Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences and Health Services

Original Article

Study of drug resistance and resistance index of *E. coli* isolates collected from clinical specimens and determination of bla_{CTX-M1} gene by PCR in Tabriz.

Zahra Niknafs[1], Mohammad Reza Nahaei[2,3*], Javid Sadegi[3], Najieh Beigoli[4]

[1]M.Sc. Student of Microbiology, Tabriz Higher Education Institute of Rab- Rashid, Tabriz, Iran
[2]Department of Microbiology and Laboratory Sciences, School of Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
[3]Department of Microbiology, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[4]Central laboratory of Tabriz, Tabriz, Iran
*Corresponding author; E-mail: nahaeim@yahoo.com

Received: 25 February 2017 Accepted: 21 May 2017 First Published online: 5 March 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May; 41(1):108-114

Abstract

Background: Overuse of beta lactam antibiotics have led to emergence of Extended spectrum beta lactamases (ESBLS). Production of these enzymes can cause resistance against third generation cephalosporins and hydrolysis of monobactams. Treatments of infectious diseases are difficult and in spite of antimicrobial chemotherapy, there are still some difficulties. This study was conducted to investigate antibiotic susceptibility of and search for presence of $bla_{CTX-M-1}$ gene in clinical *E. coli* isolates collected from central laboratory of Tabriz.

Methods: One hundred *E. coli* isolates were collected from central laboratory of Tabriz. Antibiotic susceptibility tests were carried out according to Kirby- Bauer method using amoxicillin, ceftazidime, ciprofloxacin, cefotaxime, imipenem, gentamicin and nitrofurantoin antibiotics. Confirmatory tests were also performed using combined disk test. Finally PCR was used for detecting $bla_{CTX-M-1}$gene.

Results: Seventeen out of 100 *E. coli* isolates contained $bla_{CTX-M-1}$ gene. All of the isolates were sensitive to nitrofurantoin, while 79% of our isolates were resistant to amoxicillin and 82% were recorded an ESBL producers.

Conclusion: Seventeen percent of *E. coli* isolates contained $bla_{CTX-M-1}$gene as a group of ESBL gene indicating presence of other groups of ESBL producing genes which require further studies.

Keywords: *Escherichia coli*, resistance index, blaCTX-M-1gene, Polymerase chain reaction (PCR).

How to cite this article: Niknafs Z, Nahaei M R, Sadegi J, Beigoli N. [Study of drug resistance and resistance index of E. coli isolates collected from clinical specimens and determination of blaCTX-M1gene by PCR in Tabriz.]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 April-May;41(1):108-114. Persian.

© 2019 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences 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

مقاله پژوهشی

مطالعه مقاومت دارویی و اندیکس مقاومت در اشریشیا کلی های جدا شده از عفونت های ادراری و شناسایی ژن *blaCTX-M1* در جدایه های تحت مطالعه با روش PCR در شهر تبریز

زهرا نیک نفس[۱]، محمدرضا نهائی[۲،۳*]، جاوید صادقی[۳]، ناجیه بیگلی[۴]

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، مؤسسه عالی ربع رشید، تبریز، ایران
[۲]گروه میکروب شناسی، و علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
[۳]گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[۴]آزمایشگاه مرکزی تبریز، تبریز، ایران
[*] نویسنده مسوول؛ ایمیل: nahaeim@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۷ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۳۱ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱):۱۰۸-۱۱۴

چکیده

زمینه: مصرف بی رویه آنتی بیوتیک های بتالاکتام منجر به ایجاد گروهی از آنزیم های بتالاکتامازی به نام بتالاکتامازهای طیف گسترده (ESBL) شده است. تولید این آنزیم ها سبب ایجاد مقاومت نسبت به سفالوسپورین های نسل سوم و هیدرولیز مونوباکتام ها می گردد .بیماری های عفونی و درمان آنها از مشکلات اساسی در زندگی بشری می باشند وعلیرغم گذشت سالیان متمادی از آغاز عصر شیمی درمانی ضدمیکروبی، در سراسر جهان مشکلات عدیده ای را ایجاد نموده است. این مطالعه جهت بررسی الگوهای حساسیت آنتی بیوتیکی و بررسی حضور ژن *blaCTX-M-1* در ایزوله های اشریشیاکلی جداسازی شده از نمونه های بالینی در آزمایشگاه مرکزی شهر تبریز انجام شد.

