مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و سوم/شماره ۳۶۰/هفته چهارم دی ماه ۱۳۹٤

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۹/۲۳

بررسی شیوع ژن CTX-M در سویه‌های Escherichia coli جدا شده از عفونت ادراری در دو گروه از بیماران سرپایی و بستری شهر اصفهان

مهدی مباشری‌زاده[۱]، دکتر سید کاظم بیدکی[۲]، دکتر سینا مباشری‌زاده[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: افزایش شیوع بتا لاکتامازهای گروه CTX-M در جهان در برخی از پاتوژن‌های گرم منفی باعث نگرانی جامعه‌ی پزشکی شده است. هدف از این مطالعه، بررسی فراوانی نسبی باکتری‌های Escherichia coli تولید کننده‌ی بتا لاکتاماز وسیع‌الطیف (ESBL یا Extended-spectrum beta-lactamase)، فراوانی ژن CTX-M و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری ناشی از باکتری Escherichia coli در دو گروه بیمارستانی و سرپایی در شهر اصفهان در سال ۱۳۹۲ بود.

روش‌ها: این مطالعه بر روی ۱۲۰ نمونه‌ی باکتری Escherichia coli جدا شده از بیماران سرپایی و بستری مبتلا به عفونت ادراری انجام شد. جهت تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی، از روش Disc diffusion استفاده شد. سویه‌های تولید کننده‌ی ESBL با استفاده از روش Combined disc تأیید شد و با روش PCR (Polymerase chain reaction) از نظر ژن CTX-M مورد بررسی قرار گرفتند. از نرم‌افزار WHONET 5.6 و آزمون Excel جهت واکاوی داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها: از مجموع ۱۲۰ سویه‌ی Escherichia coli، به ترتیب در گروه‌های سرپایی و بستری، ۱۲ مورد (۲۰/۰ درصد) و ۳۳ مورد (۵۵/۰ درصد) ESBL مثبت بودند. مقاومت به آمپی‌سیلین و کوتریماکسازول در گروه سرپایی به ترتیب ۸۴/۴ و ۶۰/۱ درصد و در گروه بستری ۹۴/۹ و ۸۴/۸ درصد گزارش شد. با استفاده از روش PCR، مشخص شد که ۳۰ سویه، واجد ژن CTX-M بودند.

نتیجه‌گیری: تولید ESBL در ایزوله‌های بیمارستانی، تهدید بزرگی برای مصرف آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف است. با توجه به حضور ژن CTX-M در درصد بالایی از این سویه‌ها، مطالعات بیشتر ملکولی و اپیدمیولوژیک در محیط‌های درمانی ضروری می‌باشد.

واژگان کلیدی: عفونت ادراری، Escherichia coli، CTX-M، بتا لاکتاماز وسیع‌الطیف

ارجاع: مباشری‌زاده مهدی، بیدکی سید کاظم، مباشری‌زاده سینا. **بررسی شیوع ژن CTX-M در سویه‌های Escherichia coli جدا شده از عفونت ادراری در دو گروه از بیماران سرپایی و بستری شهر اصفهان.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۶۰): ۲۰۲۵-۲۰۱۹

مقدمه

عفونت مجاری ادراری، یکی از شایع‌ترین عفونت‌های باکتریال جوامع مختلف و از مشکلات بهداشتی بسیاری از کشورها محسوب می‌شود. از جمله باکتری‌های شایع عفونت‌های ادراری، Escherichia coli و Klebsiella pneumoniae است. عفونت‌های ادراری، شایع‌ترین نوع عفونت‌های بیمارستانی می‌باشند. مقاوم شدن باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها، از جمله مشکلات گریبان‌گیر تمامی کشورها محسوب می‌گردد و نه تنها منجر به شکست درمان، بلکه باعث ایجاد سویه‌های جدید و مقاوم‌تر نیز می‌شود. مهم‌ترین راه مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌های خانواده‌ی بتا لاکتام، تولید بتا لاکتامازها می‌باشد (۵-۱).

