● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ بیست‌وسوم، شمارهٔ ۲، ص ۱۵۵-۱۴۵، ۱۳۹۵

مقالهٔ پژوهشی

شیوع ژن‌های *blaCTX-M1*، *blaCTX-M14* و *blaCTX-M15* در میان جدایه‌های اشریشیا کلی مولد عفونت ادراری بیماران سرپایی در شهر کرمانشاه

دکتر علیشا اکیا[1]، مهرداد خدادوست[2*]

خلاصه

مقدمه: عفونت مجاری ادراری (Urinary tract infection یا UTI) کسب شده از جدایه‌های اشریشیا کلی (Escherichia coli یا E. coli) مولد بتالاکتاماز طیف گسترده (Extended-spectrum beta-lactamase یا ESBL) به صورت جهانی در حال افزایش است. هدف از انجام این مطالعه، بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، فراوانی فنوتیپی جدایه‌های E. coli مولد ESBL و ژن‌های CTX-M در جدایه‌های عفونت ادراری بیماران سرپایی بود.

روش: در مطالعه حاضر، ۲۴۰ جدایه E. coli از نمونه ادراری بیماران سرپایی شهر کرمانشاه جدا شد. تعیین حساسیت نسبت به ۱۰ آنتی‌بیوتیک منتخب با روش انتشار دیسک (Disk diffusion) انجام گرفت. سپس با استفاده از آزمون دیسک ترکیبی، جدایه‌های تولید کننده ESBL به صورت فنوتیپی شناسایی گردید. در نهایت، با استفاده از واکنش PCR (Polymerase chain reaction)، وجود ژن‌های blaCTX-M1، blaCTX-M14 و blaCTX-M15 در جدایه‌های تولید کننده ESBL مشخص شد.

یافته‌ها: از مجموع ۲۴۰ جدایه، ۱۹۹ جدایه (۸۲/۹ درصد) به آمپی‌سیلین مقاوم بودند، اما همه آن‌ها به ایمی‌پنم حساسیت داشتند. ۹۶ جدایه (۴۰/۰ درصد) به سه و یا بیشتر از سه دسته آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دادند. همچنین، ۶۷ جدایه (۲۷/۹ درصد) تولید کننده ESBL بودند که از میان آن‌ها، ۶۱ (۹۱/۰ درصد)، ۵۸ (۸۶/۶ درصد) و ۲۱ (۳۱/۳ درصد) جدایه به ترتیب حامل ژن‌های blaCTX-M1، blaCTX-M15 و blaCTX-M14 بودند.

نتیجه‌گیری: مقاومت جدایه‌های E. coli به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بتالاکتام به ویژه سفالوسپورین‌های نسل سوم، در کرمانشاه یک نگرانی جدی است. فراوانی تولید ESBL و به ویژه انتشار ژن‌های CTX-M در میان جدایه‌های E. coli در عفونت‌های کسب شده از اجتماع تهدید بزرگی برای مصرف سفالوسپورین طیف گسترده به شمار می‌رود. با توجه به وجود ژن‌های ESBL در درصد بالایی از جدایه‌های مولد عفونت ادراری، آنتی‌بیوتیک مناسب باید با توجه به سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی انتخاب شود.

واژه‌های کلیدی: Escherichia coli، blaCTX-M، عفونت ادراری

۱- دانشیار، گروه میکروب‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات عفونت‌های بیمارستانی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران ۲- مربی، گروه مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آبادان، آبادان، ایران

*** نویسنده مسؤول، آدرس پست الکترونیک:** khodadoost.mehrdad@gmail.com

دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۳/۹ **دریافت مقاله اصلاح شده:** ۱۳۹۴/۵/۱۰ **پذیرش مقاله:** ۱۳۹۴/۶/۱۸

مقدمه

عفونت مجاری ادراری (Urinary tract infection یا UTI) یک بیماری عفونی شایع است و سالانه میلیون‌ها نفر به دلیل ابتلا به این عفونت به **پزشک** مراجعه می‌کنند (۱). در منابع پزشکی، اشریشیا کلی (Escherichia coli یا E. coli) به عنوان شایع‌ترین علت عفونت ادراری در سطح جامعه معرفی شده است (۱). با پیدایش آنتی‌بیوتیک‌های جدید و رواج استفاده از آن‌ها، مقاومت باکتریایی در برابر این داروها پدیدار شد. سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها نه تنها در بیماران بستری، بلکه در میان عفونت‌های کسب شده از جامعه نیز شیوع یافته‌اند (۲). نوع آنتی‌بیوتیک انتخاب شونده برای درمان تجربی عفونت مجاری ادراری در حال حاضر مورد بحث است؛ چرا که هم اکنون ۵۰-۲۰ درصد از سویه‌های E. coli حتی در کشورهای توسعه یافته نیز به آنتی‌بیوتیک‌های خط اول درمان مقاوم شده‌اند (۳).