روش کار: تعداد ۱۰۰ ایزوله در طی یک ماه از آزمایشگاه مرکزی شهر تبریز جمع آوری گردید. ایزوله های اشریشیاکلی توسط تست های روتین باکتریولوژیک شناسایی و به روش Kirby-Bauer با استفاده از آنتی بیوتیک های آموکسی سیلین، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، ایمی پنم و نیتروفورانتوئین آنتی بیوگرام گردیدند. تست تأییدی به روش دیسک ترکیبی (Combined disk test) انجام شد. در نهایت با استفاده از روش PCR ژن *blaCTX-M-1* تحت بررسی قرار گرفت.

یافته ها: از ۱۰۰ ایزوله اشریشیاکلی تعداد ۱۷ ایزوله (۱۷٪) حاوی ژن *blaCTX-M-1* بودند. همه ایزوله ها حساس به نیتروفورانتوئین و ۷۹٪ ایزوله ها مقاوم به آموکسی سیلین و۸۲٪ ایزوله ها ESBL مثبت بودند.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج مطالعه حاضر، ژن مولد بتالاکتاماز *blaCTX-M-1* که تنها جزیی از خانواده بزرگ بتالاکتاماز وسیع الطیف می باشد، در ۱۷٪ ایزوله های اشریشیاکلی شناسایی شد که این نتایج بیانگر وجود کلون های مولد دیگر ژن های بتالاکتاماز وسیع الطیف نیز می باشد.

کلید واژه ها: اشریشیاکلی، اندیکس مقاومت آنتی بیوتیکی، ژن *blaCTX-M1*، واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR)

نحوه استناد به این مقاله: نیک نفس ز، نهائی م ر، صادقی ج، بیگلی ن. مطالعه مقاومت دارویی و اندیکس مقاومت در اشریشیا کلی های جدا شده از عفونت های ادراری و شناسایی ژن *blaCTX-M* در جدایه های تحت مطالعه با روش PCR در شهر تبریز. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۱):۱۰۸-۱۱۴

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

آنزیم‌های بتالاکتاماز اولین بار در سال ۱۹۸۳ و در باکتری کلبسیلا پنومونیه گزارش گردید و بعد از آن در گونه های مختلف انتروباکتریاسه یافت شدند (۱). این آنزیم‌ها به دو صورت مولکولی (Ambler) و عملکردی (Bush) طبقه‌بندی می‌شوند. بتالاکتامازها در طبقه‌بندی Ambler به چهار دسته A تا D تقسیم می‌شوند، که نوع A، C، D سرین بتالاکتاماز هستند، در حالی که نوع B متالوبتالاکتاماز بوده و برای عملکرد خود نیاز به عنصر روی (Zn) دارد (۲). در طبقه‌بندی Bush بتالاکتامازها بر اساس نوع سوبستراها، ممانعت کنندگی و خصوصیات فیزیکی نظیر وزن مولکولی و نقطه ایزوالکتریک به ۴ گروه تقسیم می‌شوند (۳).

بتالاکتامازهای تیپ *CTX-M* توسط پلاسمید کد می‌شوند، آنها قادر به هیدرولیز سفالوسپورین‌های وسیع الطیف بوده (۴) و به طور فزاینده‌ای در کلبسیلا پنومونیه و اشریشیا کلی شایع شدند (۵). این آنزیم‌ها به پنج گروه اصلی *CTX-M-1*، *CTX-M-2*، *CTX-M-8*، *CTX-M-9*، *CTX-M-25* تقسیم می‌شوند (۵) و تاکنون بیش از ۵۰ نوع *CTX-M* شناسایی شده است (۵). این آنزیم‌ها ارتباطی با بتالاکتامازهای *TEM* و *SHV* ندارند و تنها حدود ۱۴٪ با این دو بتالاکتاماز همانندی دارد (۴). آنزیم‌های *CTX-M* در کلاس A بتالاکتامازها قرار می‌گیرند (۶). بتالاکتامازهای وسیع-الطیف گروه *CTX-M* به خاطر فعالیت بیشتر علیه سفوتاکسیم نسبت به سفتازیدیم از دیگر گروه‌های ESBL مانند *TEM* و *SHV* متمایز می‌شوند (۲). آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی به واسطه جلوگیری و ممانعت از کامل شدن پپتیدوگلیکان به واسطه مهار روند تشکیل پل‌های عرضی عمل می‌کنند که این عمل باعث اختلال در بیوسنتز دیواره سلولی و در نتیجه تغییر شکل و لیز شدن سلول می‌شود (۷). در سال‌های اخیر ایزوله‌های با مقاومت دارویی چندگانه در بیمارستان‌هایی که از سفالوسپورین‌ها به طور وسیع استفاده می‌کنند ظاهر شده‌اند (۸). امروزه تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف تهدید بزرگی برای مصرف سفالوسپورین‌های وسیع-الطیف می‌باشد، همچنین ژنهای این آنزیم‌ها در ایجاد مقاومت‌های چندگانه به دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها نیز دخیل می‌باشد به طوری که بروز و انتشار ژنهای مختلف این آنزیم‌ها می‌تواند مقاومت‌های چندگانه ایجاد کرده و استفاده از داروهای ضد میکروبی مفید و مناسب را کاهش دهد (۹).