بتا لاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBL یا Extended-spectrum beta-lactamase) آنزیم‌هایی هستند که سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف مانند سفوتاکسیم، سفتریاکسون و سفتازیدیم را هیدرولیز می‌کنند. ژن‌های ESBL اغلب توسط پلاسمیدها حمل می‌شوند. پلاسمیدهای مزبور به طور عمده حامل ژن‌های مقاومت نسبت به سایر گروه‌های دارویی از جمله آمینوگلیکوزیدها نیز می‌باشند و به همین دلیل، انتخاب داروی مؤثر

۱- کارشناس ارشد، گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه پیام نور، مرکز تهران شرق، تهران، ایران
۲- استادیار، گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه پیام نور، مرکز تهران شرق، تهران، ایران
۳- مرکز تحقیقات عفونت‌های بیمارستانی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر سید کاظم بیدکی
Email: drbidoki@yahoo.com

برای مهار چنین ارگانیسم‌هایی از اهمیت و محدودیت‌های فراوانی برخوردار است. تا کنون، متجاوز از ۲۰۰ نوع بتا لاکتاماز وسیع‌الطیف شناسایی شده است که اغلب مشتقاتی از ۴ ژن CTX-M، TEM، SHV و OXA می‌باشند (۷-۶).

آنزیم‌های CTX-M بر اساس تشابه موجود در توالی اسیدآمینه‌ی آن‌ها به زیر گروه‌هایی دسته‌بندی می‌شوند. مطالعات فیلوژنیک، ۵ گروه اصلی از این آنزیم‌ها را معین نموده است. اعضای هر گروه بیش از ۹۴ درصد با یکدیگر مشابهت دارند که شامل گروه‌های CTX-M1، CTX-M2، CTX-M8، CTX-M9 و CTX-M25 می‌باشند (۱۰-۸).

با توجه به افزایش شیوع سویه‌های پیش‌گفته در نمونه‌های ادراری در ایران و ضرورت بررسی جامع توزیع فراوانی این آنزیم‌ها در باکتری‌های مورد نظر، همچنین اصلاح الگوی معمول آنتی‌بیوگرام در آزمایشگاه‌ها و شناسایی باکتری‌های مولد ESBL و ژنوتایپینگ انواع مولد ESBL، در مطالعه‌ی حاضر، فراوانی نسبی ژن‌های CTX-M در باکتری‌های تولید کننده‌ی ESBL جدا شده از عفونت‌های ادراری بیمارستانی و غیر بیمارستانی در مراکز درمانی منتخب شهر اصفهان مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

این مطالعه یک بررسی مقطعی بود که در سال ۱۳۹۲ بر روی دو گروه بیماران سرپایی و بستری مبتلا به عفونت ادراری ناشی از باکتری Escherichia coli انجام گرفت. ملاک انتخاب نمونه‌های مثبت در گروه سرپایی، نحوه‌ی صحیح جداسازی باکتری، خالص بودن باکتری جدا شده و داشتن حداقل ۵ گلبول سفید در گزارش کامل ادرار بیمار بود. در گروه بیمارستانی، ملاک انتخاب، بستری شدن بیمار در یکی از بخش‌های بیمارستان و داشتن علایم مربوط به عفونت‌های ادراری و یا استفاده از سوند ادراری بود.

جهت کشت نمونه‌های ادراری، از محیط‌های Blood agar و Eosin methylene blue agar استفاده شد. بعد از ۴۸-۲۴ ساعت انکوباسیون، سویه‌های Escherichia coli بر اساس روش استاندارد، واکنش گرم، خصوصیات کشت و مورفولوژیک، آزمایش‌های بیوشیمیایی [اکسیداز، سیمون سیترات، اوره‌آز، فنیل آلانین دآمیناز، لیزین دکربوکسیلاز، Methyl Red-Voges Proskauer (MRVP)، Sulfide، Indole و Motility (SIM) و نیز Triple sugar iron (TSI)] مورد شناسایی قرار گرفتند.

