تحقیقی

دارای رتبه علمی-پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

مقاومت آنتی بیوتیکی به سفتازیدیم و سفتریاکسون و ردیابی ژن TEM در سویه های اشریشیا کلی

سمیه جهانی
کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری ، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

شهرام شهرکی
استادیار میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، ایران

وجیهه کرباسی زاده
استادیار میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران

نویسنده مسئول: سمیه جهانی

پست‌الکترونیک: s_jahani66@yahoo.com

تلفن:۰۵۴۱-۳۲۲۹۷۹۲

آدرس: مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری ، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان،، ایران

دریافت:۹۲/۳/٦
ویرایش پایانی:۹۲/۳/۱۹
پذیرش:۹۲/۳/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: *در گذشته بیشتر جدایه های اشریشیا کلی نسبت به طیف وسیعی از عوامل ضد میکروبی حساس بودند. با مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها این وضعیت تغییر کرده است. سفتریاکسون و سفتازیدیم بیشترین آنتی بیوتیک های مورد استفاده در درمان عفونت های ناشی از انتروباکتریاسه در بیمارستان ها هستند. هدف از این مطالعه تعیین مقاومت ضد میکروبی سویه‌های اشریشیا کلی جدا شده از بیماران بود.*

روش بررسی: *طی یک دوره ۱۲ ماهه ۲۰۰ نمونه بالینی گرفته شده از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان های زاهدان جهت جداسازی اشریشیا کلی مورد بررسی قرار گرفتند. حساسیت آنتی بیوتیکی سویه ها با روش انتشاردیسک و میکرو براث دایلوشن بررسی شد. ژن مقاومت bla_{TEM} به روش PCR ردیابی شد.*

یافته ها: *از ۲۰۰ جدایه بالینی در آزمایش فنوتایپی تاییدی ۱۱۲ جدایه (۵۶٪) مولد، Extended Spectrum Beta Lactamass(ESBLs) بودند. ۱۳۰ جدایه که به طور بالقوه تولید کننده بتالاکتاماز های وسیع الطیف بودند. جهت حضور ژن TEM با روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند. ۷۲ جدایه (۵۵/۳۸٪) واجد ژن TEM بودند.*

نتیجه گیری: *میزان بالای مقاومت آنتی بیوتیکی در بین جدایه های اشریشیا کلی منطقه به آنتی بیوتیک های سفتریاکسون و سفتازیدیم مشاهده شد. توصیه می شود انجام آنتی بیوگرام قبل از درمان مد نظر باشد.*

واژه های کلیدی: *بتالاکتاماز وسیع الطیف، اشرشیا کلی، انتشاردیسک ،میکرو براث دایلوشن*

آدرس مقاله
جهانی ج، شهرکی ش، کرباسی زاده " مقاومت آنتی بیوتیکی به سفتازیدیم و سفتریاکسون و ردیابی ژن TEM در سویه های *اشریشیا کلی*" مجله علوم آزمایشگاهی، ویژه نامه مقاومت دارویی در میکرو ارگانیسم ها، دوره هشتم(شماره ۴):۲۰-۲۶