روش کار

نمونه‌گیری: تعداد ۱۰۰ ایزوله‌ی اشریشیا کلی در مدت یک ماه از بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه مرکزی شهر تبریز به صورت تصادفی ساده (Simple Random Sampling) جمع‌آوری شد. باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های بیماران با استفاده از محیط کشت Blood agar، EMB agar (ائوزین متیلن بلو)، خالص‌سازی شد، سپس تست‌های بیوشیمیایی از قبیل سیمون سیترات، لیزین دکربوکسیلاز، اوره آز، MR/VP، SIM و TSI بر روی کلنی‌ها صورت گرفت و تعیین هویت ۱۰۰ ایزوله به عنوان *E. coli* تأیید گردید. باکتری‌های جداسازی شده بعد از تشخیص در محیط تریپتی سوی براث حاوی ۲۰٪ گلیسرول در ۲۰- درجه‌سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمونهای بعدی ذخیره‌سازی شدند.

تعین مقاومت آنتی‌بیوتیکی: به منظور شناسایی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های آزمایشی تست‌های حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی سفتازیدیم (۳۰ میکرو گرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، آموکسی-سیلین (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰ میکرو گرم) تهیه شده از شرکت پادتن طب انجام شد. در این روش از ایزوله‌های مورد بررسی سوسپانسیونی برابر غلظت نیم مک فارلند تهیه شد و در محیط مولر هینتون آگار (مرک آلمان) کشت داده شد و بعد از ۱۸-۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به دیسک‌های آزمایشی به روش Kirby-Bauer و طبق استانداردهای CLSI سنجیده و نتایج ثبت گردید (۱۰).

تأیید فنوتیپی ESBL با روش دیسک ترکیبی (Combined disk)

در این آزمون همانند الگوی روش دیسک آگار دیفیوژن پس از تهیه محیط کشت مولر هینتون آگار، سوسپانسیون میکروبی با غلظت نیم مک فارلند به طور کامل در سطح محیط مذکور پخش شد. سپس دیسک‌های مورد آزمایش سفتازیدیم/ کلاولانیک اسید (CAZ:30µg/ CV: 10µg) و سفوتاکسیم/ کلاولانیک اسید (CTX: 30µg/ CV: 10µg) به همراه سفوتاکسیم و سفتازیدیم هر کدام (۳۰µg)، به فاصله حداقل ۲/۵ سانتی‌متر از یکدیگر بر روی محیط قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های حاوی کلاولانیک اسید نسبت به دیسک بدون کلاولانیک اسید سنجیده شد (۱۱) و تولید ESBLs از طریق افزایش قطر هاله به اندازه ۵ میلی‌متر یا بیشتر در اطراف دیسک سفتازیدیم/ کلاولانیک اسید یا سفوتاکسیم/ کلاولانیک اسید مشخص گردید. در آزمون تأییدی از سویه کلبسیلا پنومونیه ATCC 700603 به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

نحوه آماده سازی نمونه ها برای انجام PCR

جهت استخراج DNA و انجام PCR ابتدا DNA ایزوله‌ها با روش Tissue Buffer استخراج شد (۱۲). تست PCR برای شناسایی ژن‌های بتالاکتامازی *CTX-M-1* با اندازه ۲۵۱bp طبق شرایط زیر صورت گرفت:

جهت آماده‌سازی نمونه‌ها برای انجام PCR، ۸ میکرولیتر آب دیونیزه، ۱۲ میکرولیتر PCR مسترمیکس، ۱میکرولیتر Forward Primer، ۱ میکرولیتر Primer Reverse با ۳ میکرولیتر از DNA استخراج شده به ازاء هر نمونه مخلوط شده و به حجم ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. شایان ذکر است از Master Mix آماده استفاده گردید (۱۲). واکنش PCR طی ۴۰ سیکل تحت برنامه زمانی دستگاه ترموسایکلر شامل: مرحله واسرشته شدن اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، مرحله واسرشته شدن (Denaturation) در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله اتصال (Anneling) در دمای ۵۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله طویل شدن (Extention) در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و مرحله طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. از باکتری کلبسیلا پنومونیه ATCC 7881 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. الکتروفورز محصولات PCR در ژل آگارز ۱٪ در حضور مارکر bp۱۰۰ (تهیه شده از شرکت سیناژن) انجام شد و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید نتایج با دستگاه gel document و با نور UV مشاهده و عکسبرداری شد.

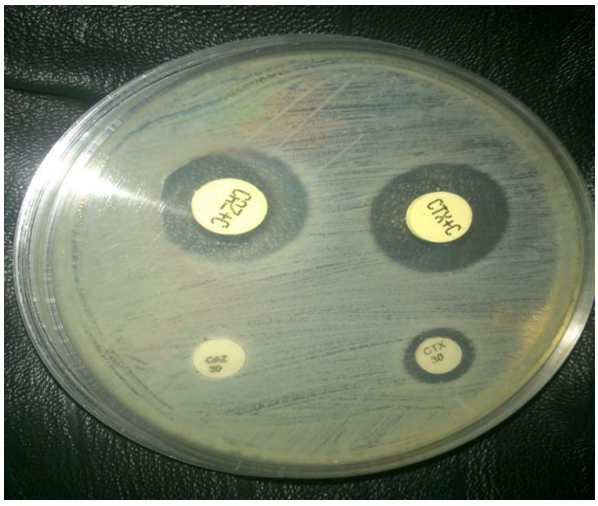
یافته‌ها

از ۱۰۰ ایزوله اشریشیاکلی که از نمونه‌های ادراری جدا شده بود، ۸۲ ایزوله (۸۲٪) مقاوم به آموکسی‌سیلین، ۳۱ ایزوله (۳۱٪) مقاوم به ایمی‌پنم، ۳۰ ایزوله (۳۰٪) مقاوم به سیپروفلوکساسین، ۲۴ ایزوله (۲۴٪) مقاوم به سفوتاکسیم، ۱۶ ایزوله (۱۶٪) مقاوم به سفتازیدیم، ۱۰ ایزوله (۱۰٪) مقاوم به جنتامایسین بودند ولی هیچ کدام از ایزوله‌ها به نیتروفورانتوئین مقاومت نشان ندادند.