جهت بررسی الگوی مقاومتی ایزوله‌های Escherichia coli در برابر گونه‌های مختلف آنتی‌بیوتیک از روش Kirby–Bauer استفاده شد. بر اساس روش پیشنهادی CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)، حضور ESBL در باکتری بر اساس میزان هاله‌ی عدم رشد باکتری در اطراف دیسک‌های آنتی‌بیوتیک شناسایی می‌شود. در این آزمایش، از محیط Müller-Hinton agar (ساخت شرکت Merck) و برای تلقیح نمونه روی محیط، از روش انتقال سوبسترایی به غلظت ۰/۵ مک فارلند یا از روش انتقال مستقیم کلنی باکتری استفاده شد؛ به این ترتیب که اگر هاله‌ی عدم رشد باکتری در اطراف دیسک‌های سفتازیدیم ۳۰ میکروگرم (ساخت شرکت Mast)، کمتر یا مساوی ۲۲ میلی‌متر و در اطراف دیسک سفتری آکسون ۳۰ میکروگرم (ساخت شرکت Mast)، کمتر یا مساوی ۲۵ میلی‌متر و در اطراف دیسک سفوتاکسیم ۳۰ میکروگرم (ساخت شرکت Mast)، کمتر یا مساوی ۲۷ میلی‌متر باشد، باکتری به عنوان سویه‌ی بالقوه‌ی مولد ESBL گزارش داده می‌شود.

برای تأیید نهایی تولید ESBL در ارگانیسم‌های اسکرین مثبت از آزمون دیسک‌های ترکیبی استفاده شد. در این روش، در محیط Müller-Hinton agar، از دیسک‌های ۳۰ میکروگرمی سفوتاکسیم و سفتازیدیم در مجاورت دیسک مرکب آن‌ها با ۱۰ میکروگرم کلاولانیک اسید بر اساس روش دیسک دیفیوژن مانند آزمون غربال‌گری استفاده شد. بدین ترتیب، در صورتی که قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری اطراف دیسک ترکیبی سفتازیدیم- کلاولانیک اسید بزرگ‌تر یا مساوی ۵ میلی‌متر در مقایسه با قطر هاله‌ی عدم رشد در اطراف دیسک سفتازیدیم باشد و همچنین اگر قطر هاله‌ی عدم رشد در اطراف دیسک ترکیبی سفوتاکسیم-کلاولانیک اسید بزرگ‌تر یا مساوی ۳ میلی‌متر در مقایسه با قطر هاله‌ی عدم رشد در اطراف دیسک سفوتاکسیم باشد، سویه‌ی مورد نظر به عنوان سویه‌ی مولد ESBL در نظر گرفته می‌شود. برای آزمون کنترل کیفی، همزمان از دو سویه‌ی Klebsiella pneumoniae سویه‌ی ATCC700603 و Escherichia coli سویه‌ی ATCC25922 استفاده شد (۱۱).

روش انجام تکنیک PCR (Polymerase chain reaction): برای جداسازی DNA از کیت فرمنتاز استفاده شد. در این روش، ابتدا چند کلنی از باکتری در محیط TSB کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه‌ی سانتی گراد طبق دستورالعمل کیت، استخراج DNA صورت گرفت. تکنیک PCR با استفاده از آنزیم Taq Polymerase، پرایمرهای اختصاصی طراحی شده و نمونه‌ی DNA استخراج شده از باکتری‌ها با دستگاه ترموسایکلر انجام شد. پرایمرها ساخت شرکت متابیون آلمان بود. توالی پرایمر Forward، CTX-M-F: 5´-ACGCTGTTGTTAGGAAGTG-3´ و توالی Reverse، CTX-M-R: 5´-TTGAGGCTGGGTGAAGT-3´ بود. این پرایمرها باعث تکثیر قطعاتی به طول ۷۵۹ جفت باز می‌شود.

واسرشتگی اولیه در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۵ چرخه به ترتیب با دمای واسرشتگی ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و دمای اتصال آغازگر ۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و دمای تکثیر ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه انجام شد. در انتها، تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. در روش PCR، جهت کنترل کیفی از Escherichia coli سویه‌ی DH10B به عنوان شاهد منفی و از سویه‌ی J53-PMG267 به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. محصول PCR بعد از الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۱).

اطلاعات به دست آمده در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, SPSS Inc., Chicago, IL) با آزمون χ^2 تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها

از مجموع ۶۰ ایزوله‌ی Escherichia coli جدا شده از بیماران سرپایی، آمپی‌سیلین ۸۴/۴، کوتریکوماکسازول ۶۰/۱، نالیدیکسیک اسید ۴۰/۸ و سفازولین ۴۲/۰ درصد، مقاومت نشان دادند. در این گروه، نیترو فورانتوئین با ۸۵/۹ درصد بیشترین حساسیت و سفتی‌زوکسیم، سفتازیدیم و سفوتاکسیم به ترتیب با ۸۵/۴، ۷۹/۶ و ۷۵/۶ درصد، تأثیر قابل قبولی داشتند.