مقدمه

استفاده روز افزون آنتی بیوتیک ها و گرایش افراد به مصرف خود سرانه آنها، موجب سازگار شدن ارگانیسم های بیماری زا با آنتی بیوتیک ها، به کارگیری مکانیسم های دفاعی در جهت حفظ حیات و بالاخره پیدایش مقاومت های باکتریایی گردید. رفته رفته مقاومت های باکتریایی در برابر آنتی بیوتیک ها تا حدی افزایش پیدا کرد که اینک به عنوان یکی از چالش ها و نگرانی های میکروب شناسان مورد توجه قرار گرفته است(۱). مکانیسم های مقاومت باکتریایی پیچیده و متنوع بوده و برای آنتی بیوتیک های مختلف متفاوت است. برخی از این مقاومت ها در کروموزوم و برخی دیگر توسط DNAی خارج کروموزومی نظیر پلاسمید ایجاد می شوند. در صورتیکه فاکتورهای انتقالTransfer-factors وجود داشته باشند این مکانیسم ها می توانند از یک باکتری به سویه دیگر و شاید هم از یک گونه به گونه دیگر انتقال پیداکنند. یکی از این ها تولید آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف Extended Spectrum Beta Lactamass (ESBLs) در باکتری هاست(۱). بتالاکتامازهای وسیع الطیف گروهی از آنزیم‌هایی هستند که توانایی هیدرولیز بتالاکتام‌های Oxyimino را دارند. اکثراً در اعضای انتروباکتریاسه از جمله *Ecoli* پیدا شده است. ESBL نه تنها به پنی سیلین، آزترئونام و سفالوسپورین مقاوم است بلکه به دیگر آنتی بیوتیک‌ها شامل آمینوگلیوزیدها، تری متوپریم (Trimetho prim) سولفامتوکسازول، کینولون ها نیز مقاوم است(۲). آنزیم های بتالاکتامازی به چهار کلاس اصلی تقسیم می شوند کلاس A، B، C، D که بتالاکتامازهای وسیع الطیف(ESBLs) در گروه A قرار دارند که قادرند پنی سیلین، سفالوسپورین ها و آزترئونام را هیدرولیز می‌کنند (۳). شیوع سویه های تولید کننده ی ESBL در میان جدایه های بالینی طی سال های گذشته به طرز ثابتی افزایش داشته است که منجر به محدودیت انتخاب های درمانی گردیده است. در این بین میکروارگانیسم های مسبب عفونت های ادراری به خصوص *E. coli* قابلیت تولید ESBL در مقیاس زیاد را دارند(۴). تیپ TEM بتالاکتامازها مشتقاتی از TEM-1و TEM-2 هستند. TEM-1اولین بار در سال۱۹۶۵ از باکتری*E.coli*، از بیماری به نام Temoneriaجدا شد به همین جهت TEM نامگذاری گردید. وابستگی TEM به پلاسمید و ترانسپوزون باعث انتقال آن به باکتریهای دیگر شده است.TEM-1 قادر به هیدرولیز کردن آمپی سیلین به مقدار بیشتری از کربنی سیلین و اگزاسیلین یا سفالوتین بوده و توسط کلاوولانیک اسید مهار می شود1-TEM ،TEM-2،TEM-13 از نظر خاصیت هیدرولیتیکی مشابه بوده. تعداد کمی از مشتقات TEM بتالاکتاماز حساسیت کمتری نسبت به مهار کننده های بتالاکتامازی دارند و فعالیت هیدرولیتیکی کمی بر علیه سفالوسپورین های طیف وسیع داشته که این مشتقات را ESBLs در نظر نمی گیرند. همچنین، تعدادی از موتانت های TEM بتالاکتاماز یافت شده اند که توانایی هیدرولیز نسل سوم سفالوسپورین را دارند. اما مقاوم به مهار کننده های بتالاکتاماز هستند و به صورت Inhibitor Resistant TEM(IRT) مشخص می شوند(۵). از آنجایی که معیارهای تفسیر مرکز استاندارد آزمایشگاه های کلینیکال(CLSI) Clinical and Laboratory Standard Institue آستانه ی مقاومت *انتروباکتریاسه* دربرابر سفالوسپورین های نسل سوم درحال تغییر است. توصیه می شود به جای منفی یا مثبت گزارش کردن مقاومت توسط دیسک های آنتی بیوتیکی، نتایج مقاومت به سفالوسپورین ها بر اساس میزان حداقل غلظت مهاری (MIC)، بدون توجه به توانایی تولید کننده یESBL گزارش گردد(۶). هدف از این مطالعه بررسی الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی و فراوانی *اشریشیاکلی* تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف و تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی رشد و ردیابی ژن TEM بود.