یکی از مکانیسم‌های اصلی به کار گرفته شده به وسیله باکتری‌های گرم منفی علیه آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز از طریق هیدرولیز هسته مرکزی آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد (۴). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های جدید در درمان عفونت‌های باکتریایی، منجر به بروز دسته جدیدی از این آنزیم‌ها به نام بتالاکتامازهای طیف گسترده (Extended-spectrum beta-lactamase یا ESBL) شده است (۵). از طرف دیگر، وقوع UTI ناشی از سویه‌های E. coli مولد ESBL به طور جهانی در حال افزایش است (۶). ژن‌های ESBL اغلب بر روی پلاسمیدهای قابل انتقال قرار دارند که بیشتر پلاسمیدهای حاوی این ژن‌ها، ژن‌های مقاوم به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها را نیز با خود حمل می‌کنند (۷).

بتالاکتامازهای رایج یافت شده در E. coli، متعلق به کلاس A (Ambler) و شامل TEM، SHV و CTX-M می‌باشند (۸). تا سال ۲۰۱۰، بیش از ۹۰ نوع CTX-M گزارش شد (۹). در دهه اخیر، ESBLهای نوع CTX-M شیوع بیشتری نسبت به انواع TEM و SHV در جهان پیدا کرده‌اند (۱۰). شیوع ESBL در میان جدایه‌های E. coli بیماران مبتلا UTI در بخش‌های مختلفی از ایران مورد مطالعه قرار گرفته است. به عنوان مثال، تحقیقی بر روی بیماران سرپایی و بستری در تهران نشان داد که ۳۸ درصد از نمونه‌ها دارای ESBL و ژن CTX-M بودند (۱۱). همچنین، نتایج پژوهش دیگری در استان مازندران، شیوع ژن CTX-M را در میان جدایه‌ها ۷۰ درصد گزارش کرد (۱۲). به نظر می‌رسد روندی افزایشی در شیوع ژن‌های ESBL در E. coli در طی سال‌های اخیر وجود داشته است. علاوه بر این، شیوع ژن CTX-M در میان سویه‌های E. coli جدا شده از عفونت ادراری بیماران سرپایی، نگرانی عمده‌ای برای درمان تجربی عفونت ادراری به شمار می‌رود. هدف از انجام این مطالعه، بررسی شیوع ژن‌های blaCTX-M1، blaCTX-M14 و blaCTX-M15 در جدایه‌های E. coli جدا شده از عفونت ادراری بیماران سرپایی بود.

روش بررسی

در مطالعه حاضر، نمونه‌های ادراری طی سال‌های ۹۲-۱۳۹۱ از آزمایشگاه مرکزی و کلینیک ویژه دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه جمع‌آوری شد. تمام نمونه‌ها در مرحله اول برای اهداف تشخیصی توسط آزمایشگاه در مراکز پزشکی مورد استفاده قرار گرفت و بخشی از هر نمونه ادرار نیز برای این مطالعه استفاده شد. عفونت ادراری به صورت وجود تعداد 10^5 یا بیشتر باکتری E. coli در هر میلی‌لیتر حجم ادرار در افراد مشکوک از نظر عفونت در نظر گرفته شد. باکتری E. coli از نمونه‌های ادراری بر اساس روش‌های استاندارد میکروب‌شناسی جدا و شناخته شد. سپس، جدایه‌های E. coli در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد و در محیط نگهدارنده (Tryptic Soy Broth یا TSB) (Merck,

Germany) حاوی گلیسرول (Merck, Germany) نگهداری گردید.

بررسی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش انتشار دیسک (Disk diffusion) طبق دستور CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) و با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی شرکت MAST (England Merseyside) شامل سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، جنتامیسین (۱۰ میکروگرم)، توبرامایسین (۱۰ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۲۵ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، آزترونام (۳۰ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم) و سیپروفلوکساسین (۳۰ میکروگرم) انجام شد (۱۳). آزمایش Disk diffusion طبق توصیه CLSI انجام و نتایج حاصل نیز با توجه به جداول استاندارد تفسیر شد (۱۳). در ضمن از سویه استاندارد E. coli ATCC 25922 به منظور کنترل کیفی استفاده گردید.

به عنوان غربالگری، جدایه‌هایی که قطر هاله عدم رشد آن‌ها حداقل برای یکی از آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون و آزترونام به ترتیب ۲۲، ۲۷، ۲۵ و ۲۷ میلی‌متر و یا کمتر بود، به عنوان تولید کننده بالقوه ESBL بالقوه در نظر گرفته شد (۱۱). برای تأیید تولید ESBL در ارگانیسم‌های کاندید، از تست فنوتیپی تأییدی (Phenotypic confirmatory tests) استفاده گردید. در این روش دیسک‌های ترکیبی شامل ۳۰ میکروگرم سفتازیدیم + ۱۰ میکروگرم اسید کلاولانیک و ۳۰ میکروگرم سفوتاکسیم +۱۰ میکروگرم اسید کلاولانیک MAST (Merseyside, England) مورد استفاده قرار گرفت. در صورتی که قطر هاله عدم رشد باکتری اطراف دیسک ترکیبی، حداقل ۵ میلی‌متر یا بیشتر از قطر هاله عدم رشد دیسک منفرد همان آنتی‌بیوتیک بود، به عنوان جدایه مولد ESBL قلمداد گردید (۱۴). از سویه استاندارد E. coli ATCC 35218 به منظور کنترل کیفی جدایه‌های مولد ESBL استفاده شد (۱۳).

