مجلـه‌ی علمـی، پژوهشـی دانشـگاه علـوم پزشـکی زنجـان
دوره‌ی ۲۱، شماره‌ی ۸۵ خرداد و تیر ۱۳۹۲، صفحات ۵۵ تا ۶۳

فراوانی ایزوله‌های *اشریشیا کلی* مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف TEM در نمونه‌های بالینی با روش‌های فنوتیپی و مولکولی در زنجان

دکتر فخری حقی[۱]، دکتر حبیب ضیغمی[۱]، ناهید کرامتی[۲]، فاطمه همتی[۲]، فهیمه حاجی احمدی[۲]

نویسنده‌ی مسوول: زنجان، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، دانشکده‌ی پزشکی، گروه میکروب شناسی haghi@zums.ac.ir

دریافت: ۹۱/۸/۳۰ پذیرش: ۹۱/۱۱/۳

چکیده

زمینه و هدف: *تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف از جمله آنزیم TEM (Temoneria) یکی از دلایل بروز مقاومت دارویی در ایزوله‌های اشریشیا کلی می‌باشد. آنزیم TEM پلاسمیدی بوده و انتشار گسترده‌ای بین باکتری‌های روده‌ای دارد. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی ایزوله‌های اشریشیا کلی مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف TEM در نمونه‌های بالینی جدا شده از بیمارستان‌های شهر زنجان با دو روش فنوتیپی و PCR می‌باشد.*

روش بررسی: *در این مطالعه‌ی توصیفی مقطعی، ۲۰۰ ایزوله‌ی اشریشیا کلی از نمونه‌های زخم، خون، ترشحات، ادرار و مدفوع از بیمارستان‌های شهر زنجان طی سال‌های ۱۳۹۱-۱۳۹۰ جمع‌آوری گردید. پس از تایید ایزوله‌ها با تست‌های افتراقی، حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها با روش انتشار دیسک (Kirby-Bauer) طبق توصیه‌ی CLSI نسبت به ۱۲ آنتی‌بیوتیک تعیین گردید. برای بررسی وجود ESBLs در سویه‌های ایزوله شده، از روش دیسک ترکیبی (Combined Disk) استفاده شد و با استفاده از روش PCR ژن bla TEM شناسایی گردید.*

یافته‌ها: *در این مطالعه، ۷۷/۶ درصد ایزوله‌های اشریشیا کلی از نمونه‌های بالینی ادرار جداسازی شدند. در بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها، بیشترین میزان مقاومت در برابر آموکسی‌سیلین (۷۱/۳۵ درصد) مشاهده شد و تمامی سویه‌ها (۱۰۰ درصد) در برابر ایمی‌پنم حساس بودند. از ۲۰۰ سویه‌ی مورد بررسی، ۶۶ سویه (۳۳ درصد) مولد ESBLs بوده، از ۶۶ سویه مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف، ۳۱ سویه (۴۶/۹۶ درصد) حامل ژن blaTEM بودند.*

نتیجه گیری: *با توجه به اینکه در مطالعه‌ی حاضر حدود ۱۵ درصد ایزوله‌ها حامل ژن bla TEM بودند، احتمالا آنزیم‌های بتالاکتاماز دیگری نیز در ایجاد مقاومت دخیل هستند. از آنجایی‌که عوامل مقاومت برروی عناصر ژنتیکی متحرک قرار دارند، شناسایی سریع و ردیابی این سویه‌ها می‌تواند نقش مهمی در جلوگیری از گسترش آن‌ها داشته باشد.*

واژگان کلیدی: اشریشیا کلی، بتالاکتامازهای وسیع الطیف، bla TEM ، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

مقدمه

اشریشیا کلی یکی از شایع‌ترین باسیل‌های گرم منفی جدا شده از موارد بالینی و عامل بیش از ۸۰ درصد عفونت‌های دستگاه ادراری اکتسابی از جامعه و همچنین عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان می‌باشد. این باکتری یکی از عوامل مهم گاستروانترت در کشورهای توسعه یافته می‌باشد. این میکروارگانیسم، فلور نرمال غالب روده انسان است که چند روز پس از تولد در روده میزبان مستقر می‌شود؛ با این حال، کسب ژن‌های ویرولانس متحرک به شکل باکتریوفاژهای

۱- دکترای تخصصی باکتری‌شناسی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