روش بررسی

در این مطالعه تعداد ۲۰۰ سویه باکتری *اشریشیاکلی* از نمونه های مختلف کلینیکی زخم، خون، ترشحات، ادرار از سه بیمارستان شهر زاهدان (امام علی، بوعلی و نبی اکرم) جمع آوری شدند و با تست های بیوشیمیایی تأیید شدند. حساسیت آنتی بیوتیکی سویه ها با روش انتشار دیسک (Kirby- Bauer) طبق توصیه CLSI، نسبت به ۷ آنتی بیوتیک سفتریاکسون ۳۰ میکروگرم(CRO)، سفتازیدیم ۳۰

میکروگرم (CAZ)، سفوتاکسیم ۳۰ میکروگرم(CTX)، جنتامایسین ۱۰ میکرو گرم (GM)، سفپیم ۵۰ میکروگرم(CPM)، سیپروفلوکسازین ۵ میکرو گرم(CIP)، پیپراسیلین ۱۰۰ میکرو گرم (PIP) و ایمی پنم ۱۰ میکرو گرم(IMP) تعیین گردید. دیسک های آنتی بیوتیکی از شرکت mast خریداری شد. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه ها باتست انتشار دیسک به روش کربی- بویر بر اساس روش کار (CLSI) انجام شد(۷). جدایه هایی که دارای کاهش حساسیت به سفتازیدیم و سفتریاکسون بودند را توسط تست تاییدی تولید ESBL به روش دیسک ترکیبی (Combination Disk) بررسی گردید. برای این کار از دیسک های سفتازیدیم (30µg) و سفتازیدیم (30µg) در ترکیب باکلاولانیک اسید(10µg)، /سفتریاکسون(30µg) و سفتریاکسون(30µg) کلاولانیک اسید (10µg) استفاده شد. اگر اختلاف قطر هاله ممانعت از رشد دیسک ترکیبی معادل A≥5mm در مقایسه با قطر هاله ممانعت از رشد دیسک به تنهایی باشد ESBL مثبت در نظر گرفته شد. از سویه E.coli ATCC 25922 به عنوان کنترل مثبت و از سویه *Klebsiella* 22Pneumoniae ATCC 700603 بـه عـنوان کـنترل منـفی استفاده گردید(۸). بعد انکوباسیون به مدت ۱۶-۱۸ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد، سویه های مولد بتالاکتاماز های وسیع الطیف از طریق افزایش قطر هاله عدم رشد به اندازه بیشتر یا مساوی ۵ میلی متر نسبت به سفتازیدیم و سفتریاکسون در ترکیب هر کدام از آنها با کلاولانیک اسید نشان دهنده سویه مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف بود. تعیین حداقل روش غلظت مهارکنندگی(Minimum Inhibitory cnentratio(MIC نیز به صورت رقیق سازی آگار نسبت به سفتازیدیم و سفتریاکسون انجام شد. بعد از انجام روش انتشار دیسک و MICو مشخص شدن نمونه های مقاوم وتولید کنندهESBL نمونه هایی که در تست فنوتیپی اولیه مقاوم بودند برای استخراج DNA انتخاب شدند. برای استخراج DNA جدایه ها از روش جوشاندن استفاده شد (۶). جهت تایید جداسازی DNA، نمونه در ژل آگارز۱/۵ درصد الکتروفورز شد. برای تعیین میزان کمیDNA از دستگاه UV اسپکتروفتومتر استفاده شد. آزمون PCR برای شناسایی ژن بتالاکتامازی (bla_{TEM}) با اندازهbp ۸۴۸ انجام شد(جدول۱). توالی پرایمر های مورد استفاده به شرح ذیل بود:

5' GAGTATTCAACATTTCCGTGTC3'
5' TAATCAGTGAGGCACCTATCTC3'

جدول۱-شرایط مورد استفاده در PCR

زمان	درجه حرارت	مراحل آزمایش
5min	94	First denaturation
30s	94	Denaturation
30s	60	Anneling
50s	72	Extention
5min	72	Final extention
	30	Cycle number

