریِ کسب‌شده از بیماران

مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های شهرستان بناب استان اذربایجان شرقی مطالعه کرده‌ایم.

## مواد و روش کار

### نمونه‌گیری و جداسازی *E.coli*

تعداد ۲۶۶ نمونهٔ کشت مثبت ادرار مشکوک به *اشریشیاکلی* از آزمایشگاه‌های شهرستان بناب به طور تصادفی ساده، در سال ۱۳۹۴ جمع‌آوری و بررسی شد. معیار ورود داده‌ها در این مطالعه، رضایت بیماران نمونه‌دهنده و مثبت‌بودن کشت ادرار به *اشریشیاکلی* و معیار خروج داده‌ها، عدم رضایت بیماران نمونه‌دهنده، مثبت‌نبودن کشت ادرار به *اشریشیاکلی* و اطلاعات مخدوش یا ناقص ثبت‌شدهٔ بیماران در دفاتر میکروب‌شناسی بیمارستان‌های محل پژوهش است. از محیط‌کشت بلاد آگار (Difco, USA) به عنوان یک محیط اولیه به منظور شناسایی باکتری به وسیلهٔ کیت API (Biomerieux France) و تست آنتی‌بیوگرام باکتری استفاده گردید. پس از تلقیح باکتری در محیط‌های ائوزین متیلن بلو آگار (Merck, Germany)، محیط MR/VP (Oxoid, UK) و محیط SIM آگار (Merck, Germany) به منظور بررسی حرکت باکتری، محیط مولر هینتون براث (Merck, Germany) به منظور ایجاد یک کدورت مناسب از باکتری‌ها برای تست آنتی‌بیوگرام، و همچنین محیط مولرهینتون آگار (Merck, Germany) جهت آزمایش آنتی‌بیوگرام استفاده گردید. همچنین، محیط‌کشت Tryptone Soy (TSB) Broth (Merck, Germany)، سیمون سیترات آگار (Merck, Germany) و محیط تریپل شوگر آیرون آگار (TSI) (Merck, Germany) برای تشخیص دقیق و تأیید باکتری *اشریشیاکلی* استفاده شد.

### تست غربالگری سویه‌های مقاوم

تست غربالگری سویه‌های مقاوم نسبت به سفالوسپورین‌های منتخب و سایر آنتی‌بیوتیک‌ها به روش دیسک دیفیوژن انجام و اندازه‌گیری قطر هاله‌های عدم رشد باکتری انجام شد. در پایان، با استفاده از جداول شرکت Rosco که منطبق با CLSI بود باکتری‌ها به سه گروه حساس، حساسیت متوسط و مقاوم تقسیم شدند. نتایج هرکدام از ایزوله‌ها برای تمام دیسک‌های استفاده‌شده ثبت شد. همچنین حساسیت ضدمیکروبی نسبت به آمیکاسین و سیپروفلوکساسین نیز مشخص شد. تست حساسیت ضدمیکروبی نسبت به دیسک‌های ترکیبی برای تأیید سویه‌های مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف به روش دیسک دیفیوژن انجام شد و برای تأیید سویه‌های مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف، از تست انتشار دیسک و براساس استاندارد CLSI استفاده شد. در تست‌های آنتی‌بیوگرام جهت تأیید تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف از سویهٔ *اشریشیاکلی* (ATCC 25922) به عنوان کنترل منفی و از سویهٔ *کلبسیلا پنومونیه* (ATCC 7881) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

### استخراج DNA ژنومی از باکتری

استخراج DNA از نمونه‌ها، با استفاده از روش جوشاندن انجام و غلظت آنها با استفاده از طیف‌سنجی و فرمول تعیین غلظت DNA (منظور از فرمول محاسبه مقدار DNA در واحد ng/ µL میباشد) (ng/µL DNA) = OD ۲۶۰×۵۰ × (فاکتور رقت).اندازه‌گیری شد. سپس آزمایش ایزوله‌هایی که تست فنوتیپی تولید بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در آنها مثبت شده بود و DNA آنها استخراج شده بود وارد مرحلهٔ PCR شدند و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی *Ctx* (*5'-TTTGCGATGTGCAGTACCAG-3': Ctx -F*) و *Ctx-R: (5'-GATATCGTTGGTGGTGCCAT-3'*) ژن *Ctx-M* تکثیر گردید. برای بررسی نتیجهٔ آزمایشات مختلف، از جمله استخراج DNA و PCR از الکتروفورز روی ژل آگارز استفاده شد.