جهت انجام واکنش PCR (Polymerase chain reaction)، ابتدا DNA جدایه‌ها به روش جوشاندن (Boiling) استخراج گردید و برای تعیین حضور ژن‌های بتالاکتامازی CTX-M1، 14 و 15، از پرایمر (شرکت سیناکلون، ایران) استفاده شد (جدول ۱) (۱۵، ۱۴).

جدول ۱. *پرایمرهای استفاده شده*

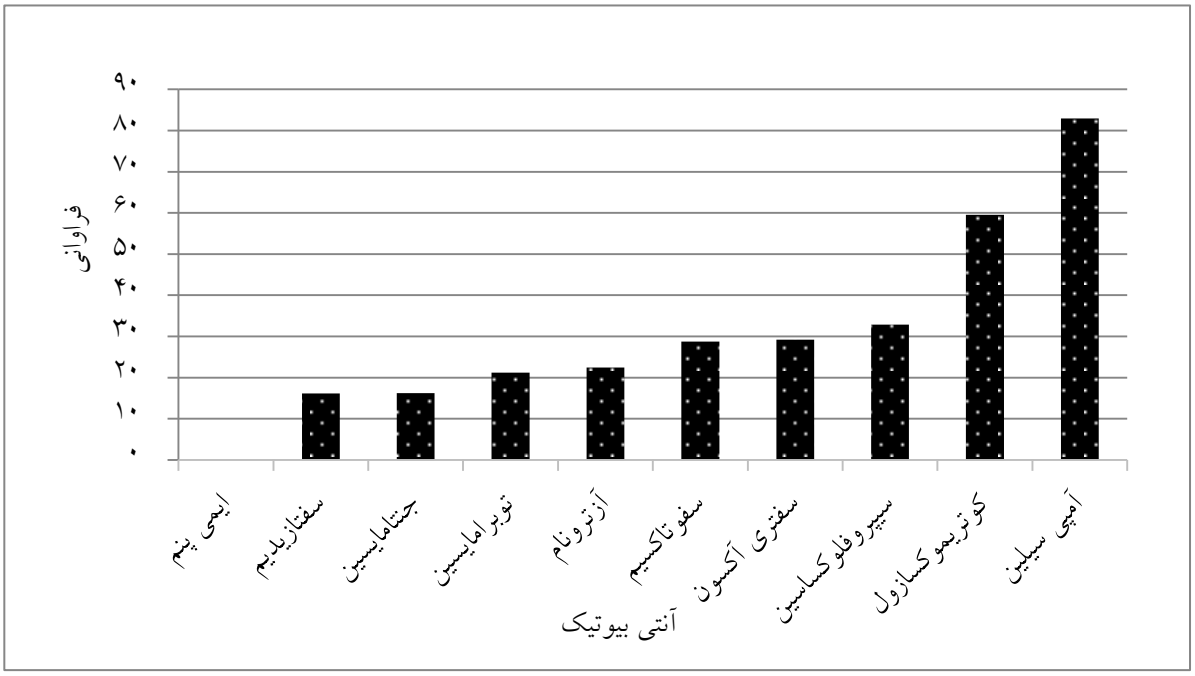
ژن	مشخصات پرایمر	توالی نوکلئوتیدی (5'-3')	طول قطعه محصول (جفت باز)
CTX-M1	blaCTX-M1	F:TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA R:CGATATCGTTGGTGGTGCCATA	۵۴۴
CTX-M14	blaCTX-M14	F:TACCGCAGATAATACGCAGGTG R:CAGCGTAGGTTCAGTGCGATCC	۳۵۵
CTX-M15	blaCTX-M15	F:CGTGGCGATGAATAAGCTG R:GGTGGTATTGCCTTTCATCC	۲۵۱

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر با ۳۰ سیکل انجام شد. ۲۵ میکرولیتر متشکل از ۱۲/۵ میکرولیتر Master mix 2X (شرکت سینا کلون)، ۲ میکرولیتر DNA الگو، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر و

۸/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل بود. محصولات PCR بعد از الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱ درصد، مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس محصول PCR توالی‌یابی (Applied Biosystem ABI3130, USA) شد و نتیجه آن در نرم‌افزار BLAST (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) آنالیز گردید. در پایان داده‌ها جمع‌آوری شد و با استفاده از شاخص‌های آماری در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