یافته ها

از ۲۰۰ سویه *اشریشیاکلی* جدا شده از نمونه های بالینی تحت بررسی، ۱۶۸ نمونه مربوط به نمونه های ادرار،۱۷ نمونه مربوط به زخم، ۱۱ نمونه مربوط به خون، ۲ نمونه مربوط به آبسه و ۱ نمونه مربوط به مایع آسیت بود. میزان مقاومت سویه های بالینی جدا شده نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف به ترتیب سفوتاکسیم ۶۶ درصد، سفتازیدیم۶۵/۵ درصـد، سیپروفلوکسـازیـن۶۲/۵ درصـد، سفتـریـاکسون۶۰/۵درصد، جنتامایسین۳۶/۵ درصد، مقاومت به سفپیم ۳۶ درصد و هیچ یک از جدایه ها به ایمی پنم مقاومت نشان ندادند. در بین ۱۳۱ نمونه ای که مقاوم به سفتازیدیم بودند ۱۱۴ نمونه مربوط به ادرار، ۹ نمونه مربوط به زخم، ۷ نمونه مربوط به خون و ۱ نمونه مربوط به مایع آسیت بود و از ۱۲۱ نمونه ای که مقاوم به سفتریاکسون بودند۱۰۳ نمونه مربوط به ادرار، ۱۱ نمونه مربوط به زخم، ۶ نمونه مربوط به خون و ۱ نمونه مربوط به آبسه بود. در آزمون دیسک ترکیبی افزایش قطر هاله عدم رشد به اندازه ۵ میلی متر نسبت به سفتازیدیم و سفتریاکسون در ترکیب هر کدام از آنها با کلاولانیک اسید نشان دهنده تولید بتالاکتاماز وسیع الطیف بود. با آزمون دیسک ترکیبی

۹۴ سویه (۴۷ درصد) تولیدکننده آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف بودند. همچنین مشخص شد که از ۲۰۰ جدایه بالینی در آزمایش فنوتایپی تاییدی ۱۱۲ جدایه (۵۶٪) مولد Extended Spectrum Beta Lactamass (ESBLs) بودند. ۱۳۰ جدایه که به طور بالقوه تولید کننده بتالاکتاماز های وسیع الطیف بودند. جهت حضور ژن TEM با روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند. ۷۲ جدایه (۵۵/۳۸٪) واجد ژن TEM بودند در بین ۷۲ جدایه ای که واجد ژن TEM بودند ۶۱ نمونه(۶۳/۳٪) ادرار، ۷ نمونه (۴۱٪)زخم و۴ نمونه(۳۶/۳٪) خون بودند.