### تحلیل داده‌ها

برای بررسی آماریِ وجود ارتباط بین داده‌های به دست آمده در مراحل مختلف این تحقیق، اطلاعات مربوط به داده‌ها وارد نرم‌افزار آماری SPSS نسخهٔ ۲۱(SPSS Inc., Chicago, IL., USA) شدند و معنی‌داری داده‌ها با آزمون آماری کای-دو تحلیل شد.

## یافته‌ها و بحث

### تأیید نمونه‌های *E.coli*

۲۶۶ نمونه کشت ادرار مشکوک به *اشریشیاکلی* بیماران سرپایی مراجعه‌کننده به بیمارستان‌ها جمع‌آوری شدند. ایزوله‌ها باکتری نمونه های جمع‌اوری شده، بر روی محیط ائوزین متیلن بلوآگار، محیط‌های تریپل شوگر آیرون آگار (TSI)، سیمون سیترات آگار، SIM و MR/VP کشت داده‌شدند و از بین نمونه‌ها، ۲۶۶ ایزوله که از نظر ریخت‌شناسی کلنی‌ها، رنگ‌آمیزی گرم، مشخصات بیوشیمیایی مانند اسید-اسید بودن در لولهٔ TSI، منفی‌شدن تست سیترات، تولید ایندول، متحرک‌بودن و تولید $H_2S$ مشکوک به E.coli مثبت بودند، جهت تأیید کشت شدند. در مرحلهٔ بعد، ایزوله‌ها با استفاده از کیت‌های API به تأیید نهایی رسیدند. در این کیت‌ها واکنش‌هایی از قبیل تخمیر قندهای گلوکز، مانوز، اینوزیتول، سوربیتول، رامنوز، ساکارز، ملوبیوز، آمیلوز و آرابینوز، تست ONPG، تست لیزین دکربوکسیلاز، اورنیتین

دکربوکسیلاز، آرژنین دهیدرولاز، تولید ایندول، تست سیترات، تولید $H_2S$، تست VP، تولید ژلاتیناز و تست اوره بررسی شدند. با توجه به تحلیل آماری نتایج با نرم‌افزار SPSS و داده‌های به دست آمده، ۹۹/۲۶ درصد از ایزوله‌ها توسط این کیت‌ها به عنوان اشریشیاکلی شناسایی شدند و فقط دو ایزوله به عنوان انتروباکتر و سراشیا شناسایی شد. نتایج این کیت‌ها بیانگر این است که در ۹۹/۲۶ درصد موارد، نتایج مطابق با تست‌های بیوشیمیایی کلاسیک است.

### نتایج مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های جداسازی‌شده

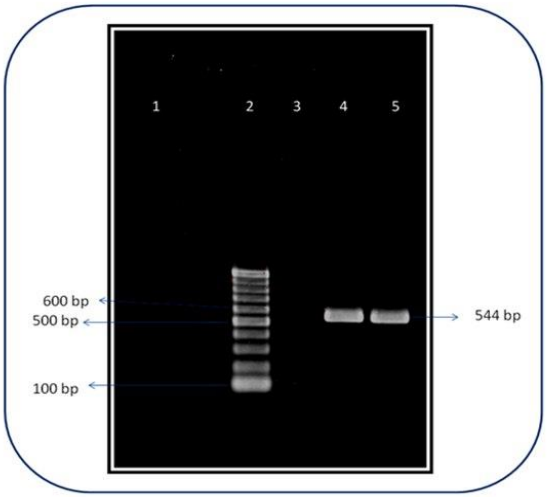
جدایه‌ها از نظر میزان حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، سیپروفلوکساسین، سفتراکسیون، ایمی‌پیم، آمیکاسین، سفیپیم، آزوترنام، سفوتاکسیم و سفتازیدیم بررسی شدند. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های جداسازی‌شده متعلق به آمپی‌سیلین (۶۷/۳ درصد) و کمترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به ایمی‌پیم (۵/۳ درصد) است. همچنین، بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در بین ایزوله‌های جداسازی‌شده نیز مربوط به ایمی‌پیم (۹۲/۵ درصد) مشاهده شد. ۴۵ درصد از سویه‌های جداشده از *اشیرشیاکلی* به بیش از سه آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان داد که این خود، مقاومت چندداروییی را در این جدایه‌ها نشان می‌دهد.