Archive of SID

www.SID.ir

ادغام شونده در کروموزوم، پلاسمیدها و یا جزایر بیماریزایی، انواع متفاوتی از سویه‌های بیماری‌زای انسانی را ایجاد کرده است (۱). با کشف آنتی‌بیوتیک‌ها و گسترش استفاده از آن‌ها در درمان بیماری‌های عفونی، مقاومت‌های باکتریایی در برابر این مواد ضدمیکروبی نیز ایجاد شدند. مکانیسم‌های ایجاد مقاومت باکتریایی در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها متفاوت است، یکی از این مکانیسم‌ها تولید آنزیم‌های بتالاکتامازی است که از طریق هیدرولیز هسته‌ی مرکزی در آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام موجب غیر فعال شدن آن‌ها می‌گردد. پیدایش آنتی‌بیوتیک‌هایی از قبیل سفالوسپورین‌های وسیع الطیف، آزترئونام ها و رواج استفاده از آن‌ها منجر به بروز دسته جدیدی از بتالاکتامازها تحت عنوان بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) شده است (۴-۲). بتالاکتامازها به دو صورت مولکولی (Ambler) و عملکردی (Bush-Jacoby-Medeiros) طبقه‌بندی می‌شوند. بتالاکتامازهای وسیع الطیف به لحاظ مولکولی در کلاس A و به لحاظ عملکردی در گروه ۲be قرار دارند (۵). در واقع این آنزیم‌ها در نتیجه‌ی جهش‌های نقطه‌ای (Point Mutation) از آنزیم‌های اصلی فاقد فعالیت وسیع الطیف ایجاد شده‌اند (۶). این آنزیم‌ها معمولا بر روی پلاسمید قرار داشته و بیشتر در *کلبسیلا پنومونیه*، *اشریشیا کلی* و سایر باسیل‌های گرم منفی یافت می‌شود (۷). انواع مختلفی از این آنزیم‌ها وجود دارد که از آن جمله می‌توان به آنزیم‌های SHV، PER، CTX و TEM اشاره نمود. بتالاکتامازهای وسیع الطیف TEM از آنزیم‌های TEM-1 و TEM-2 مشتق شده‌اند. این آنزیم‌ها قادر به هیدرولیز آمپی‌سیلین، کاربنی سیلین، آگزاسیلین و سفالوتین بوده، توسط کلاولانیک اسید مهار می‌شوند. بیش از ۱۰۰ نوع آنزیم بتالاکتاماز TEM شناسایی شده است (۸). امروزه تعداد ارگانیسم‌های مولد آنزیم‌های TEM در حال افزایش بوده، این مساله به‌عنوان یکی از بحران‌های موجود در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها مطرح است (۹). مطالعه‌ی حاضر به‌منظور تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی بتالاکتاماز وسیع الطیف TEM در سویه‌های *اشریشیا کلی* جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان‌های زنجان با دو روش فنوتیپی و PCR انجام گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه‌ی توصیفی مقطعی، ۲۰۰ ایزوله *اشریشیا کلی* جدا شده از نمونه‌های بالینی شامل ادرار، مدفوع، خون، زخم وترشحات طی ۷ ماه از بیمارستان‌های امام حسین (ع)، ولیعصر، آیت‌اله موسوی و آزمایشگاه بوعلی شهر زنجان جمع‌آوری گردید. در آزمایشگاه کلیه‌ی ایزوله‌ها با انجام تست‌های افتراقی شامل کشت در محیط TSI، تولید اندول و حرکت در محیط SIM، واکنش در محیط VP و MR و عدم رشد در محیط سیمون سیترات مورد تایید قرار گرفتند. تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن (Kirby-Baur) انجام شد (۱۰). دیسک‌های آنتی بیوتیکی مورد استفاده محصول شرکت MAST انگلستان و به شرح زیر بودند: سفپیم (۵ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، آزترونام (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۳۰ میکروگرم)، آموکسی‌سیلین (۲۵ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، تتراسیکلین (۳۰ میکروگرم)، کوآموکسی کلاو (۳۰ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۲۵ میکروگرم). پس از انجام دیسک دیفیوژن، قطر هاله‌ی عدم رشد در اطراف هر دیسک اندازه‌گیری و نتایج آن با توجه به استانداردهای CLSI به صورت حساس، مقاوم و میانه (Intermediate) گزارش گردید.

