Jundishapur
Scientific Medical Journal

Research Paper

Examining the Frequency of bla CTX-M and bla TEM Genes in Escherichia Coli Isolates with Multiple Drug Resistance Isolated from Patients Hospitalized in Ahvaz University Hospitals

*Seyed Hassan Nejat[1], Effat Abbasi Montazeri[2], Golamhossein Ebrahimipour[3], Mohammad Savari[4]

1. M. Sc, Department of Microbiology and Microbial Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
2. Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
3. Associate Professor, Department of Microbiology and Microbial Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
4. Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Nejat S H, Abbasi Montazeri E, Ebrahimipour Gh, Savari M. [Examining the Frequency of bla CTX-M and bla TEM Genes in Escherichia Coli Isolates with Multiple Drug Resistance Isolated from Patients Hospitalized in Ahvaz University Hospitals (Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2023; 22(4):469-482. 10.32592/JSMJ.22.3.469

https://doi.org/10.32592/JSMJ.22.3.469

ABSTRACT

Background and Objectives In the last few decades, Escherichia coli strains producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) have increased and are now considered a major problem in hospitalized patients. The aim of this study was to investigate the prevalence of blaCTX-M and blaTEM genes in Escherichia coli with multiple drug resistance.

Subjects and Methods This study was conducted from October 2021 to May 2022. The research site included the microbiology laboratories of Golestan, Imam Khomeini, and Shahid Beqai hospitals where isolates suspected of Escherichia coli were isolated from urine culture samples of patients with urinary tract infection. All Escherichia coli samples were identified by conventional biochemical and molecular methods. The antibiotic sensitivity of the isolates was determined by disk diffusion method. Then, in order to finally confirm the presence of blaCTX-M and blaTE genes, PCR method was used.

Results Out of the 160 bacterial isolates examined, 138 (86.3%) showed multidrug resistance (MDR). The highest and lowest percentage of resistance was related to Amoxicillin-Clavonic acid (84.1%) and Meropenem (5.8%), respectively. Based on the combined disk method, 96 isolates (69.6%) were positive for Beta-lactamase enzymes (ESBLs). Among the 96 ESBL-positive isolates, 85 (88.5%) and 38 (39.6%) carried blaCTX-M and blaTEM genes, respectively.

Conclusion Given the significant prevalence of Escherichia coli strains that are resistant to multiple drugs and carrying ESBLs beta-lactamase genes in hospital, there is a need for effective surveillance measures to prevent the further spread of drug resistance in these isolates.

Keywords Escherichia coli, UTI, multidrug resistance, bla_{CTX-M}, bla_{TEM}

Received: 11 Jun 2023
Accepted: 26 Nov 2023
Available Online: 19 Feb 2024

Corresponding Author:
Seyed Hassan Nejat
Address: Department of Microbiology and Microbial Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
Tel: +98-9165258957
E-Mail: Seyyed.hassan.nejat@gmail.com

Extended Abstract

Introduction

Urinary tract infection (UTI) is one of the most common community-acquired and hospital infections. UTI may occur in any part of the urinary tract and cause inflammation of the bladder, urethra, prostate and kidney. Studies conducted in different countries indicate that a major cause of UTI is the bacteria of the Enterobacteriaceae family, especially Escherichia coli. In fact, various antibiotics are used to treat this infection. Given the easy access to and the relatively cheap price of antibiotics along with the prevalence of various infectious diseases, the use of antibiotics has become so prevalent and widespread that it has led to the formation of resistant bacterial populations, subsequent treatment issues, occurrence of side effects on the host, and economic losses. Bacteria usually protect themselves from the harmful effects of antibiotics by using different mechanisms. For instance, production of beta-lactamase enzymes by gram-negative bacteria against beta-lactam antibiotics is one of the most important mechanisms of this kind. Recently, in order to treat bacterial infections and following the excessive use of new antibiotics like Aztreonam and broad spectrum Cephalosporins, a new group of beta-lactamase enzymes known as extended-spectrum beta-lactamases (ESBLS) has emerged. Based on this classification, broad spectrum enzymes are placed in group A and include derivatives of TEM, SHV and CTX_M mutated enzymes. This type of enzyme is currently one of the most important resistance mechanisms against beta-lactam antibiotics among gram-negative bacteria. Therefore, quick identification of these strains in clinical laboratories is very important in order to detect this kind of resistance. The frequency of antibiotic resistance of bacteria can be different due to the policies of healthcare and infection control centers in different regions. Also, the frequency and resistance pattern of beta-lactamase-producing bacterial isolates in Ahvaz is unknown. Therefore, this study aimed to analyze phenotypic and genotypic properties of blaCTX-M and blaTEM enzymes in Escherichia coli isolates and to determine their antibiotic sensitivity pattern among patients hospitalized in Ahvaz hospitals.