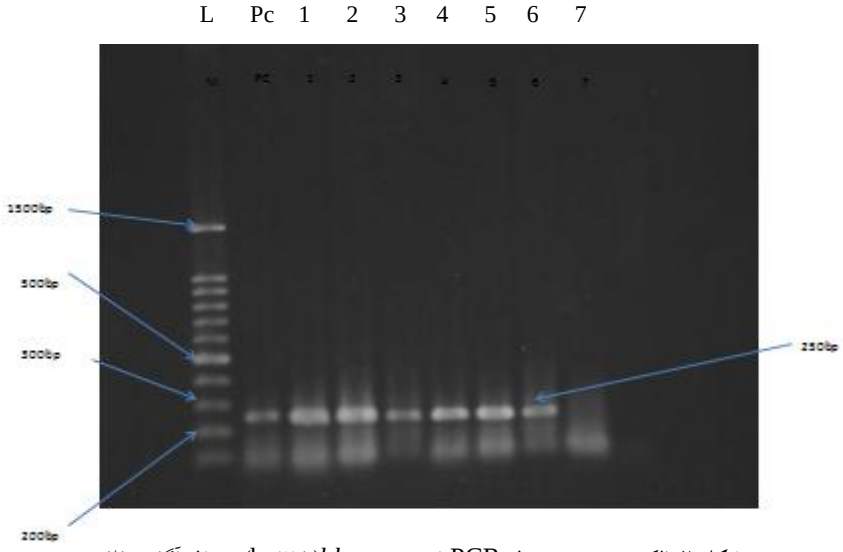
اشریشیا کلی دارای مقاومت چندگانه (MDR) در ۳۱ ایزوله (۳۱٪) مورد مطالعه یافت شد. بر اساس نتایج حاصل از آزمون تأییدی فنوتیپی سینرژی دو دیسک (DDT)، ۷۷ درصد از ایزول‌های باکتریایی تولید کننده‌ی بتالاکتاماز وسیع‌الطیف بودند. ۱۷ ایزوله حاوی ژن *blaCTX-M1* شناسایی شد. از ۱۷ ایزوله‌ای که دارای ژن *blaCTX-M-1* بودند، بیشترین مقاومت نسبت به آموکسی‌سیلین (۹۴/۱۱٪) و کمترین مقاومت نسبت به جنتامایسین بود، در ضمن نسبت به نیتروفورانتوئین مقاومتی مشاهده نشد. از ۱۰۰ ایزوله آزمایشی اشریشیاکلی، ۱۰ ایزوله (۱۰٪) دارای ژن *blaCTX-M-1* و مقاوم به سفوتاکسیم بوده و ۶ ایزوله (۶٪) دارای ژن *blaCTX-M-1* به سفتازیدیم مقاومت نشان دادند.

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR (۱۳)

پرایمر	توالی نوکلئوتیدی
Forward-CTX-M1	5’-CGTGGCGATGAATAAGCTG-3’
Reverse-CTX-M1	5’-GGTGGTATTGCCTTTCATCC-3’



شکل ۱: نمایش افزایش هاله عدم رشد در ایزوله شماره ۳۲ *E. coli* با روش دیسک ترکیبی (Combined disk)
CTX: Cefotaxime, CAZ: Ceftazidime, CAZ+CV, Ceftazidime + Clavulanic acid; CTX+CV, Cefotaxime+ Clavulanic acid



شکل ۲: الکتروفورز محصول PCR ژن bla_{CTX-M1}(bp۲۵۱) در ژل آگارز ۱٪
PC: کنترل مثبت، ۶-۱: ایزوله‌های ***E. coli*** حاوی ژن bla_{CTX-M1}، ۷: کنترل منفی

جدول ۲: میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله های *E. coli* حاوی ژن $bla_{CTX-M-1}$ به آنتی بیوتیک های آزمایشی

آنتی بیوتیک ها	تعداد ایزوله های مقاوم (R)	تعداد ایزوله های نیمه مقاوم (I)	تعداد ایزوله های حساس (S)
آموکسی‌سیلین	۱۶(٪۹۴/۱۱)	۰	۱(٪۰/۸۸)
ایمی‌پنم	۱۲(٪۷۰/۵۱)	۱(٪۰/۸۸	۴(٪۲۳/۵۲)
سفوتاکسیم	۱۰(٪۵۸/۸۲)	۱(٪۰/۸۸)	۶(۳۵/۲۹)
سیپروفلوکساسین	۹(٪۵۲/۹۴)	۰	۸(٪۴۷/۰۵)
سفتازیدیم	۷(٪۴۱/۱۷)	۲(٪۱۱/۷۶)	۸(٪۴۷/۰۵)
جنتامایسن	۳(٪۱۷/۶۴)	۰	۱۴(٪۸۲/۳۵)
نیتروفورانتوئین	۰	۰	۱۷(٪۱۰۰)