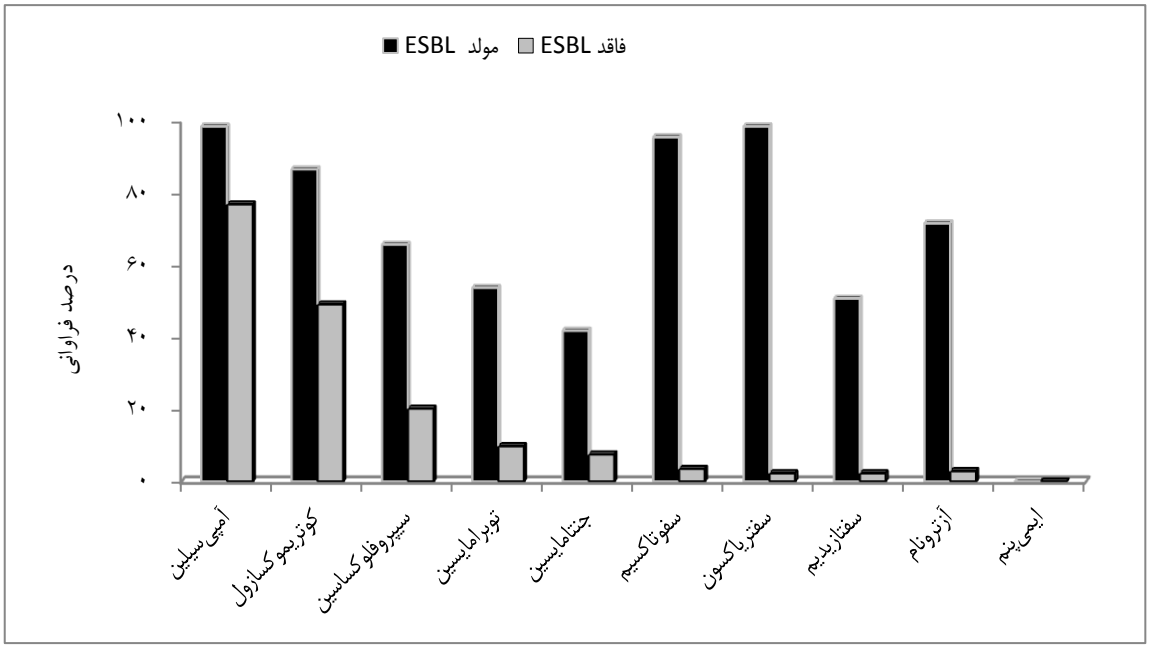
نتایج

از ۲۴۰ جدایه E. coli مورد بررسی، ۲۱۵ نمونه مربوط به بیماران زن (۸۹/۶ درصد) و ۲۵ نمونه مربوط به بیماران مرد (۱۰/۴ درصد) بود. بیماران در طیف سنی گسترده و دارای میانگین سنی ۳۷/۵ ± ۲۱/۴۶ سال بودند. در آزمون سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها، بیشترین و کمترین میزان مقاومت به ترتیب به آمپی‌سیلین (۸۲/۹ درصد) و ایمی‌پنم (۰ درصد) اختصاص داشت (شکل ۱).



شکل ۱. *مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های E. coli*

فراوانی جدایه‌های مقاوم به چند دارو بالا بود؛ به طوری که ۴۰ درصد از نمونه‌ها به سه یا بیشتر از سه گروه آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند (Multidrug resistance)؛ در حالی که ۹ درصد جدایه‌ها به همه آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش حساسیت نشان دادند (شکل ۲).



شکل ۲. *مقایسه مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان جدایه‌های E. coli مولد و فاقد ESBL (Extended-spectrum beta-lactamase)*

در میان نمونه‌ها، ۶۷ نمونه (۲۷/۹ درصد) تولید کننده ESBL بودند که ۵۷ نمونه از بیماران زن (۸۵/۱ درصد) و ۱۰ نمونه از بیماران مرد (۱۴/۹ درصد) جدا گردید. فراوانی جدایه‌ها بر حسب گروه‌های سنی مختلف در جدول ۲ و فراوانی زیرگروه‌های blaCTX-M در جدول ۳ ارایه شده است. تعیین توالی محصول PCR ژن‌های ESBL، توالی‌های مورد نظر برای هر کدام از ژن‌ها را تأیید نمود (شکل‌های ۳ و ۴).

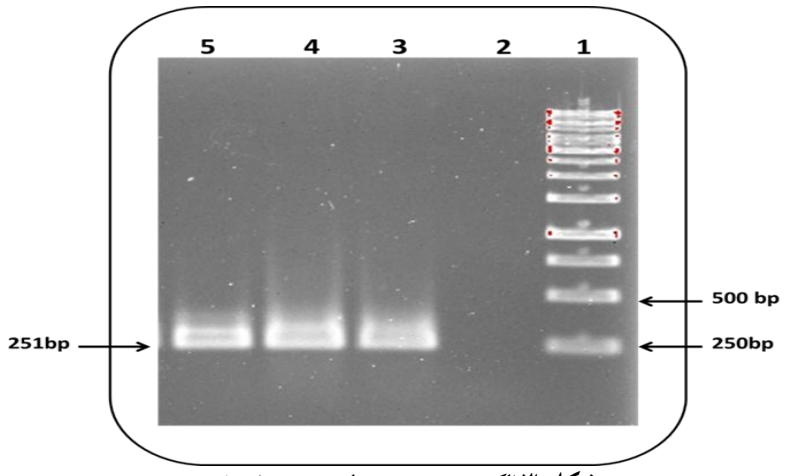
جدول ۲. *فراوانی جدایه‌های مولد Extended-spectrum beta-lactamase بر حسب گروه سنی بیماران*