تست فنوتیپی تأییدی (combined Disk Test): جهت بررسی فنوتیپی سویه‌های مولد ESBLs از روش دیسک ترکیبی (Combined Disk) استفاده شد. سویه‌های مقاوم به سفوتاکسیم و سفتازیدیم با استفاده از دیسک‌های سفوتاکسیم

Archive of SID

www.SID.ir

(۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم+ کلاولانیک اسید (۱۰ تا ۳۰ میکروگرم) و سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم+ کلاولانیک اسید (۱۰ تا ۳۰ میکروگرم) مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه‌ی، تولید ESBLs از طریق افزایش قطر هاله به اندازه ۵ میلی‌متر یا بیشتر در اطراف دیسک سفتازیدیم+ کلاولانیک اسید و یا سفوتاکسیم+ کلاولانیک اسید در مقایسه با دیسک سفتازیدیم یا سفوتاکسیم مشخص گردید (۱۱). از سویه‌ی استاندارد *E. coli* ATCC 25922 (تهیه شده از گروه باکتری شناسی دانشگاه تربیت مدرس)جهت کنترل روش‌های آنتی‌بیوگرام و دیسک ترکیبی استفاده شده است.

استخراج DNA و انجام PCR: برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) ابتدا DNA سویه‌های مثبت در تست فنوتیپی، با روش جوشاندن (Boiling) استخراج گردید (۱۲). سویه‌ی حامل ژن *bla* TEM به عنوان کنترل مثبت (تهیه شده از گروه باکتری‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس) استفاده شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده به صورت زیر می‌باشد (۱۳):

TEM / F: 5'-TCCGCTCATGAGACAATAACC-3'
TEM /R: 5'-TTGGTCTGACAGTTACCAATGC-3'

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر حاوی: ۲/۵ µl بافر 10x, ۱ µl dNTP ۱۰ میلی مولار، ۱ µl پرایمر ۱۰ پیکومول از هر کدام، ۱ µl آنزیم Taq DNA Polymerase (5U/ µl)، ۵ µl DNA الگو با غلظت ۵۰ Pmol/ µl و ۱۳/۵µl آب مقطر استریل در طی ۳۰ سیکل، تحت برنامه‌ی زمانی ترموسایکلر زیر انجام شد: مرحله‌ی دناتوراسیون اولیه‌ی DNA به‌مدت ۴ دقیقه در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، دناتوراسیون به مدت یک دقیقه در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، مرحله اتصال پرایمرها به مدت ۱ دقیقه در دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد، مرحله‌ی طویل شدن به مدت یک دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و مرحله طویل شدن نهایی به‌مدت ۸ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد پس از انجام PCR، ژل آگارز ۱ درصد جهت الکتروفورز محصول PCR مورد استفاده قرار گرفت و قطعه‌ی ژنی مورد نظر با اندازه ۹۳۱ bp با استفاده از مارکر 100bp Ladder Fermentase ارزیابی شد و فراوانی ژن *bla* TEM با آزمون آماری T-test مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

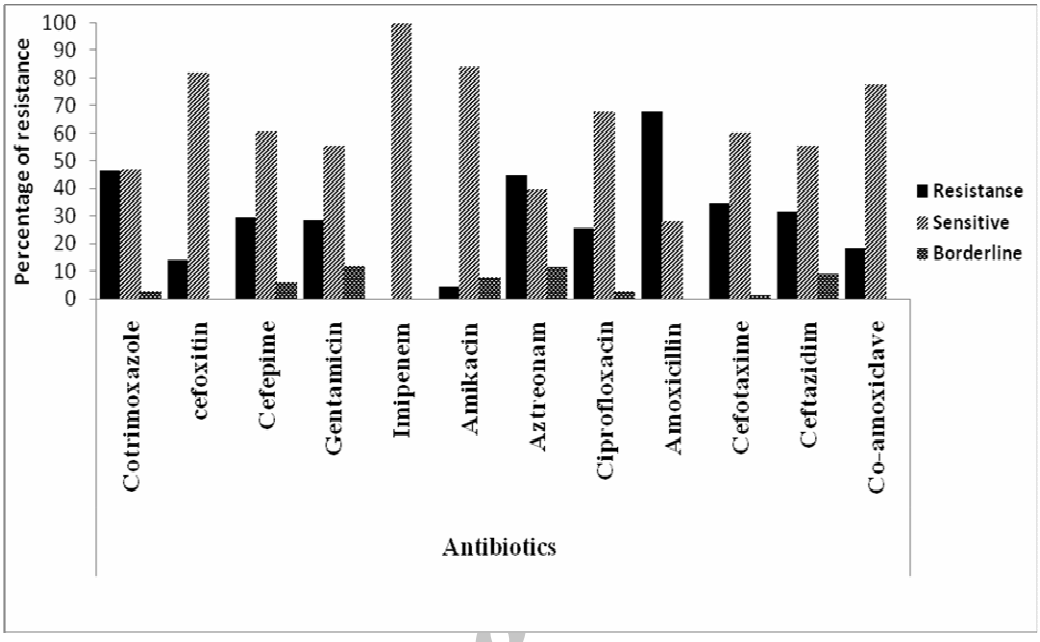
در مطالعه‌ی حاضر، ۲۰۰ نمونه‌ی بالینی شامل ۱۱۰ نمونه (۵۵ درصد) از بیماران سرپایی، ۳۱ نمونه (۱۵/۵ درصد) از بخش اورژانس، ۱۸ نمونه (۹ درصد) از بخش نوزادان، ۱۳ نمونه (۶/۵ درصد) از بخش مردان، ۱۴ نمونه (۷ درصد) از بخش عفونی، ۷ نمونه (۳/۵ درصد) از بخش ICU و ۷ نمونه (۳/۵ درصد) مربوط به بخش زنان بودند. از نمونه‌های بالینی مورد بررسی، ۱۴۷نمونه (۷۳/۵ درصد) مربوط به جنس مونث و ۵۳ نمونه (۲۶/۵ درصد) مربوط به جنس مذکر بودند. از ۲۰۰ ایزوله اشریشیا کلی جدا شده از نمونه‌های بالینی مورد بررسی، ۷۷/٦ درصد مربوط به نمونه‌های ادرار، ۱۷/۷ درصد نمونه‌های مدفوع و ٤/۷ درصد سایر نمونه‌ها بود. بررسی میزان مقاومت ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه نشان داد که بیشترین و کمترین میزان مقاومت به ترتیب مربوط به آموکسی‌سیلین ۱٤۳ (۷۱/۵ درصد) و ایمی‌پنم (۰ درصد) بود. میزان مقاومت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها به شرح ذیل بود:

کو آموکسی کلاو در ۳۹ ایزوله (۵/ ۱۹ درصد)، تتراسیکلین در ۹۳ ایزوله (٤٦/۵ درصد)، کوتریموکسازول در ۹۷ ایزوله (٤۸/۵ درصد)، سفوتاکسیم در ٦۸ ایزوله (۳٤ درصد)، سفتازیدیم در۳۰ ایزوله (۱۵ درصد)، آزترئونام در ۹٤ ایزوله (٤۷ درصد)، جنتامیسین در ۵۹ ایزوله (۲۹/۵ درصد)، سفپیم در ٦۲ ایزوله (۳۱ درصد)، سیپروفلوکساسین در ۵۳ ایزوله (۲٦/۵ درصد) و آمیکاسین در ۱۰ ایزوله (۵ درصد) (نمودار ۱). همچنین ۵۸ درصد ایزوله‌ها نسبت به سه یا تعداد

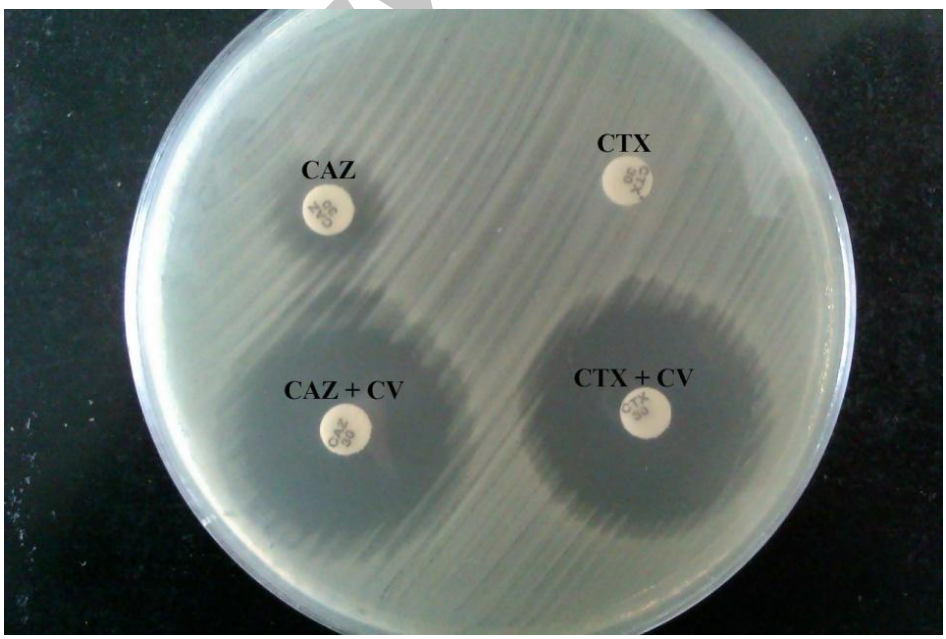
Archive of SID

www.SID.ir

بیشتری آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند و به‌عنوان ایزوله‌هایی با مقاومت دارویی چندگانه (Multi Drug Resistance) در نظر گرفته شدند. نتایج بررسی فنوتیپی به روش دیسک ترکیبی نشان داد که از ۲۰۰ ایزوله *اشریشیا کلی*، ۶۶ (۳۳ درصد) نمونه مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف بودند (شکل ۱).