از ۶۰ ایزوله‌ی Escherichia coli جدا شده از بیماران بستری، آمپی‌سیلین ۹۴/۹، کوتریکوماکسازول ۸۴/۸ و سفازولین ۷۲/۲ درصد مقاومت نشان دادند. مقاومت این گروه نسبت به سفتازیدیم، سفوتاکسیم و سفپیم به ترتیب ۵۹/۴، ۶۴/۲ و ۶۲/۵ درصد بود. در این گروه، ایمی‌پنم با ۹۷/۵ درصد بیشترین تأثیر را داشت (جدول ۱).

طبق شکل ۲، ۱۰۰درصد سویه‌های مولد ESBL و ۸ درصد سویه‌های ESBL منفی، به سفوتاکسیم مقاوم بودند ($P < ۰/۰۰۱$). همچنین، میزان مقاومت به سفتازیدیم در سویه‌های ESBL مثبت و منفی به ترتیب ۹۷/۸ و ۵/۳ درصد بود ($P < ۰/۰۰۱$). مقاومت به سفوتاکسیم در سویه‌های حاوی ژن CTX-M ۱۰۰ و در سویه‌های فاقد این ژن، ۲۳/۳ درصد بود ($P < ۰/۰۰۱$). مقاومت به سفتازیدیم نیز در دو گروه مربوط به ترتیب ۱۰۰ و ۲۰ درصد بود ($P < ۰/۰۰۱$).

بحث

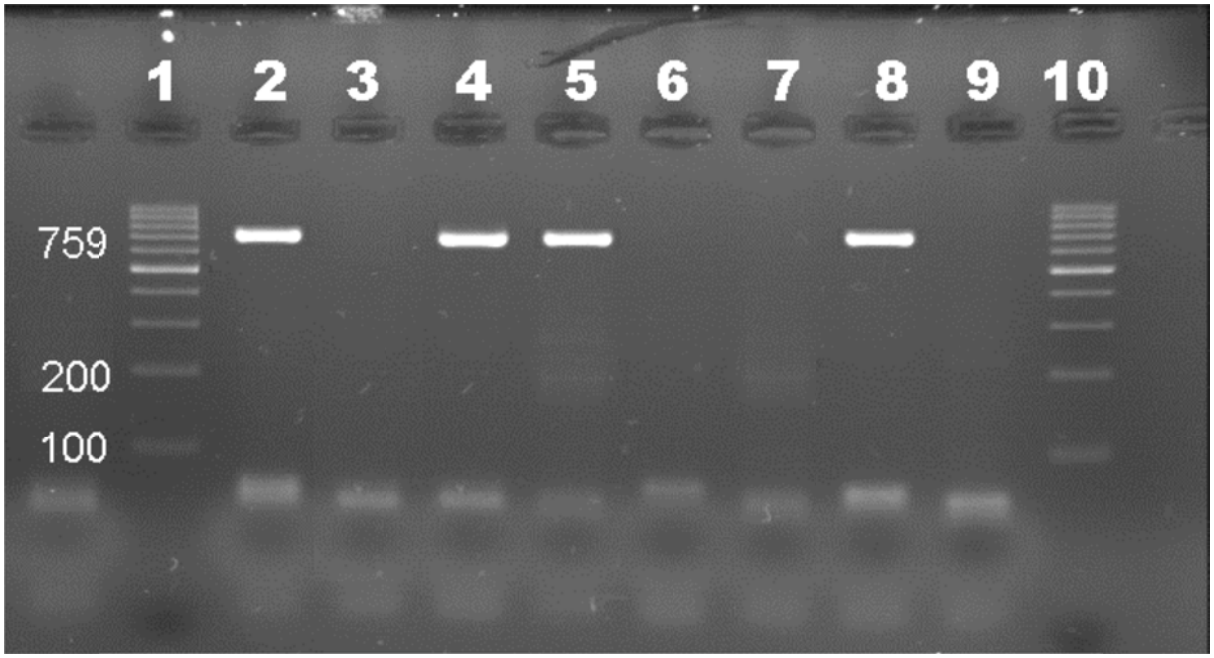
مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها مسأله‌ی بسیار مهمی در عفونت‌های مرتبط با بیمارستان‌ها و مراکز بهداشتی- درمانی است که متأسفانه این مسأله به درون جامعه نیز رخنه کرده است. در این میان، باکتری‌های گرم منفی تولید کننده‌ی ESBL، نگرانی عمده‌ای را در خصوص کنترل و درمان این عفونت‌ها به وجود آورده‌اند (۱۶-۱۲).