گروه سنی (سال)	فراوانی بیماران (درصد)	فراوانی جدایه‌های مولد ESBL (درصد)	P
≤۱۰	۲۵ (۱۰/۴)	۵ (۲۰/۰)	
۱۱-۲۰	۲۶ (۱۰/۸)	۸ (۳۰/۸)	
۲۱-۳۰	۵۵ (۲۲/۹)	۶ (۱۰/۹)	
۳۱-۴۰	۳۱ (۱۲/۹)	۸ (۲۵/۸)	۰/۰۱
۴۱-۵۰	۳۴ (۱۴/۲)	۱۳ (۳۸/۲)	
>۵۰	۶۹ (۲۸/۸)	۲۷ (۳۹/۱)	
جمع	۲۴۰ (۱۰۰)	۶۷ (۱۰۰)	

ESBL: Extended-spectrum beta-lactamase

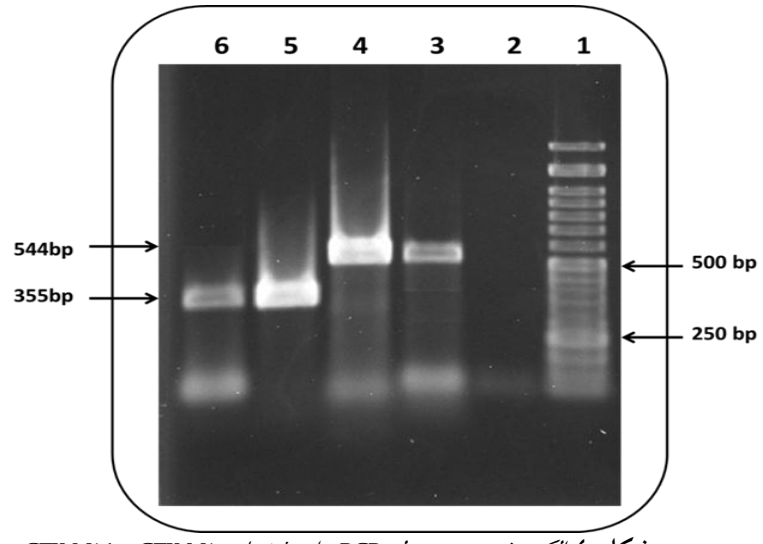
جدول ۳. فراوانی زیرگروه‌های blaCTX-M در ٦٧ جدایه E. coli مولد ESBL (Extended-spectrum beta-lactamase)

blaCTX-M genes	تعداد جدایه‌ها (درصد)
CTX-M1	۶۱ (۹۱/۰)
CTX-M14	۲۱ (۳۱/۳)
CTX-M15	۵۸ (۸۶/۶)
CTX-M1/CTX-M14	۲۱(۳۱/۳)
CTX-M1/CTX-M15	۵۸ (۸۶/۶)
CTX-M14/CTX-M15	۱۹ (۲۸/۴)



شکل ۳. الکتروفورز محصول PCR برای ژن CTX-M15

ستون ۱: نشانگر 250bp DNA ladder، ستون ۲: کنترل منفی، ستون ۳: کنترل مثبت ژن CTX-M15 و ستون‌های ۴ و ۵: نمونه‌های PCR مثبت ژن CTX-M15



شکل ٤. الکتروفورز محصول PCR برای ژن‌های CTX-M1 و CTX-M14

ستون ۱: نشانگر 50bp DNA ladder، ستون ۲: کنترل منفی، ستون ۳: کنترل مثبت ژن CTX-M1، ستون ۴: نمونه PCR مثبت ژن CTX-M1، ستون ۵: نمونه PCR مثبت ژن CTX-M14 و ستون ۶: کنترل مثبت ژن CTX-M14

بحث

بیشتر بیماران مبتلا به UTI مطالعه حاضر را زنان تشکیل می‌دادند و این نتیجه با منابع پزشکی که میزان کلی UTI را در جنس مؤنث بالاتر گزارش کـرد (۱)، مطابقـت دارد. جالب است که نتایج این مطالعه نشان داد، با افـزایش سـن بیماران، میزان شیوع جدایـه‌هـای مولـد ESBL بـه طـور معنی‌داری افزایش می‌یابد (P = ۰/۰۱). این پدیـده ممکـن است بیانگر این واقعیت باشد که با افزایش سـن بیمـاران، احتمال ابتلا به UTI با سویه‌های مولد ESBL بیشتر می‌شود. شاید علت آن، وجود عفونت‌های احتمالی قبلی و مصـرف آنتی‌بیوتیک بیشتر در طول زمان در بیماران مسن‌تر باشـد. علاوه بر این، ضعف سیستم ایمنی در افراد مسـن ممکـن است در افزایش کلونیزاسیون با سویه‌های مولد ESBL نقش داشته باشد.