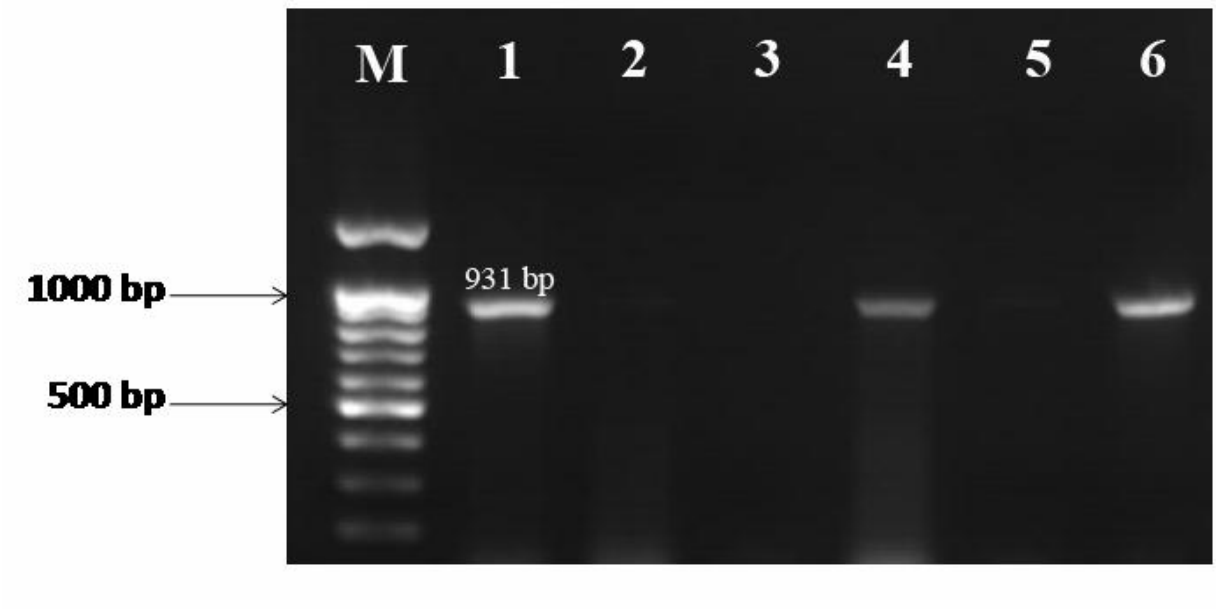
نمودار ۱: اطلاعات مربوط به درصد مقاومت دارویی ایزوله‌های اشریشیا کلی



شکل ۱: تست فنوتیپی تائیدی جهت شناسایی سویه‌های اشریشیا کلی مولد ESBL

www.SID.ir

در بین ۶۶ ایزوله‌ای که مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف بودند، ۸۰/۳ درصد مربوط به نمونه‌های ادرار، ۱۳/۷ درصد نمونه‌ی مدفوع، ۳ درصد ترشحات چشم و ۳ درصد نمونه زخم بودند. در بررسی PCR برای تشخیص ژن *bla* TEM مشخص شد که از ۶۶ ایزوله *اشریشیاکلی* مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف، ۳۱ (۴۶/۹۶ درصد) ایزوله حامل ژن مورد نظر بودند (شکل ۲). از ۳۱ سویه اشریشیاکلی حامل بتالاکتاماز TEM ۲۵ ایزوله (۸۰/۶۴ درصد) مربوط به نمونه‌های ادرار و ۶ ایزوله (۱۹/۳۶ درصد) مربوط به نمونه‌های مدفوع بودند. بنابراین در مطالعه‌ی حاضر، ۱۵ درصد سویه‌های اشریشیاکلی حامل ژن *bla* TEM بودند.