آنزیم‌های مختلفی از باکتری‌های گرم منفی جدا می‌شوند که مسؤول این مقاومت می‌باشند؛ شایع‌ترین آن‌ها TEM، SHV و CTX-M می‌باشند. در اروپا، ظهور این آنزیم‌ها اولین بار در سال ۱۹۸۳ گزارش گردید و از آن زمان، تعداد آن‌ها به طور چشم‌گیری افزایش یافته است (۱۸-۱۷).

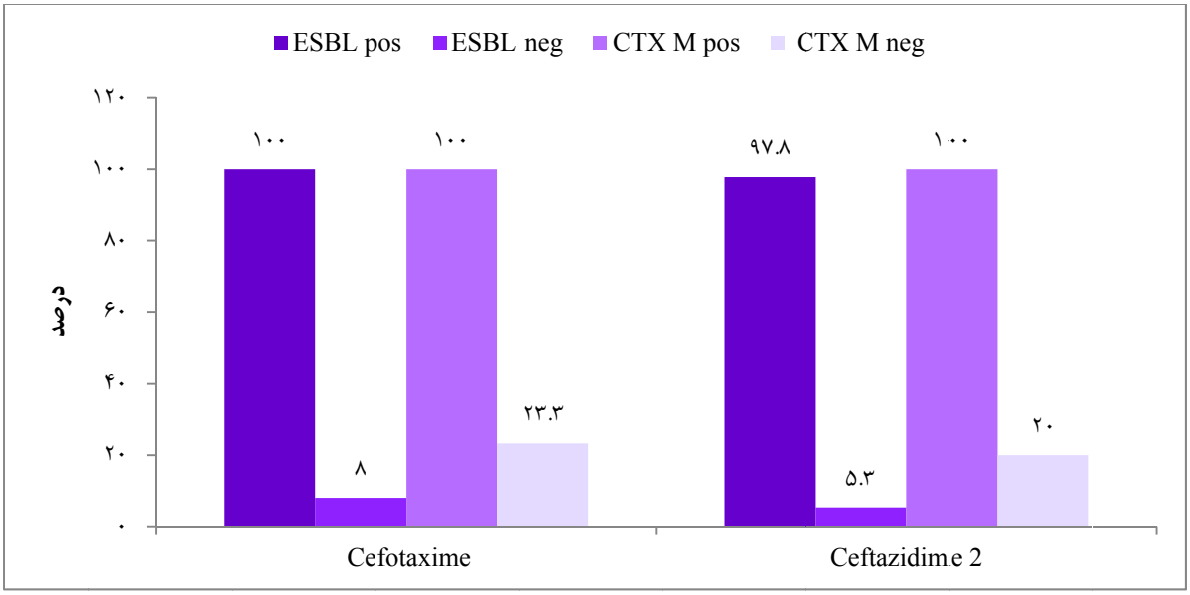
جدول ۱. حساسیت سویه‌های Escherichia coli جدا شده از عفونت‌های ادراری افراد سرپایی و بستری بر اساس روش Kirby–Bauer

آنتی‌بیوتیک	بیماران بستری			بیماران سرپایی			مقدار P
	R	I	S	R	I	S	
Ampicillin	۹۴/۹	۰	۵/۱	۸۴/۴	۱/۱	۱۴/۵	< ۰/۰۰۱
Cefazolin	۷۲/۲	۱۱/۱	۱۶/۷	۴۲/۰	۴/۰	۵۴/۰	< ۰/۰۰۱
Ceftazidime	۵۹/۴	۰	۴۰/۶	۱۹/۷	۰/۷	۷۹/۶	< ۰/۰۰۱
Cefotaxime	۶۴/۲	۱/۵	۳۴/۳	۱۹/۸	۴/۶	۷۵/۶	< ۰/۰۰۱
Ceftizoxime	NA	NA	NA	۱۲/۲	۲/۴	۸۵/۴	-
Amikacin	۱۷/۰	۳/۸	۷۹/۲	۸/۲	۱۰/۲	۸۱/۶	۰/۱۱۰
Gentamicin	NA	NA	NA	۱۸/۶	۳/۱	۷۸/۳	-
Nalidixic acid	NA	NA	NA	۴۰/۸	۵/۳	۵۳/۹	-
Ciprofloxacin	۴۷/۶	۱/۲	۵۱/۲	۳۱/۴	۱/۳	۶۷/۳	< ۰/۰۰۱
Co-trimoxazol	۸۴/۸	۰	۱۵/۲	۶۰/۱	۰/۶	۳۹/۲	< ۰/۰۰۱
Nitrofurantoin	۲۳/۱	۱/۳	۷۵/۶	۱۰/۱	۴/۰	۸۵/۹	< ۰/۰۰۱
Imipenem	۲/۵	۰	۹۷/۵	NA	NA	NA	-
Cefepime	۶۲/۵	۰	۳۷/۵	NA	NA	NA	-