به طور کلی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان جدایه‌ها و به خصوص جدایه‌های دارای مقاومت چند دارویی بـالا بـود. علاوه بر این، مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان جدایه‌های مولد ESBL بسیار بالاتر از جدایه‌های فاقد ESBL به ویـژه بـرای سفالوسپورین‌هـای نسـل سـوم بـود. مقاومـت در برابـر آنتـی‌بیوتیـک‌هـای غیـر بتالاکتـام (سیپروفلوکساسـین، جنتامایسین و توبرامایسین) نیز در میان جدایه‌هـای ESBL مثبت بالاتر از جدایه‌های ESBL منفی بود که نشان دهنـده انتقال ژن‌های مقاوم بـا هـم و بـه وسـیله پلاسـمید و یـا ترانسپوزون‌ها می‌باشد (۱۶). با توجه به کارایی و عـوارض جانبی کمتر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، افزایش مقاومت در برابر این گروه از آنتی‌بیوتیک‌ها، موجب نگرانی در درمان عفونت UTI بیماران سرپایی می‌شود.

نتایج پژوهش حاضر افزایش میزان جدایه‌هـای E. coli مولد ESBL را در مقایسه با نتایج مطالعات قبلـی در ایـران نشان می‌دهد. برای مثال، در مطالعـه‌ای بـر روی بیمـاران بستری، حدود ۲۶ درصد از جدایه‌های E. coli مولـد ESBL بودند (۱۷). مطالعه دیگری که چند سال بعد در ایران و بر روی نمونه‌های سرپایی و بستری انجام شد، نشان داد که ۲۷ درصد آن‌ها مولد ESBL می‌باشند (۷). در دو مطالعـه بیـان شده، هرچند از سویه‌های جدا شده از بیماران بستری استفاده شده بود که انتظار می‌رود بیشتر دارای ژن‌های ESBL باشند (۱۷، ۷)، اما از نتایج مطالعه حاضر که فقط روی جدایه‌های بیماران سرپایی انجام گرفته بود، پایین‌تر اسـت. از طـرف دیگر، بیشتر جدایه‌های E. coli مولد ESBL، دارای ژن CTX-M بودند. در مقایسه با نتایج مطالعات دیگر و از آن‌جا کـه اغلب مطالعات قبلی در ایران بر روی جدایه‌های بیمارستانی انجام شده است، میزان CTX-M در مطالعه حاضر بـه طـور قابل توجهی بالاتر بود.

مطالعه انجام شده در هند نشان داد که CTX-M رایج‌ترین نوع ESBL با ۸۵/۴ درصد می‌باشد (۱۸). نتایج تحقیقـی در ترکیه نیز گزارش کرد که در میـان جدایـه‌هـای E. coli بیمارستانی، ۲۲/۷ درصـد دارای ژن CTX-M بودنـد (۱۹). مطالعه انجام شده در لیبـی مشـخص نمـود کـه در میـان جدایه‌های E. coli، ۶/۷ درصد مولد ESBL بودند و از میـان آن‌ها، ۴۲/۸ درصد ژن CTX-M را داشتند (۲۰). برخـی از مطالعات نرخ بالاتری برای CTX-M گزارش کرده‌انـد. بـه طور مثال، مطالعـه‌ای در ایـران نشـان داد کـه از ۱۶۰ E. coli جدا شده از بیمارستان، ۳۷/۸ درصد از جدایه‌ها حـاوی CTX-M بودند (۱۱). مطالعه دیگری در مازندران بیان نمود که شیوع CTX-M در سـویه‌هـای E. coli مولـد ESBL، ۷۰ درصد می‌باشد (۱۲) که حاکی از افزایش شیوع ژن CTX-M است.

شیوع ژن CTX-M-15 از سال ۲۰۰۳ در بیماران سرپایی و بستری در سطح جهان و در قاره‌هـای مختلفـی از جملـه آسیا، آفریقا، استرالیا، آمریکای شمالی و آمریکای جنـوبی افزایش یافته است (۲۱). در کشورهای آسیایی مانند ترکیه، CTX-M-15 با ۶۴ درصد بالاترین میزان شـیوع را در میـان زیرگروه‌های CTX-M به خود اختصاص داد (۲۲) و نتـایج مطالعه‌ای در بوسنی و هرزگوین نشـان داد کـه در میـان