شکل ۲: الکتروفورز محصول PCR ژن bla TEM بر روی ژل آگارز ۱ درصد. M: مارکر وزن مولکولی (100 bp)، چاهک ۱: نمونه کنترل مثبت، چاهک ۲: کنترل منفی، چاهک‌های ۳ و ۵: نمونه‌های بالینی فاقد ژن bla TEM چاهک‌های ۴ و ۶: نمونه‌های بالینی واجد ژن bla TEM

بحث

تغییر رفتار میکروارگانیسم‌ها و ظهور سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک موجب شده که ریشه‌کنی بسیاری از این عوامل میکروبی با شکست مواجه گردد؛ به‌طوری که علی‌رغم اقداماتی که تاکنون در جهت تولید مواد ضد میکروبی وسیع‌الطیف انجام شده است، کماکان موضوع بروز و شیوع مقاومت‌های میکروبی به‌خصوص مقاومت باکتری‌های گرم منفی یکی از موانع اساسی بر سر راه درمان بیماری‌های عفونی محسوب می‌شود. مطالعه ما نشان داد که از میان ۲۰۰ ایزوله اشریشیا کلی، ۶۶ (۳۳ درصد) نمونه‌ی مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف بوده، از ۶۶ نمونه مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف، ۳۱ (۴۶/۹۶ درصد) ایزوله حامل ژن *bla* TEM بودند. Meyer و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند تعداد باسیل‌های مولد ESBLs در ICU های کشور آلمان از ۱۴ درصد در سال ۲۰۰۱ به ۵۲/۱ درصد در سال ۲۰۰۸ رسیده است (۱۴). در مطالعه‌ی مشابه انجام شده توسط شاهچراغی و همکاران برروی ۲۰۰ سویه *اشریشیا کلی*، ۵۲/۵ درصد سویه‌ها مولد ESBL بوده که از این میان ۲۴ درصد سویه‌ها

Archive of SID

www.SID.ir

حامـل ژن TEM بودنـد (۱۵). سـلطان دلال و همکـاران در مطالعه‌ای که در سال ۸۹ بـر روی ۲۰۰ ایزولـه *اشریـشیا کلـی* انجام دادند، ۱۲۸ (۶۴ درصد) سویه‌ی مولد ESBL شناسـایی کردند که از میان این سویه‌ها ۷۴ (۵۷/۸ درصد) سـویه حامـل ژن TEM *bla* بـود (۱۶). زمـان زاد وهمکـاران، فراوانـی ژن TEM-1 در سـویه‌هـای *اشریـشیاکلی*، کلبـسیلا پنومونیـه وانتروباکتر مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیـف ایزولـه شـده از نمونه‌های کلینیکی شـهرکرد را بررسـی کردنـد، در مطالعـه‌ی آن‌ها ۴۸/۷ درصد ایزوله‌های اشریشیا کلی حامل ژن TEM-1 بودند که با نتایج به‌دست آمده از مطالعه‌ی ما همخوانی داشت (۱۷). در مطالعه‌ی انجام شده توسط برادفورد، نشان داده شـد که بیـشترین فراوانـی آنـزیم‌هـای ESBL در ایـالات متحـده مربوط به خانواده‌ی TEM بتالاکتاماز می‌باشد (۷). شـیوع ژن *TEM-1* در مطالعـه‌ای کـه در ترکیـه و بـر روی نمونـه‌هـای باکتری‌های روده‌ای بـه‌دسـت آمـده از بیمارسـتان انجـام شـد ۵۲/۷ درصـد بـرآورد گردیـد. در بررسـی مـشابهی در ایتالیـا ۵۶/۴ درصد گزارش شده است. در حالی که در تایوان نگـران کننده بوده و به ۸۱ درصد در سویه‌های اشریشیاکلی، کلبـسیلا پنومونیه و انتروباکتر رسیده بود (۱۸). در مطالعه‌ی دیگری که در سال ۲۰۰۹، توسط Hui JIN و همکـاران در چـین انجـام شد، میزان سویه‌های TEM مثبت در بین ایزولـه‌هـای مقـاوم اسینتوباکتر بومانی ۸۱/۵ درصد گزارش شد که در مقایـسه بـا مطالعه‌ی مـا بـسیار بـالاتر اسـت (۲۰، ۱۹). در مطالعـاتی کـه برروی انتروباکتریاسه توسط ماتار، تاشی، جین انجام شده بود میزان فراوانی ژن TEM بـه‌ترتیـب ۶۱، ۵۲/۷ و ۴۸/۴ درصـد بیان شد (۲۳-۲۱). افزایش مصرف بی‌رویه داروهای بتالاکتـام وسیع الطیف و بـستری شـدن طـولانی مـدت بیمـاران سـبب انتشار باکتری‌هـای مولـد ESBLs مـی‌گـردد. بیمـاران دچـار عفونت‌های ناشی از سویه‌های مولد ESBLs، علاوه بـر عـدم درمان بـا آنتـی‌بیوتیـک‌هـای وسـیع الطیـف، اغلـب بـه سـایر آنتی‌بیوتیک‌ها نیز مقاومت نـشان مـی‌دهنـد (۲۴). بنـابراین بـا توجه به‌فراوانی ۴۶/۹۶ درصدی سویه‌های اشریـشیاکلی مولـد ESBL در این مطالعه، شناسایی انواع گونه‌ها و زیر گونه‌های آنـــزیم‌هـــای بتالاکتامـــازی وســـیع الطیـــف در شناســـایی آنتـی‌بیوتیـک‌هـای مـوثر در درمـان عفونـت و جلـوگیری از گسترش مقاومت‌ها مفید و ثمربخش خواهد بود.