### شناسایی باکتری‌های تولیدکنندهٔ ESBL

طی آزمون غربالگری از میان ۱۵۴ نمونه از مجموع ۲۶۴ نمونه *E.coli* تأییدشده، ۱۱۲ نمونه براساس معیارهای CLSI و ۴۲ نمونهٔ دیگر براساسِ مقاومت به گروه‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی انتخاب شدند. در آزمون نهایی (دیسک ترکیبی)، ۵۸ سویه *اشریشیاکلی* (۳۷/۷ درصد) از ۱۵۴ سویه به عنوان باکتری‌های تولیدکنندهٔ ESBL گزارش شدند. در ضمن، کل ۵۸ سویهٔ مولد ESBL در دسته‌ای که طبق معیارهای CLSI انتخاب شده بودند، قرار داشتند.

### شناسایی ژن *ctx-m*

ژن *ctx-m* به عنوان یکی از ژن‌های مولد ESBL در این مطالعه بررسی شد. درمجموع، از ۲۶۴ نمونه *اشریشیاکلی* موردبررسی، ۶۸ نمونه (۲۵/۵ درصد) دارای ژن *ctx-m* بودند، و از ۵۸ مورد نمونهٔ ESBL مثبت، ۵۵ نمونه (۹۴/۸ درصد) *ctx-m* مثبت بودند. ژن *ctx-m* در منطقهٔ ۵۴۴ bp دارای باند بود. لازم به توضیح است که در بعضی از جدایه‌ها که فاقد ESBL بودند نیزِ ژن *ctx-m* شناسایی شد (شکل ۱).




**شکل ۱.** الکتروفورز محصول PCR برای ژن *ctx-m*. ردیف ۱: بلانک؛ ردیف ۲: مارکر (100bp DNA Ladder)؛ ردیف ۳: کنترل منفی ژن *ctx-m*؛ ردیف ۴: کنترل مثبت ژن *ctx-m*؛ ردیف ۵: نمونهٔ PCR مثبت ژن *ctx-m*

در بین جدایه‌های موردبررسی، مقاومت به آمپی‌سیلین بسیار بالا بود (۶۷/۳ درصد)، که با نتایج سایر مطالعات در ایران و دیگر نقاط جهان تقریباً تطابق داشت. فراوانی مقاومت جدایه‌های *E.coli* نسبت به سفتریاکسون، سفوتاکسیم و سفتازیدیم به ترتیب ۵۰/۸، ۴۸/۵ و ۳۰/۵ درصد بود. مطالعات دیگری در سطح کشور و جهان افزایش فراوانی مقاومت به جدایه‌های *E. coli* را تأیید می‌کنند (۸-۶). کمترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک در ایمی‌پنم (۵/۳ درصد) و بیشترین حساسیت نیز مربوط به این آنتی‌بیوتیک بود که با نتایج سایر مطالعات در ایران و سایر نقاط جهان که میزان حساسیت بالایی را گزارش کرده بودند تطابق داشت (۱۱-۹).

آمارهای متفاوت شیوع ژن *ctx-m* در ایران و سایر کشورهای دنیا می‌تواند ناشی از الگوی مصرف سفالوسپورین‌ها و فلورو-کینولون‌ها در درمان عفونت‌ها، قابلیت انتقال ژن *ctx-m* از مخازن حیوانی مثل ماکیان و حیوانات اهلی به انسان، مسافرت‌های بین‌المللی، رعایت استانداردهای کنترل عفونت بیمارستانی، منشأ اولیهٔ ژن *ctx-m* از باکتری *Kluyvera*، انتقال و حرکت پلاسمیدهای حامل ژن *ctx-m* در بین سویه‌های مختلف باشد (۱۲، ۱۳).