بحث

پدیده مقاومت‌های دارویی بلافاصله پس از چند سال از مصرف انبوه آنتی‌بیوتیک‌ها در جوامع انسانی شناخته شده است و به صورت‌های مختلف تکی یا چند دارویی دیده می‌شود، سویه-های ESBL نوع خاصی از مقاومت‌های دارویی را دارند که اولین بار در سال ۱۹۸۳ گزارش شدند (۱۴). ESBLها مولکولهای بتالاکتامازی کلاس A و D می‌باشند که قادر به هیدرولیز اکسی ایمینوسفالوسپورین‌ها در اندازه‌های برابر یا ۱۰٪ بیشتر از بنزیل پنی‌سیلین‌ها هستند (۱۵). ژنهای بتالاکتامازی در باکتریها به ویژه ژنهای ESBL، یکی از عوامل موثر در افزایش مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیکهای بتالاکتام از جمله سفالوسپورینهای وسیع‌الطیف است (۱۶). هیدرولیز داروهای بتالاکتام توسط بتالاکتامازها شایعترین مکانیسم مقاومت باکتریهای گرم منفی است (۱۷). در سال ۲۰۰۶ در مصر براساس نتایج بررسیهای AL-Agamy و همکاران میزان مقاومت به سفتازیدیم ۳۸٪ بود (۱۸). در مطالعه‌ای که توسط Farshad و همکاران به منظور ارائه‌ی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در اشریشیاکلی‌های جدا شده از عفونت‌های ادراری صورت گرفت، مقاومت نمونه‌ها به کوتریماکسازول ۷۶٪، تتراسایکلین ۷۰/۸٪، جنتامایسین ۱۵/۶٪، آمیکاسن ۳٪ و سیپروفلوکساسین ۸۳٪ گزارش شد و مقاومت نسبت به ایمی‌پنم مشاهده نشد (۱۹). Kiffer و همکاران در برزیل درصد سویه‌های مقاوم اشریشیاکلی جداشده از بخشهای مختلف بیمارستان نسبت به سفوتاکسیم و سفتازیدیم را به‌ترتیب ۱۴/۶٪ و ۱۴/۶٪ گزارش کردند (۲۰). در مطالعه حاضر از ۱۰۰ ایزوله اشریشیاکلی که ازنمونه‌های ادراری جد اشده بود. ۸۲ ایزوله (٪۸۲) مقاوم به آموکسی‌سیلین، ۳۱ ایزوله (٪۳۱) مقاوم به ایمی‌پنم، ۳۰ ایزوله (٪۳۰) مقاوم به سیپروفلوکساسین، ۲۴ ایزوله (٪۲۴) مقاوم به سفوتاکسیم، ۱۶ ایزوله (٪۱۶) مقاوم به سفتازیدیم، ۱۰ ایزوله (٪۱۰) مقاوم به جنتامایسین بودند، ولی هیچکدام از ایزوله‌ها به نیتروفورانتوئین مقاومت نشان ندادند.

عدم تطابق نتایج این بررسی با مطالعات ذکرشده می‌تواند به دلیل نوع نمونه‌های مورد بررسی و نوع دیسک آنتی‌بیوگرام باشد در مطالعه Hosseinzadegan و همکاران در خرم‌آباد در سال

۱۳۸۶، ۲۱٪ از ایزوله‌های انتروباکتر ESBL مثبت گزارش شدند (۲۱). در مطالعه‌ای که Abubaker و همکاران در سال ۲۰۱۵ در مصر انجام دادند، ۷/۶٪ ایزوله‌ها ESBL مثبت بودند (۲۲). در مطالعه‌ی دیگری که Abdallah و همکاران در سال ۲۰۱۵ در مصر انجام دادند، ۶۵/۰۹٪ ایزوله‌ها را مولد ESBL گزارش کردند (۲۳). در مطالعه‌ای که Mazen و همکاران در سال ۲۰۱۶ انجام دادند، ۳۳/۱۷٪ ایزوله‌ها ESBL مثبت بودند (۲۴). در حالی که در این مطالعه ۷۷٪ ایزوله‌ها ESBL مثبت بودند که علت آن می‌تواند مصرف خودسرانه یا تجویز بی‌رویه آنتی‌بیوتیکها بدون تست آنتی-بیوگرام باشد. در مطالعه حاضر ۱۷٪ ایزوله دارای ژن *blaCTX-M-1* بودند. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۵ توسط Abdallah و همکاران انجام شد، ۲۳/۴۶٪ ایزوله‌ها واجد ژن *blaCTX-M-1* بودند (۲۳). در مطالعه‌ی Su Wang و همکاران که در سال ۲۰۱۶ انجام شد، ۴/۹۳٪ ایزوله‌ها حاوی ژن *blaCTX-M* بودند (۲۵). در مطالعه حاضر میزان شیوع ESBL در اشریشیاکلی‌های آزمایشی ۷۷٪ بود که این تفاوت میان نتایج حاصل از این مطالعه و سایر مطالعات انجام شده ممکن است دلایل مختلفی داشته باشد، از جمله تفاوت در میزان مصرف آنتی‌بیوتیکها در مناطق مختلف، تفاوت در الگوی مصرف آنتی‌بیوتیکها یا تفاوت در زمان یا نوع نمونه‌های جمع-آوری شده آزمایشی.