S: Susceptible; I: intermediate; R: Resistant; NA: Not applicable



شکل ۱. ژل آگارز حاوی نمونه‌های PCR (Polymerase chain reaction) حاصل از تکثیر ژن CTX-M. ستون ۱، مربوط به اندازه‌ی نشانگر و ستون‌های ۲، ۴ و ۵ ایزوله‌های مثبت و نمونه‌های ۳، ۶ و ۷ ایزوله‌های منفی می‌باشند. ستون ۸ شاهد مثبت و ستون ۹ مربوط به شاهد منفی می‌باشد.



شکل ۲. درصد فراوانی مقاومت به سفوتاکسیم و سفتازیدیم بر حسب ESBL (Extended-spectrum beta-lactamase) و ژن CTX-M

در مطالعه‌ای که در کشور هند انجام شد، فراوانی نسبی سویه‌های Escherichia coli جدا شده از عفونت‌های ادراری بیمارستانی، ۲۶ درصد مشاهده گردید. در این مطالعه، مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های کوتریموکسازول ۷۵، سیپروفلوکساسین ۵۲ و جنتامایسین ۴۵ درصد گزارش شده است (۱۹).

در مطالعه‌ی حاضر در ایران، مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های Escherichia coli جدا شده از عفونت‌های ادراری بیمارستانی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کوتریموکسازول ۸۴/۸ و نسبت به سیپروفلوکساسین ۴۷/۶ درصد بود (شکل ۱) که تا حدودی در دو کشور مشابه می‌باشد.

در مطالعه‌ای که در یکی از بیمارستان‌های شیکاگو صورت گرفت، از میان ۱۱۴۰۷ نمونه‌ی ادراری از بیماران سرپایی، ۱۹۳ مورد

Escherichia coli جدا شده مولد ESBL بود که در بین آن‌ها، ۱۰۷ مورد (۵۵ درصد) از نظر حضور ژن CTX-M مثبت گزارش شدند (۲۰). در مطالعه‌ی حاضر، ۱۲ مورد از ۶۰ نمونه‌ی بیماران سرپایی، مولد ESBL گزارش شدند که ۴ مورد (۳۳ درصد) از نظر ژن CTX-M مثبت بودند.

در مطالعه‌ی Shahid و همکاران در هند بر روی ۹۳ نمونه‌ی Escherichia coli، با استفاده از روش PCR مشخص شد که ۷۲ نمونه، مولد ژن CTX-M بودند (۲۱).

در مطالعه‌ای در شهر سنندج، از ۱۸۸ نمونه‌ی ادراری، ۱۵۰ مورد Escherichia coli بودند که ۹/۶ درصد از آن‌ها حاوی ژن CTX-M بودند (۲۲).

در مطالعه‌ای که در شهرکرد انجام شد، از ۹۱ ایزوله‌ی مولد ESBL مربوط به خانواده‌ی انتروباکتریاسه، ۶۲ ایزوله مربوط به Escherichia coli بودند که از این تعداد، ۳۸ مورد واجد ژن CTX-M بودند و بیشترین ژنوتیپ پیش‌گفته در سویه‌های Escherichia coli مشاهده شد (۲۳).

با توجه به تعداد نمونه‌های مولد ESBL و واجد ژن CTX-M و مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به سفوتاکسیم و سفتازیدیم در گروه بستری، به نظر می‌رسد که نتایج ژنوتیپی با نتایج فنوتیپی همخوانی داشته باشند. بنا بر این، مصرف بی‌رویه‌ی آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیف در بخش‌های عفونی و انتقال آلودگی در بین بیماران و کادر بیمارستانی را می‌توان از دلایل انتشار سویه‌های مولد ESBL در محیط‌های درمانی دانست. همچنین، این گونه مکان‌ها را می‌توان محلی برای انتشار چنین سویه‌هایی به داخل جامعه قلمداد نمود.