انتروباکتریاسه‌های جدا شده از بیماران سرپایی، ۴۸/۲ درصد مولد ESBL بودند و ۱۲ درصد آن‌ها ژن CTX-M15 داشتند (۲۳). در سوئد در میان جدایه‌های مولد ESBL، به ترتیب در ۵۴ و ۲۸ درصد موارد ژن‌های CTX-M-15 و CTX-M-14 یافت شد (۲۴). در کانادا فراوانی ژن‌های CTX-M-15 و CTX-M-14 به ترتیب ۳۶ و ۶۰ درصد محاسبه گردید (۲۵). در فیلادلفیای آمریکا، ژن CTX-M-15 ۸۰ درصد و ژن CTX-M-14 ۱۰ درصد برآورد شد (۲۶) و در تایوان، گزارش شیوع CTX-M-14 ۵۳ درصد بود (۹). به نظر می‌رسد انتشار کلونال سویه‌های حامل ژن بتالاکتاماز CTX-M الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک و از طرف دیگر، انتقال پلاسمیدها بین سویه‌های مختلف، نقش مهمی را در شیوع بالای منطقه‌ای ژن‌های بتالاکتاماز CTX-M در سویه‌های انتروباکتریاسه ایفا می‌کند. از سوی دیگر، قابلیت انتقال این ژن از مخازن حیوانی (ماکیان) به انسان‌ها به عنوان دیگر عوامل شیوع این ژن حایز اهمیت است (۲۷).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، مقاومت بالایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف به ویژه بتالاکتام‌ها و سفالوسپورین‌های نسل سوم در کرمانشاه وجود دارد. فراوانی بالای تولید ESBL و به خصوص گسترش ژن CTX-M در میان جدایه‌های E. coli، تهدیدی برای استفاده مؤثر از سفالوسپورین‌های طیف گسترده به شمار می‌رود. بنابراین، با توجه به شیوع بالای جدایه‌های تولید کننده ESBL در عفونت ادراری بیماران سرپایی، آنتی‌بیوتیک مناسب باید با توجه به نتایج سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی و بر اساس داده‌های اپیدمیولوژیک محلی انتخاب شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از تمام افرادی که در انجام این مطالعه همکاری نمودند، به خصوص کارکنان آزمایشگاه میکروب‌شناسی، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am J Med* 2002; 113(Suppl 1A): 5S-13S.
2. Wiener J, Quinn JP, Bradford PA, Goering RV, Nathan C, Bush K, et al. Multiple antibiotic-resistant Klebsiella and Escherichia coli in nursing homes. *JAMA* 1999; 281(6): 517-23.
3. Kerrn MB, Klemmensen T, Frimodt-Moller N, Espersen F. Susceptibility of Danish Escherichia coli strains isolated from urinary tract infections and bacteraemia, and distribution of SUL genes conferring sulphonamide resistance. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50(4): 513-6.
4. Li Q, Lee JY, Castillo R, Hixon MS, Pujol C, Doppalapudi VR, et al. NB2001, a novel antibacterial agent with broad-spectrum activity and enhanced potency against beta-lactamase-producing strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(5): 1262-8.
5. Tenover FC, Raney PM, Williams PP, Rasheed JK, Biddle JW, Oliver A, et al. Evaluation of the NCCLS extended-spectrum beta-lactamase confirmation methods for Escherichia coli with isolates collected during Project ICARE. *J Clin Microbiol* 2003; 41(7): 3142-6.
6. Bush K. Extended-spectrum beta-lactamases in North America, 1987-2006. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14(Suppl 1): 134-43.

7. Tashkori M, Farokhnia M, Zia Sheikhaleslami N, Mirzaei T, Yosefi H, Mokhtari F. Evaluation of producing extended spectrum ß -lactamase among isolated Escherchia coli from patients suffering from urinary tract infections: (Short Report). *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2011; 10(1): 62-8. [In Persian].

8. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39(6): 1211-33.

9. Lin CF, Hsu SK, Chen CH, Huang JR, Lo HH. Genotypic detection and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in a regional hospital in central Taiwan. *J Med Microbiol* 2010; 59(Pt 6): 665-71.

10. Sidjabat HE, Paterson DL, Adams-Haduch JM, Ewan L, Pasculle AW, Muto CA, et al. Molecular epidemiology of CTX-M-producing Escherichia coli isolates at a tertiary medical center in western Pennsylvania. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53(11): 4733-9.

11. Mirzaee M, Pourmand MR, Chitsaz M, Mansouri S. Antibiotic resistance to third generation cephalosporins due to ctx-m-type extended-spectrum ß-lactamases in clinical isolates of Escherichia coli. *Iran J Public Health* 2009; 38(1): 10-7.

12. Yazd M, Nazemi A, Mirinargesi M, Khataminejad M, Sharifi S, Babai Kochkaksaraei M. Prevalence of SHV/CTX-M/TEM (ESBL) Beta-lactamase resistance genes in Escherichia coli isolated from urinary tract infections in Tehran, Iran. *Med Lab J* 2010; 4(1): 48-54. [In Persian].

13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-second informational supplement [Online]. [cited 2012 Jan]; Available from: URL: http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/M100S22E.pdf

14. Edelstein M, Pimkin M, Palagin I, Edelstein I, Stratchounski L. Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in Russian hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47(12): 3724-32.

15. Chia JH, Chu C, Su LH, Chiu CH, Kuo AJ, Sun CF, et al. Development of a multiplex PCR and SHV melting-curve mutation detection system for detection of some SHV and CTX-M beta-lactamases of Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, and Enterobacter cloacae in Taiwan. *J Clin Microbiol* 2005; 43(9): 4486-91.

16. Jacoby GA, Sutton L. Properties of plasmids responsible for production of extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35(1): 164-9.

17. Mirsalehian A, Jabalameli F, Mirafshar SM, Bazarjani F, Gorjipor A, Goli HR. Determination of antimicrobial resistance patterns and extended spectrum ß lactamases in clinical isolates of E. coli. *Tehran Univ Med J* 2008; 66(6): 373-8. [In Persian].

18. Goyal A, Prasad KN, Prasad A, Gupta S, Ghoshal U, Ayyagari A. Extended spectrum beta-lactamases in Escherichia coli & Klebsiella pneumoniae &

associated risk factors. *Indian J Med Res* 2009; 129(6): 695-700.