نتیجه‌گیری

تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف تهدید جدی برای مصرف آنتی‌بیوتیک‌های با طیف وسیع به شمار می‌رود، بنابراین باید در درمان عفونت‌هایی که مشکوک به حضور ارگانیسم‌های تولید کننده ESBL هستند، تست آنتی‌بیوگرام صورت گرفته و طبق نتایج حاصل از آن آنتی‌بیوتیک مناسب برای درمان تجویز گردد. همچنین لازم است از مصرف بی‌رویه و خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌ها خودداری گردد.

قدردانی

از مسئولین محترم گروه آموزشی میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی تبریز که در انجام این پژوهش یاری نمودند و همچنین از آقایان علی معماری و شهنازی که در آزمایشگاه موسسه عالی ربع رشیدی تبریز همکاری‌های لازم را داشتند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنم. لازم به ذکر است که این مقاله بر گرفته از پایان-نامه کارشناسی ارشد خانم زهرا نیک نفس باشد.

منابع مالی

حمایت مالی از این طرح تحقیقاتی شخصی بوده و از طرف خانم زهرا نیک نفس انجام شده است.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تألیف یا انتشار این مقاله وجود ندارد.

مشارکت مولفان

ز ن ن، م ر ن و همکاران طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند. همچنین مقاله را تألیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تأیید کرده اند.

References

1. Knothe H, Shah P, Kreméry V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumonia* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983; **11**: 315-317. doi:10.1007/BF01641355
2. Bonnet, R. Growing group of extended- spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; **48**: 1-14. doi: 10.1128/AAC.48.1.1-14.2004
3. Howard Ch, van Daal A, Kelly G, Schooneveldt J, Nimmo Graeme Ph. M, Giffard P M. Identification and minisequencing-based discrimination of *SHV* beta-lactamases in nosocomial infection- associated *Klebsiella pneumoniae* in Brisbane, Australia. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; **46**(3): 659-664. doi: 10.1128/AAC.46.3.659-664. 2002
4. Tzouvelekis L S, Tzelepi E, Tassios P T, Legakis N J. CTX-M-type beta-lactamases: an emerging group of extended-spectrum enzymes. *Int J Antimicrob Agents* 2000; **14**: 137-142. doi: 10.1016/S0924-8579(99)00165-X
5. Falagas M E, Karageorgopoulos D E. Extended-spectrum betalactamase- producing organisms. *J Hosp Infect* 2009; **73**: 345-354. doi: 10.1016/j.jhin.2009.02.021
6. Mirzaee M, Pourmand M R, Chitsaz M, Mansouri S. Antibiotic resistance to third generation cephalosporins due to *CTX-M-Type* extended-spectrum β-lactamases in clinical isolates of *Escherichia coli*. *Iranian J Publ Health* 2009; **38**(1): 10-17.
7. Lausova A, Bujdakova H, Kettner M. Beta-Lactam antibiotics mechanisms of action and resistance in Enterobacteriaceae. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 1997; **46**(2): 73-80. doi: 10.1016/S0924-8579(98)00027-2
8. Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E. The Genus Enterobacter. Prokaryotes, 3rd Edition. Springer, 2006:197-214. (ISBN: 978-0-387-25494-4 (Print) 978-0-387-30744-2 (Online))
9. Tarshizi R, Zamanzad B, Mokhtarian K, Karimi A. Determination of CTX-M gene the intestinal bacteria ESBL producting PCR method. *Med Sci Shar Kord* 2011; **13**(3): 9-17.