تولید ESBL تهدیدی بزرگ برای مصرف سفالوسپورین با طیف وسیع به شمار می‌رود. بنابراین برای درمان عفونت‌هایی که مشکوک به ارگانیسم‌های تولیدکنندهٔ ESBL هستند باید آنتی‌بیوتیک مناسب به‌دقت انتخاب شود. همچنین سویه‌هایی که حساسیت آن‌ها در برابر

سفتازیدیم، سفوتاکسیم و سفتریاکسون کاهش پیدا کرده است باید از نظرِ داشتنِ ژن‌های ESBL بررسی شوند.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از پرسنل و کارکنان آزمایشگاه‌های تشخیصی بیمارستان‌های شهرستان بناب و آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه مراغه اعلام می‌کنند.

### تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

## Reference

1. Mahon C, Lehman D, Manuselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology. Missourri: Elsevier; 2011.
2. Brooks GF, Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Jawetz, Melnick, and Adelberg's medical microbiology. New York: McGraw Hill Medical; 2010.
3. Murray PR. Medical microbiology. St. Louis: Mosby; 2002.
4. Tenover FC, Raney PM, Williams PP, Rasheed JK, Biddle JW, Oliver A, et al. Evaluation of the NCCLS extended-spectrum β-lactamase confirmation methods for Escherichia coli with isolates collected during Project ICARE. J Clin Microbiol. 2003; 41(7):3142-6. [DOI:10.1128/JCM.41.7.3142-3146.2003] [PMID] [PMCID]
5. Thomson KS. Controversies about extended-spectrum and AmpC beta-lactamases. Emerg Infect Dis. 2001; 7(2):333-6. [DOI:10.3201/eid0702.010238] [PMID] [PMCID]
6. 6 Soltan Dallal MM, Mobasseri G, Mehrabadi JF, Eshraghian M, Rastegar Lari A, Molla Aghamirzaei H, Sabbaghi A, et al. Detection of CTX-M-1 beta lactamase gene in Escherichia coli isolated from clinical samples by Polymerase Chain Reaction (PCR). Tehran Univ Med J. 2011; 69(1):16-21.
7. Ling TK, Xiong J, Yu Y, Lee CC, Ye H, Hawkey PM. Multicenter antimicrobial susceptibility survey of gram-negative bacteria isolated from patients with community-acquired infections in the People's Republic of China. Antimicrob Agents Chemother. 2006; 50(1):374-8. [DOI:10.1128/AAC.50.1.374-378.2006] [PMID] [PMCID]
8. Kiffer C, Hsiung A, Oplustil C, Sampaio J, Sakagami E, Turner P, et al. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative bacteria in Brazilian hospitals: the MYSTIC Program Brazil 2003. Braz J Infecti Dis. 2005; 9(3):216-24. [DOI:10.1590/S1413-86702005000300004] [PMID]
9. Mohajeri P, Izadi B, Rezai M, Falahi B, Khademi H, Ebrahimi R. Assessment of the frequency of extended spectrum beta lactamases producing Escherichia coli isolated from Urinary tract infections and its antibiotic resistance pattern in Kermanshah. J Ardabil Unive Med. 2011; 11(1):86-94. 10..
10. Dallal MM, Sabbaghi AY, Fallah JA, Aghamirzaei HM, Lari AR, Eshraghian MR, Sanei AF. Evaluation of presence of the bla-SHV and bla-AmpC (CITM, FOX) β-lactamase genes in clinical isolates of Escherichia coli. Journal of Medical Council of Islamic Republic of Iran. 2010;28(3).
11. Mantadakis E, Tsalkidis A, Panopoulou M, Pagkalis S, Tripsianis G, Falagas M, et al. Antimicrobial susceptibility of pediatric uropathogens in Thrace, Greece. Int urol Nephrol. 2011; 43(2):549-55. [DOI:10.1007/s11255-010-9797-5] [PMID]
12. Chong Y, Ito Y, Kamimura T. Genetic evolution and clinical impact in Extended-spectrum beta lactamase-producing Escherichia coli and Klebsilla pneumoniae. infect Genet Evol. 2011; 11(7):1499-504. [DOI:10.1016/j.meegid.2011.06.001] [PMID]
13. Peirano G, Richardson D, Nigrin J, McGeer A, Loo V, Toye B, et al. High prevalence of ST131 isolates producing CTX-M-15 and CTX-M-14 among extended-spectrum-β-lactamase-producing Escherichia coli isolates from Canada. Antimicrob Agents Chemothe. 2010; 54(3):13927-30. [DOI:10.1128/AAC.01338-09] [PMID] [PMCID]