نتیجه‌گیری

تولید ESBLs به عنـوان یـک تهدیـد بـزرگ در مـصرف پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌های وسیع الطیف به‌شمار می‌رود، بنـابراین در درمـان ارگانیـسم‌هـای مولـد ESBLs بایـد آنتی‌بیوتیک مناسب به دقت انتخاب شـود. پیـشنهاد مـی‌گـردد به‌منظور جلوگیری از گسترش این سویه‌هـا، شناسـایی روتـین این نوع مقاومت‌ها در آزمایشگاه‌های میکـروب‌شناسـی مـورد توجه قرار گیرد.

Archive of SID

References

1- Jalalpour SH. Survey frequency of extended-spectrum betalactamases in (ESBL) *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* strains isolated from urinary tract infectionin Iran. *African J Microbiol Res*. 2011; 5: 3711-3715.

2- Peirano G, Asensi MD, Pitondo.Silva A. Molecular characteristics of extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* from Rio de Janeiro, Brazil. *Clin Microbiol Infect*. 2011; 17: 1039-43.

3- Oteo J, Cercenado E, Fernández-Romero S. Extended spectrum β lactamase-producing *Escherichia coli* as a cause of pediatric infections:

www.SID.ir

report of a neonatal intensive care unit outbreak due to a CTX-M-14 producing strain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011; 56: 54-8.

4- Kalantar D, Mansouri S. Emergence of multiple β-lactamases produced by *Escherichia coli* clinical isolates from hospitalized patient in Kerman, Iran. *Jundishapur J Microbiol*. 2010; 3: 137-45.

5- Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended spectrum β-lactamase-producing Organisms. *J Hospital Infection*. 2009; 73: 345-54.

6- Raveh D, Yinnon AM, Broide E, Rudensky B. Susceptibilities of ESBL-producing enterobacteriaceae to ertapenem, meropenem, and piperacillin-tozobactam with and without clavulanic acid. *Chemotherapy J*. 2007; 53: 185-9.

7- Baradford PA. Extended spectrum β-lactamase in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev J*. 2001; 14: 935-51.

8- Cantón R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F. Prevalence and spread of extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2008; 14: 144-53.

9- Paterson DL, Bonomo RA. Extended spectrum beta-lactamase: a clinical update. *Clin Microbiol Rev J*. 2005; 18: 657-86.

10- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 15th informational supplement (M100-s15). Wayne, PA. 2005; 25.

11- Aibinu I, Nwanneka T, Odugbemi T. Occurrence of ESBL and MBL in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* From Lagos, Nigeria. *J Am Sci*. 2007; 3: 81-85.

12- Mndelson G, Hait V, Ben-Israel J, Gronich D, Granot E, Raz R. Prevalence and risk factors of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in an Israeli long-term care facility. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2005; 24: 17-22.

13- Kiratisin P, Apisarnthanarak A, Laesripa C, Saifon P. Molecular characterization and epidemiology of extended-spectrum-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* isolates causing health care-associated infection in Thailand, where the CTX-M family is endemic. *Antimicrob Agents Chemother* .2008; 52: 2818-24.

14- Meyer E, Gastmeier P, Schwab F. The burden of multiresistant bacteria in German intensive care units. *J Antimicrob Chemother*. 2008; 62: 1474-76.

15- Shahcheraghi F, Nasiri S, Noveiri H. The survey of genes encoding beta-lactamases, in *Escherichia coli* resistant to beta- lactam and non-beta-lactam antibiotics. *Iranian J Basic Med Sci*. 2010; 13: 230-7.