با توجه به این مطالعه و سایر مطالعات انجام گرفته در ایران و کشورهای دیگر، تشابهات و اختلافاتی در فراوانی نسبی باکتری‌های Escherichia coli مولد ESBL مشاهده گردیده است که این مسأله بیشتر به شرایط منطقه‌ای و جغرافیایی مکان مورد مطالعه و همچنین سلایق انتخاب دارو و مصرف بی‌رویه‌ی داروهای وسیع‌الطیف بر می‌گردد. هدف از این مطالعات، اطمینان از تجویز مناسب و مؤثر آنتی‌بیوتیک‌ها جهت پیش‌گیری از ایجاد میکروارگانیسم‌های مقاوم و کاهش انتشار آن‌ها می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از تمامی کسانی که در این پژوهش همکاری نمودند سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. Am J Infect Control 1988; 16(3): 128-40.
2. Horan TC, Gaynes RP, Martone WJ, Jarvis WR, Emori TG. CDC definitions of nosocomial surgical site infections, 1992: a modification of CDC definitions of surgical wound infections. Infect Control Hosp Epidemiol 1992; 13(10): 606-8.
3. McGeer A, Campbell B, Emori TG, Hierholzer WJ, Jackson MM, Nicolle LE, et al. Definitions of infection for surveillance in long-term care facilities. Am J Infect Control 1991; 19(1): 1-7.
4. Best J, Kitlowski AD, Ou D, Bedolla J. Diagnosis and management of urinary tract infections in the emergency department. Emerg Med Pract 2014; 16(7): 1-23.
5. Mehdipour Moghaddam MJ, Mirbagheri AA, Salehi Z, Habibzade SM. Prevalence of Class 1 Integrons and Extended Spectrum Beta Lactamases among Multi-Drug Resistant Escherichia coli Isolates from North of Iran. Iran Biomed J 2015; 19(4): 233-9.
6. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001; 14(4): 933-51, table.
7. Arakawa Y, Shibata N, Shibayama K, Kurokawa H, Yagi T, Fujiwara H, et al. Convenient test for screening metallo-beta-lactamase-producing gram-negative bacteria by using thiol compounds. J Clin Microbiol 2000; 38(1): 40-3.
8. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48(1): 1-14.
9. Barthelemy M, Peduzzi J, Bernard H, Tancrede C, Labia R. Close amino acid sequence relationship between the new plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase MEN-1 and chromosomally encoded enzymes of Klebsiella oxytoca. Biochim Biophys Acta 1992; 1122(1): 15-22.
10. Bhaskar E. Clinical correlates of New Delhi metallo-beta lactamase isolates--a survey of published literature. Indian J Med Res 2012; 136(6): 1054-9.
11. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS, Trevino E. Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 10th ed. Philadeiphia, PA: Mosby; 1998.
12. Kim YK, Pai H, Lee HJ, Park SE, Choi EH, Kim J, et al. Bloodstream infections by extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in children: epidemiology and clinical outcome. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46(5): 1481-91.
13. Lytsy B, Sandegren L, Tano E, Torell E, Andersson DI, Melhus A. The first major extended-spectrum B-lactamase outbreak in Scandinavia was caused by clonal spread of a multiresistant Klebsiella pneumoniae producing CTX-M-15. APMIS 2008; 116(4): 302-8.
14. Kaspar T, Schweiger A, Droz S, Marschall J. Colonization with resistant microorganisms in patients transferred from abroad: who needs to be screened?