بحث

در این مطالعه نزدیک به ۷۰ درصد جدایه های بالینی در برابر آنتی بیوتیک های سفالوسپورین نسل سوم سفتازیدیم و سفترایاکسون مقاوت نشان دادند. مقاومت به سفالو سپورن های وسیع الطیف در باکتر های *اشریشیاکلی* و کلبسیلا پنومونیه به واسطه تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف ایجاد می شود که اکسی ایمنوسفالوسپورین ها و مونوباکتام ها را هیدرولیز می کنند(۱۵). تشخیص فنوتیپی ESBLs روش خوبی جهت افتراق بین سویه های تولید کننده ESBLs و سویه هایی که از دیگر مکانیسم ها جهت مقاوت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام استفاده می کنند می باشد(۱۰). مکانیسم های آنزیماتیک مقاومت توسط ESBLs ها می تواند همراه با نقص در نفوذ پذیری غشاء خارجی و مکانیسم افلوکس تفسیر حاصل از مقاوت باکتری ها را پیچیده کند. ازآنجایی که امکان داردکه درمان باسفالوسپورین های نسل سوم یا آزترونام با شکست مواجه شود گزارش سویه های مقاوم به این آنتی بیوتیک ها لازم وضروری می باشد. علاوه بر این تشخیص سویه های تولید کننده ESBLs در ایجاد پروسه هایی که از انتقال متقاطع چنین سویه هایی در بین بیماران جلوگیری کند موثر می باشد(۱۰). مقاومت رو به افزایش باسیل های گرم منفی در سراسر جهان درمان تجربی ضد میکروبی را دچار مشکل نموده است. در قاره آسیا تاریخچه باکتری های تولید کننده ESBLs طولانی می باشد. همچنین این موضوع به خوبی ثابت شده که تفاوت های زیادی از نظر میزان شیوع و ژنتیک ESBLs در بیمارستان های مختلف و به ویژه در کشورهای مختلف وجود دارد(۱۱). این موضوع در مطالعه حاضر نیز تایید شد به طوری که در بررسی فنوتیپی همانند سایر مطالعات میزان شیوع تولید کنندهESBLs به طور چشمگیری در حال افزایش است. در مطالعه ای انجام شده در هند بروز عفونت با *اشریشیاکلی* تولید کننده ESBLS ۷۹ درصد گزارش شد (۱۲). در آسیا سرعت تولید ESBLs در کشور های مختلف متفاوت می باشد. به طوری که در یک مطالعه فنوتیپی در کشور هند میزان شیوع تولیدESBLs در جدایه های *اشریشیا کلی*، ۴۶/۵۱ (۱۳). در تایوان ۱۶/۷-۱/۵درصد (۱۴) و در مطالعه ای در پاکستان شیوع ۴۱ درصد گزارش شد(۱۵). در مطالعه دیگری در پاکستان شیوع تولیدESBLs در جدایه های *اشریشیا کلی*، ۵۶/۹ درصد گزارش شد(۱۶). گزارش میزان تولید ESBLs در جدایه های *اشریشیاکلی* در نقاط مختلف ایران متفاوت است (۶۷٪-۸/۹٪)(۱۷). در مطالعه ای که توسط فاضلی و همکاران در مشهد انجام شد شیوع تولی ESBLs در جدایه های *اشریشیا کلی*۵۷/۵گزارش شد (۱۸). در اصفهان مسجدیان و همکاران نشان دادند که۵۱ درصد جدایه های *اشریشیاکلی*، مولد ESBLs می باشند(۱۹). طبق نتیجه گیری هوبان و همکاران، *اشریشیاکلی* در سراسر جهان به عنوان باسیل گرم منفی شماره ی یک در عفونت های ادراری باقی مانده است(۲۰). مطالعات پیشین شیوع پاتوژن های *اشریشیاکلی* مقاوم را هم در بیماران بستری و هم در بیماران سرپایی ثابت کرده است(۲۱). مطالعه یNasa و همکاران در سال ۲۰۱۱در دهلی نشان داد که میزان *اشریشیاکلی* مولد ESBL در کل ۷۱/۸ درصد بود(۲۱). در مطالعه ی برتران و همکاران درصد مقاومت به سفترياکسون درخاور میانه کمتر از پژوهش ما (۴۲/۵٪) گزارش گردیده است(۲۲). در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۷ در تهران انجام شد ۵۹/۲ درصد از جدایه های *اشریشیا کلی* تولید کنندهESBL بودند. ۲۹/۸ درصد جدایه ها تولید کننده ESBLS، MIC=۱۲۸ µg/ml را داشتند که شایعترین MIC بود (۲۳). در تحقیق ما نیز MIC= ۱۲۸ µg/ml بود. در مطالعه ی میرزایی و همکاران درصد مقاومت به سفالوسپورین های نسل۳ (سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفپیم) ، ۵۶/۶۹ درصد بود و MIC برای سفتازیدیم ۲۵۶ µg/ml به دست آمد(۲۴). در سایر مطالعات درصدهای مقاومت تفاوت فاحشی با مطالعه