10. Paterson D L, Bonomo R A. Extended-spectrum b-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; **18**: 657-686. doi: 10.1128/CMR.18.4.657-686.2005
11. Srisangkaew S, Vorachit M. The Optimum Agent for Screening and Confirmatory Tests for Extended-Spectrum Beta-Lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Ramathibodi Hospital, Thailand. *J Infect Dis Antimicrob Agents* 2004; **21**: 1-5. doi: 10.1016/j. ijantimicag.2006.12.004
12. Edelstein M, Pimkin M, Palagin I, EdelstinI, Stratchounskin L. Prevalence and molecular epidemiology of *CTX-M* extended-spectrum betalactamase producing *E.coli* and *K.pneumoniae* in Russian hospital. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; **47**: 3724-3732. doi: 10.1128/ AAC.47.12.3724-3732.2003
13. Soltandalal M M, Mobseri G, Falahmehrabadi J, Eshragiyan M R, Rastegarlari A A, Molaagamirzaii H, et al. Identification resistance lactamase *CTX-M-1* gene in *E. coli* isolated from clinical specimens. *Med Sci Tehran* 2011; **69**(1): 16-21.
14. Genat J, Sadegian A. Antimicrobial resistance in nosocomial infections. *Ear, Throat, Nose Iran Jur* 2001; **13**(27): 44-54
15. Prinarakis EE, Miriagou V, Tzelepi E, Gazouli M, Tzouvelekis LS. Emergence of an inhibitor- resistant beta – lactamases (SHV-*10*) derived from an *SHV- 5* variant. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; **41**: 838-884.
16. Branger C, Zamfir O, Geoffroy S, LauransG, Arlet G, Thien H, et al. Genetic Background of *Escherichia coli* and Extended-Spectrum Beta- Lactamase type. *Emerg Infect Dis* 2005; **11**(1): 54-61. (https://wwwnc.cdc.gov/eid/)
17. Boriello S P, Murray P R, Funke G. *Citrobacter*, bsiella, Enterobacter, *serratia*, and other Enterobacteriaceae. Topley& Wilson's10th Edition. London, ***Hodder Arnold***, 2005: 1474 -1506. doi: 10.1002/9780470688618.taw0057
18. AL-Agamy M, Mohamed H, Mohamed A. EL-Din S. Wiegand, Irith, First description of *CTX-M* beta-lactamase-producing clinical *Escherichia coli* isolates from Egypt. *Jour International Antimicrobial Agents* 2006; **27**: 545-548. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2006.01.007)
19. Shohreh F, Ranjbar R, Anvarinejad M, Shahidi Maneli A, Hosseini M. Emergenceof Multi Drug Resistant Strains of Escherichia coli Isolatedfrom Urinary Tract Infection. *The Open Conference Proceedings Journal* 2010; **1**: 192-196. doi**:** 10.2174/22102892010010100192
20. Kiffer C, Hsiung A, Oplustil C, Sampaio J, Sakagami E, Turner Ph, et al. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative bacteria in Brazilian hospitals: the MYSTIC Program Brazil 2003**.** *Braz J Infect Dis* 2005; **9**: 216-224.
21. Hosseinzadegan H, Hasani A, Azadpoor M, Soleimannezhad S, Mohamadi F. Identification of germ negative bacilli ESBL producting of bacteria isolated from clinical cases. *Laboratory Sciences Jur* 2007; **1**(2): 2-6.
22. Abubaker A. Abujnah Zorgani A, Sabri M, El-Mohammady Hanan A, Khalek R. Multiduring resistance and extended- spectrum-beta- lactamases genes among E. coli from patients with urinary tract infections in Northwestern Libya. *Libyan Jurnal of Medicine* 2015; **2**: 1-7. doi: 10.3402/ljm.v10.26412
23. Abdullah H M, Reuland E A, Wintermans B B, al Naiemi N, Koek A A, Abdelwahab M, et al. Extended- spectrum-beta- lactamases and/ or Carbapenemases- producing Enterobacteriaceae Isolated from Retail Chicken Meat in Zagazig. *Egypt Journal Pone* 2015; **10**(137): 1-8. doi: 10.1371/journal.pone.0136052
24. Mazen A A, Bansal D, Acharya A, Asha A. Antimicrobial Susceptibility and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases- producing Enterobacteriaceae from intensive care units at Hamad Medical Corporetion. *Qatar.Antimicrobiol Resistance and infection Control* 2016; **5**(4): 2-6. doi: 10.1186/s13756-016-0103-x
25. Su Wang, Sheng-Yuan Zhao, Shu-Zhen Xiao, Fei- Fei Gu, Qing- Zhong Liu, Jin Tang, et al. Antimicrobial Resistance and Molecular Epidmiology of E. coli Causing Blodstream Infections in Three Hospitals in Shanghai. *China Journal Pone* 2016; **10**(137): 1-13. doi: 10.1371/journal. pone.0147740