Antimicrob Resist Infect Control 2015; 4: 31.
15. Bui TM, Hirai I, Ueda S, Bui TK, Hamamoto K, Toyosato T, et al. Carriage of Escherichia coli Producing CTX-M-Type Extended-Spectrum beta-Lactamase in Healthy Vietnamese Individuals. Antimicrob Agents Chemother 2015; 59(10): 6611-4.
16. Celikbilek N, Gozalan A, Ozdem B, Kirca F, Acikgoz ZC. Extended-spectrum beta-lactamase production by Enterobacteriaceae isolates from urine cultures of outpatients: results of a 7-year follow-up. Mikrobiyol Bul 2015; 49(2): 259-65. [In Turkish].
17. Machado E, Coque TM, Canton R, Novais A, Sousa JC, Baquero F, et al. High diversity of extended-spectrum beta-lactamases among clinical isolates of Enterobacteriaceae from Portugal. J Antimicrob Chemother 2007; 60(6): 1370-4.
18. Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. Euro Surveill 2008; 13(47).
19. National Nosocomial Infections Surveillance System. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control 2004; 32(8): 470-85.
20. Qi C, Pilla V, Yu JH, Reed K. Changing prevalence of Escherichia coli with CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases in outpatient urinary E. coli between 2003 and 2008. Diagn Microbiol Infect Dis 2010; 67(1): 87-91.
21. Shahid M., Monil S, Abida M, Indu S, Khan HM. ESBL phenotypes and prevalent genotype of CTX-M type beta lactamases in clinical isolates of E. coli in a North Indian tertiary care hospital. Proceedings of the Microcon 2006 Conference; 2006 Oct 26-29; Nagpur, India.
22. Rahman NMW, Lutfor AB, Jhora ST, Yasmin M, Haq JA. Detection of CTX-M gene in extended spectrum beta lactamase (ESBL) producing Escherichia coli and Klebsiella species of different hospitals. Bangladesh J Med Microbiol 2012; 4(2): 28-31.
23. Torshizi R, Zamanzad B, Mokhtareyan K, Karimi A. Determination of CTX-M genes in enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamase using PCR method. J Shahrekord Univ Med Sci 2011; 13(3): 9-17. [In Persian].

Journal of Isfahan Medical School
Received: 13.09.2015
Vol. 33, No. 360, 4th Week, January 2016
Accepted: 14.12.2015

Prevalence of CTX-M Genes in Escherichia Coli Strains in Outpatient and Inpatient Cases with Urinary Tract Infections in Isfahan, Iran

Mehdi Mobasherizadeh MSc[1], Seyed Kazem Bidoki PhD[2], Sina Mobasherizadeh PhD[3]

Original Article

Abstract

Background: Extended-spectrum beta-lactamase of CTX-M-type is considered as an important mechanism resistant to beta-lactam drugs in the gram-negative pathogens. In this study, the prevalence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Escherichia coli (E. coli) as well as the frequency of CTX-M genes from urinary tract infections in inpatients and outpatients caused by Escherichia coli in selected health centers in Isfahan, Iran, was studied in 2013.

Methods: The study was carried out on 120 E. coli isolates from inpatients and outpatients with urinary tract infection. The susceptibility of isolates was tested using disc diffusion method. The ESBL-producer strains were confirmed using combined discs method. Finally, the blaCTX-M gene was determined in ESBL-producer isolates using polymerase chain reaction (PCR) method. To identify the strains of E. coli producing CTX-M genes, PCR method was used. The collected data were entered and analyzed in WHONET 5.6 and Excel softwares.

Findings: From 120 strains of E. coli, 12 outpatient (20.0%) and 33 inpatient (55.0%) isolates were ESBL-producer. 84.4% and 60.1% of outpatient isolates and 94.9% and 84.8% of inpatient isolates showed resistance to ampicillin and co-trimoxazole, respectively. PCR analysis revealed that 30 isolates had CTX-M gene.

Conclusion: The production of ESBL, in particular in isolates of inpatients, is a big threat for use of the broad-spectrum cephalosporins. Given the presence of CTX-M gene in the high proportion of the isolates, more molecular and epidemiological studies on pathogenic bacteria in health centers is required to be able to have a common plan to control bacterial resistance.

Keywords: Urinary tract infection, Escherichia coli, CTX-M, ESBL

Citation: Mobasherizadeh M, Bidoki SK, Mobasherizadeh S. **Prevalence of CTX-M Genes in Escherichia Coli Strains in Outpatient and Inpatient Cases with Urinary Tract Infections in Isfahan, Iran.** J Isfahan Med Sch 2016; 33(360): 2019-25

1- Department of Genetics and Biotechnology, School of Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran
2- Assistant Professor, Department of Genetics and Biotechnology, School of Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran
3- Nosocomial Infection Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan Iran
Corresponding Author: Seyed Kazem Bidoki PhD, Email: drbidoki@yahoo.com