ی حاضر داشت که می تواند ناشی از استفاده ی بی رویه از آنتی بیوتیک های سفتریاکسون و سفتازیدیم در منطقه باشد. درصد مقاومت به سفتازیدیم در مطالعه ی هوبان و همکاران ۱۴/۳ درصد بدست آمد که در مقابل ۶۵ درصد اختلاف زیادی دارد. این رقم در مورد جدایه های سرتاسر جهان ذکر شده است. در همین مطالعه برای منطقه ی خاور میانه درصد حضورESBL ، ۱۶/۲درصد گزارش شده است. البته با وجود اینکه تولید ESBL بیانگر مقاومت به سفالوسپورین های نسل ۳ می باشد، اما عوامل دیگری مثل تغییرات پروتئین های غشایی (ازجملهPBP2A) بر درصد مقاومت به سفالوسپورین هاتأثیرگذار است. در مطالعه ی Okesola در نیجریه به روش انتشار دیسک، درصد مقاومت به سفتریاکسون و سفتازیدیم به ترتیب ۳۷/۵ درصد و۴۳/۴ درصد بدست آمد(۲۵). در مطالعه ما درصد مقاومت به سفتریاکسون و سفتازیدیم به ترتیب ۶۵/۵ درصد و ۶۱ درصد گزارش گردید. در مطالعه ی Thean که در سنگاپور انجام شد، درصد مقاومت به سفتریاکسون به روش انتشار دیسک تا سال ۲۰۰۹، به ۲۱/۷ درصد افزایش پیدا کرده است(۲۶). در این مطالعه ژن بتالاکتامازی که به طور خاص مسئول مقاومت به آنتی بیوتیک های مورد بررسی TEM بود. با این وجود انواع بتالاکتاماز و تغییرات در پروتئین های غشایی مانندPBP2A همگی در مقاومت جدایه هابه این آنتی بیوتیک ها نقش دارد. بررسی ملکولی نشان داد که ۶۰ درصد *اشریشیا کلی* مولد ESBLs واجد ژن TEM بودند. در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۰۷، ۸۵/۶ درصد *اشریشیاکلی* مولد ESBLs واجد ژن TEM بودند (۲۷). که شیوع آن بالاتر از این مطالعه می باشد. در مطالعه دیگری در ترکیه از جدایه های *اشریشیا کلی* تولید کننده ESBLs ۳۲/۶ درصد واجد ژن TEM بودند (۲۸) که میزان شیوع آنزیم بتالاکتاماز TEM پایین تر از این مطالعه بود.

نتیجه گیری

بتالاکتاماز های وسیع الطیف شیوع روز افزون دارند و نتایج مطالعه ی حاضر بیانگر میزان بالای مقاومت آنتی بیوتیکی در بین جدایه های *اشریشیا کلی* منطقه به آنتی بیوتیک های بسیار پر مصرف سفتریاکسون و سفتازیدیم می باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله لازم می دانند از مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری زاهدان و دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان که ما را در انجام این پایان نامه یاری نموده اند تقدیر و تشکر نمایند.

References

1. G.Wite D, Alekshun M, Mcdermott P. *Frontiers in antimicrobial resistance*. Washington: AsM press; 2005; 41-59.

2. Serefhanoglu K, Turan H, Timurkaynak FE, Arslan H. *Bloodstream infections caused by ESBL-producing E. coli and K. pneumoniae: risk factors for multidrug-resistance*. Braz J Infect Dis. 2009; 13(6): 403-407.

3. Rayamajhi N, Kang SG, Lee DY, Kang ML, Lee SI, Park KY, et al. *Characterization of TEM-, SHV- and AmpC-type beta-lactamases from cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae isolated from swine*. Int J Food Microbiol. 2008; 124(2): 183-187.

4.Chatterjee M, Banerjee M, Guha S, Lahiri A, Karak K. *Study of drug resistance pattern of principal ESBL producing urinary isolates in an urban hospital setting in Eastern India.* Sri Lankan J of Inf Dis. 2012; 1(2): 36-41.

5. Brinas L, Lantero M, de Diego I, Alvarez M, Zarazaga M, Torres C. *Mechanisms of resistance to expanded-spectrum cephalosporins in Escherichia coli isolates recovered in a Spanish hospital*. J Antimicrob Chemother. 2005; 56(6): 1107-10.