16- Soltan-Dallal MM, Molla-Aghamirzaei H, Sabbaghi A, Eshraghian MR. Molecular detection of TEM and AmpC (Dha, mox) broad spectrum ß-lactamase in clinical isolates of *Escherichia coli*.

Archive of SID

www.SID.ir

Tehran Uni Med J. 2010; 68: 315-320.
17- Zamanzad B, Daiham B, Nafisi M, Karimi A, Farokhi E. Study of ferquency TEM-1 gene in *E.coli*, *Klebsiella pneumonia* and *Entrobacter* strains producing extended spectrum beta-lactamases in clinical sample shahrkord hospital with PCR. *Sci J Hamedan Uni Med Sci*. 2007; 14: 19-25.
18- Ma L, Chang FY, Fung CP, et al. Variety of TEM-, SHV-, and CTX-M-type beta-lactamases present in recent clinical isolates of Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, and Enterobacter cloacae from Taiwan. *Microb Drug Resist*. 2005; 11: 31-9.
19- Hui JIN, Xiao-min XU, Zu-huang MI, MOU Y, LIU P. Drug-resistant gene based genotyping for *Acinetobacter baumannii* in tracing epidemiological events and for clinical treatment within nosocomial settings. *Chinese Med J*. 2009; 122: 301-306.
20- Hujer K, Hujer A, Hulten E, *et al*. Analysis of antibiotic resistance genes in multidrug-resistant *Acinetobacter* sp isolates from military and civilian patients treated at the Walter Reed Army medical center. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50: 4114-23.
21- Matar GM, Al Khodor S, El-Zaatari M, Uwaydah M. Prevalence of the genes encoding extended-spectrum beta-lactamases, in *Escherichia coli* resistant to beta-lactam and non-beta- lactam antibiotics. *Ann Trop Med Parasitol*. 2005; 99: 413-7.
22- Tashi H, Bahar IH. Molecular characterization of TEM and SHV-derived extended spectrum beta-lactamases in hospital based Enterobacteriaceae in Turkey. *Jpn J Infect Dis*. 2005; 58: 162-167.
23- Jain A, Monal R. TEM & SHV genes in extended spectrum β-lactamase producing *Klebsiella* species & their antimicrobial resistance pattern. *Indian J Med Res*. 2008; 128: 759- 764.
24- Jain A, Mondalm A. Prevalence & antimicrobial resistance pattern of extended spectrum β- lactamase producing *Klebsiella spp.* isolated from cases of neonatal septicemia. *Indian J Med Res*. 2007; 125: 89-94.

Archive of SID

www.SID.ir

Frequency of TEM Extended Spectrum Beta Lactamase Producing *Escherichia coli* in Clinical Specimens by Phenotypic and Molecular Methods in Zanjan

Haghi F[1], Zeighami H[1], Keramati N[1], Hemmati F[1], Hajiahmadi F[1]

[1]Dept. of Microbiology, School of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

Corresponding Author: Haghi F, Dept. of Microbiology, School of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

Email: haghi@zums.ac.ir

Received: 20 Nov 2012 **Accepted:** 22 Jan 2013

Background and objective: Extended Spectrum Beta lactamases (ESBL) such as TEM (Temoneria) is one of the bases of antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates. The aim of this study was evaluation of TEM Extended Spectrum Beta lactamase producing *E. coli*, in clinical samples isolated from Zanjan hospitals, by phenotypic and PCR methods.

Materials and Methods: In this cross-sectional study 200 *E.coli* isolates were collected from the clinical specimens such as wound, blood, secretion, urine, and stool from Zanjan hospitals from 2011 to 2012. After identification of isolates by biochemical tests, the antibiotic susceptibility test (Kirby-Bauer method) was done according to CLSI advice against 13 antibiotics. The Combined Disk method was thencarried out for detection of ESBLs and the*bla* TEM gene was determined by a PCR method.

Results: In this study, 77.6 % of *E. coli* isolates were collected from urine samples. The majority of the samples (71.35%) were resistant to Amoxicillin. By contrast, Imipenem was an effective antibiotic (100% susceptibility) against all isolates. From the total of 200 isolates, the extended spectrum beta-lactamase was detected in 66 (33%) of the strains,only about half of whichwere positive for the*bla* TEM gene.

Conclusion: As only about 15% of the isolates were positive forthe*bla* TEM gene,it is likely that other beta-lactamase enzymes cause the antibiotic resistance. Because resistance agents exist on mobile genetic elements, a rapid detection of these strains couldhelpto prevent their distribution.

Keywords: Escherichia coli, Extended expectrum Beta-lactamase, bla TEM, PCR

Archive of SID

www.SID.ir