19. Bali EB, Açýk L, Sultan N. Phenotypic and molecular characterization of SHV, TEM, CTX-M and extended-spectrum -lactamase produced by *Escherichia coli*, *Acinobacter baumannii* and *Klebsiella* isolates in a Turkish hospital. *African Journal of Microbiology Research* 2010; 4(8): 650-4.
20. Abujnah AA, Zorgani A, Sabri MA, El-Mohammady H, Khalek RA, Ghenghesh KS. Multidrug resistance and extended-spectrum beta-lactamases genes among Escherichia coli from patients with urinary tract infections in Northwestern Libya. *Libyan J Med* 2015; 10: 26412.
21. Peirano G, Pitout JD. Molecular epidemiology of Escherichia coli producing CTX-M beta-lactamases: the worldwide emergence of clone ST131 O25:H4. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 35(4): 316-21.
22. Severin JA, Mertaniasih NM, Kuntaman K, Lestari ES, Purwanta M, Lemmens-Den TN, et al. Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamases in clinical Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates from Surabaya, Indonesia. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(3): 465-9.
23. Ibrahimagic A, Bedenic B, Kamberovic F, Uzunovic S. High prevalence of CTX-M-15 and first report of CTX-M-3, CTX-M-22, CTX-M-28 and plasmid-mediated AmpC beta-lactamase producing Enterobacteriaceae causing urinary tract infections in Bosnia and Herzegovina in hospital and community settings. *J Infect Chemother* 2015; 21(5): 363-9.
24. Onnberg A, Molling P, Zimmermann J, Soderquist B. Molecular and phenotypic characterization of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae producing extended-spectrum beta-lactamases with focus on CTX-M in a low-endemic area in Sweden. *APMIS* 2011; 119(4-5): 287-95.
25. Pitout JD, Church DL, Gregson DB, Chow BL, McCracken M, Mulvey MR, et al. Molecular epidemiology of CTX-M-producing Escherichia coli in the Calgary Health Region: emergence of CTX-M-15-producing isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(4): 1281-6.
26. O'Keefe A, Hutton TA, Schifferli DM, Rankin SC. First detection of CTX-M and SHV extended-spectrum beta-lactamases in Escherichia coli urinary tract isolates from dogs and cats in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54(8): 3489-92.
27. Bertrand S, Weill FX, Cloeckaert A, Vrints M, Mairiaux E, Praud K, et al. Clonal emergence of extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-2)-producing Salmonella enterica serovar Virchow isolates with reduced susceptibilities to ciprofloxacin among poultry and humans in Belgium and France (2000 to 2003). *J Clin Microbiol* 2006; 44(8): 2897-903.

Prevalence of *blaCTX-M1*, *blaCTX-M14* and *blaCTX-M15* Genes among *Escherichia Coli* Isolated from Urinary Tract Infections in Outpatients, Kermanshah City, Iran

Alisha Akya, Ph.D.[1], Mehrdad Khodadoost, M.Sc.[2*]

1. Associate Professor, Department of Medical Microbiology, School of Medicine and Nosocomial Infection Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

2. Instructor, Department of Midwifery, Abadan Branch, Islamic Azad University, Abadan, Iran

* Corresponding author; e-mail: hodadoost.mehrdad@gmail.com

(Received: 30 May 2015 Accepted: 9 Sep. 2015)

Abstract

Background and Aims: The rate of urinary tract infection caused by the extended-spectrum-β-lactamase-(ESBL) producing *Escherichia coli* (*E. coli*) is increasing worldwide. This study aimed to assess the frequency of *blaCTX-M* genes in the *E. coli* isolated from urinary tract infection (UTI) in outpatients.

Methods: 240 *E. coli* bacteria were isolated from the outpatients' urine samples in the Kermanshah city, Iran. The susceptibility of isolates to 10 selected antibiotics was tested using the disc diffusion method. Then, the phenotype of the extended-spectrum-β-lactamase-producing isolates was determined using the combined disc method. Finally, *blaCTX-M1*, *blaCTX-M14* and *blaCTX-M15* genes were determined via polymerase chain reaction (PCR) method.

Results: Of 240 isolates, 199 isolates (82.9%) showed resistance to ampicillin, but 100% were sensitive to imipenem. 96 isolates (40.0%) were resistant to three or more antibiotic groups. Moreover, 67 isolates (27.9%) were extended-spectrum-β-lactamase producer and 61 (91.0%), 58 (86.6%) and 21 (31.3%) isolates contained *blaCTX-M1*, *blaCTX-M14* and *blaCTX-M15* genes, respectively.

Conclusion: Resistance to various β-lactam antibiotics, in particular the third generation of cephalosporins, among community-acquired *E. coli* isolates is a serious concern in Kermanshah city. Production of extended-spectrum β-lactamase, specially the dissemination of *blaCTX-M* genes among community-acquired *E. coli* isolates, is a big threat for using expected-spectrum cephalosporins. Given the presence of extended-spectrum-β-lactamase genes in the high proportion of the urinary tract infection isolates, suitable antibiotics should be chosen according to the antibiotic susceptibility tests.

Keywords: *blaCTX-M, Escherichia coli*, Urinary tract infection

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2016; 23(2): 145-155