6.Vyas JM, Ferraro MJ. *Overview of antimicrobial susceptibility testing*. Ir J of Inf Dis. 2011; Accessed at: http://www.uptodate.com.htm Licensed to: Ministry of Hlth of Iran.

7. Mohammadi M, Ghasemi E, Mokhayeri H, Pournia Y, Boroun H. *Antimicrobial resistance patterns of E. coli detected from hospitalized urine culture samples*. Asian J Biol Sci. 2010; 3:195–201.

8. Wanger A. *Disk Diffusion Test and Gradient Methodologies. Antimicrobial susceptibility testing protocols*. London: CRC Press. 2007; 53-80.

9. Baraiak A, Fiett J, Sulikowska A, Hryniewicz W, Gniadkowski M. *Countrywide spread of CTX-M-3 extended-spectrum beta-lactamase-producing microorganisms of the family Enterobacteriaceae in Poland.* Antimicrob Agents Chemother. 2002; 46(1): 151-9.

10. Drieux L, Brossier F, Sougakoff W, Jarlier V. *Phenotypic detection of extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide*. Clin Microbiol Infect. 2008;14 (Suppl 1): 90-103.

11. Bonnel R. *Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes*. AntimicrobialAgents chemother. 2004; 48(1): 1-14.

12. Hawser SP, Bouchillon SK, Hoban DJ, Badal RE, Hsueh PR, Paterson DL. *Emergence of high levels of extended-spectrum-β-lactamase-producing gramnegative bacilli in the Asia-Pacific region: data from the Study for Monitoring*. Antimicrobial Resistance Trends (SMART) program, 2007. Antimicrob Agents Chemother. 2009; 53(8): 3280–4.

13.Varaiya A, Dogra J, Kulkarni M, Bhalekar P. *Extended spectrum beta lactamase (ESBL) producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae n diabetic foot infection.* Indian J Med Microbiol. 2008; 51(3): 370-2.

14. Yu WL, Chuang YC, Walther-Rasmussen J. *Extended spectrum β-lactamases in Taiwan: epidemiology, detection, treatment and infection control*. J Microbiol Immunol Infect. 2006; 39(4): 264-277.

15. Jabeen K, Zafar A, Hasan R. *Frequency and sensitivity pattern of extended-spectrum β-lactamase producing isolates in a tertiary care hospital laboratory of Pakistan*. J Pak Med Assoc. 2005; 55(10): 436-439.

16. Ullah F, Malik SA, Ahmed J. *Antibiotic susceptibility pattern and ESBLS prevallence in nosocomial Escherichia coli from urinary tract infections in Pakistan*. Afr J Biotechnol. 2009; 8(16): 3921-3926.

17. Zaniani F, Meshkat Z, Naderi M, Karamadini,M, Ghazvini K, Abdolrahim R, et al. *The Prevalence of TEM and SHV Genes among Extended-Spectrum Beta-Lactamases Producing Escherichia Coli and Klebsiella Pneumoniae*. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2012; 15(1): 654-660.

18. Bazzaz BS, Naderinasab M, Mohamadpoor AH, Farshadzadeh Z, Ahmadi S, Yousefi F. *The prevalenceof extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae among clinicalisolafrom a general hospital in Iran.* Acta Microbiol Immunol Hung. 2009; 56(1): 89-99.

19. Masjedian F, Valehi F, Talebi A, Rastegar Lari A. Evaluation of wide broad spectrum antibiotic resistance of E. coliand Klebsiella pneumonia *e*. Iran J Med Microbio.2007; 2:27-34.

20. Hobana DJ, Nicolle LE, Hawser S, Bouchillon S, Badal R. *Antimicrobial susceptibility of global inpatient urinary tract isolates of Escherichia coli: results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) program: 2009–2010*. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2011; 70(4): 507-511.

21. Nasa P, Juneja D, Singh O, Dang R, Singh A. *An observational study on bloodstream extended-spectrum beta-lactamase infection in critical care unit: Incidence, risk factors and its impact on outcome*. European J of Intern Med. 2012; 23(2): 192-5.

22. Bertrand X, Dowzicky M J. *Antimicrobial Susceptibility Among Gram-Negative Isolates Collected From Intensive Care Units in North America, Europe, the Asia-Pacific Rim, Latin America, the Middle East, and Africa Between 2004 and 2009 as Part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial*. Clinical Therapeutics. 2012; 34(1): 124-137.

23. Shahcheraghi F, Noveiri H, Nasiri S.Detection of blaTEM & blaSHV genes among clinical isolates of E. coli from Tehran hospitals. Iranian Journal of Medical Microbiology, 2007;1(3):1-8.

24. Mirzaee M, Pourmand MR, Chitsaz M, Mansouri s. *Antibiotic resistance to third generation cephalosporins due toCTX-M-type extended expectrum betalactamases in clinical isolates of Escherichia coli*. Iranian J of public Health. 2009; 38(1): 10-17.

25. Okesola A.O, Makanjuola O. *Resistance to Third-Generation Cephalosporins and Other Antibiotics by Enterobacteriaceae in Western Nigeria*. American J of Infectious Diseases. 2009; 5(1): 17-20.

26.Thean YT, Lily SY, Jie H, Hsu LY. *CTX-M and ampC beta-lactamases contributing to increased prevalence of ceftriaxone-resistant Escherichia coli in Changi general hospital , Singapore*. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2010; 66: 210-213.

27.Taşli H, Bahar IH. *Molecular characterization of TEM- and SHV-derived extended-spectrum beta-lactamasesin hospital-based Enterobacteriaceae in Turkey*. Jpn J Infect Dis. 2005; 58(3): 162-167.

28. Dallal M, Aghamirzaei H. , Fallah J, Rastegar Lari A, Sabbaghi A Eshraghian M, et al. Molecular detection of TEM and AmpC (Dha, mox) broad spectrum β-lactamase in clinical isolates of Escherichia coli. Tehran University Medical Journal, 2010; 68(6):315-322.

Antimicrobial Resistance to Ceftazidime and Ceftriaxone, and Detection of TEM Gene in *Esherchia Coli*

Jahani, S. (MSc)
MSc of Microbiology, Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

Shahreki, SH. (PhD)
Assistant Professor of Microbiology, Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

Karbasizade, V. (PhD)
Assistant Professor of Microbiology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Falavarjan, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Jahani, S.

Email: s_jahani66@yahoo.com

Received: 27 May 2013
Revised: 9 Jun 2013
Accepted: 11 Jun 2013

Abstract

Background and Objective: In the past, most strains of *E. coli* were susceptible to a wide range of antimicrobial agents, but this situation is now changed by indiscriminate use of antibiotics. Ceftriaxone and Ceftazidime are the most current antibiotics used for Enterobacteriaceae infections in hospitals. The aim of this study was to determine antimicrobial resistance of *Escherichia coli* strains isolated from patients.

Material and Methods: During a 12-month period, 200 clinical samples taken from patients referred to Zahedan hospitals were assessed to isolate *Escherichia coli*. Antibiotic susceptibility was determined by disk diffusion method and micro-broth dilution; and Bla TEM resistance genes were detected by PCR.

Results: Following phenotype verification testing, 112 isolates (56%) were produced Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBLs) and 130 isolates were potential producers of beta-lactamase (ESBL). Using PCR, 72 isolates (38.55%) have TEM gene.

Conclusion: The rate of antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolates to ceftriaxone and ceftazidime is high; therefore, it seems reasonable to do antibiogram before treatment.

Keywords: Extended-Spectrum-Beta-Lactamase, *Esherchia coli*, Disc Diffusin, Micro-*Broth* Dilution

This paper should be cited as: Jahani S, ShahrekiZahedani SH, Karbasizade V. [Antimicrobial Resistance to Ceftazidime and Ceftriaxone, and Detection of TEM Gene in *Esherchia Coli*]. mljgoums. 2014; 8(Suppl 4):20-26 [Article in Persian]