Methods

In this descriptive-analytical study that was carried out cross-sectionally from October 2021 to May 2022, the number of 160 Escherichia coli isolates from the urine culture samples of hospitalized patients with urinary tract infection who were referred to laboratory of Golestan Hospital, Imam Khomeini Hospital and Baghaei No. 2 Hospital in Ahvaz city, were collected after completing the questionnaire. Antibiotic sensitivity was determined by disc diffusion assay (Kirby-Bauer assay) according to CLSI 2021 standards. According to the definition of CLSI 2021, strains that are resistant to at least one antibiotic in 3 or more antibiotic families are called MDR. In order to identify ESBLS producing isolates, the combination disc method was used. Furthermore, boiling method was used to isolate genomic DNA. For quantitative and qualitative analysis of extracted DNA, 0.8% Agarose gel electrophoresis and spectrophotometry methods were used, respectively. After extraction of the sequence of the relevant gene regions from the GenBank, specific primers were designed by Primer3 software. Amplification of blaCTX-M and blaTEM gene was performed using conventional PCR method. Finally, the PCR product was analyzed using 1% Agarose gel electrophoresis along with DNA Ladder 100bp marker. After collecting the data and importing the information into the software (ver.16 SPSS), the required controls were carried out and then analyzed by the software. A significance level of 0.05 was used to interpret the data.

Results

In this cross-sectional study, 160 strains of Escherichia coli were collected and confirmed. Based on the antibiogram test, 138 MDR Escherichia coli samples were identified (86.3%) and were included in the study. MDR isolates showed the highest degree of resistance to Amoxicillin-Clavulanic acid and Amikacin (84.1%) and the lowest degree of resistance to the antibiotic Meropenem (5.8%) In this study, out of the 138 patients examined, 77 (55.8%) were female and 61 (44.2%) were male. No statistically significant relationship was observed between the gender of the subjects and the prevalence of MDR Escherichia coli isolates. The average age of the patients was 48.86 ± 22.02, and the age of the patients ranged from 6 months to 86 years. The results of the MDR antibiotic resistance pattern in terms of hospital wards were as follows: the urology ward had the highest number of MDR multidrug resistant isolates (34.1%) while the NICU ward had the lowest number of multidrug resistant isolates (5.1 %). No statistically significant relationship was observed between the investigated ward and the prevalence of MDR Escherichia coli isolates ($P<0.05$). Also, the most Escherichia coli isolates were isolated from Golestan Hospital (49.4%) while the lowest were isolated from Baghaei Hospital (13.1%). After carrying out the confirmatory tests by the combination discs of Ceftazidime and Cefotaxime with a concentration of 30 micrograms and comparing them with discs including Ceftazidime and Cefotaxime containing 10 micrograms of Clavulanic acid, the inhibition zone was observed in them. The study showed that among 138 Escherichia coli isolates, 96 (69.6%) produced ESBLS. In addition, out of 96 samples, 85 isolates (88.5%) had the blaCTX-M gene and 11 isolates (11.5%) did not have the blaCTX-M gene. There was a statistically significant relationship between the presence of the blaCTX-M gene and resistance to the antibiotics Amikacin, Co-trimoxazole and Ceftriaxone. Out of 96 samples, 38 isolates (39.6%) had the blaCTX-M gene and 58 isolates (60.4%) did not have the blaCTX-M gene. Also, 25 (26.04%) isolates carried both blaCTX-M and blaTEM genes. There was no statistically significant relationship between the presence of the blaTEM gene and resistance to the antibiotics under study.

Jundishapur
Scientific Medical Journal

Conclusion

With regard to the results of the present study and similar studies, resistance to antibiotics used in the treatment of patients with urinary tract infections caused by Escherichia coli is on the rise in Iran, and among the most important factors affecting this phenomenon is excessive and incorrect use of antibiotics, discontinuing the course of treatment, improper prescription of antibiotics by physicians, prescribing an insufficient dose of the drug, and relying on empirical treatment regardless of the culture and antibiogram results. Therefore, correct use of antibiotics should be a goal, and we should make our best effort to achieve it. Thus, physicans must refrain from treating patients before receiving results of the antibiogram test. In the present study, the highest percentage of antibiotic resistance was to Amoxicillin-Clavulanic acid (84.1%). Thus, the prescription of Amoxicillin-Clavulanic acid cannot play a role in the treatment of the patients. In fact, it not only does not improve the disease but also increases the number of resistant strains and reduces the percentage of effective treatment. In our study, the highest drug sensitivity is related to the antibiotic Meropenem (5.8%). Therefore, it is a suitable option to prescribe this drug in resistant cases. The frequency of ESBLs-producing isolates (69.6%) shows a relatively high prevalence of ESBLs-producing isolates in this region. With regard to the tests performed and the statistical analysis performed on the hospital and non-hospital isolates, it was concluded that blaCTX-M genes had increased significantly. Our findings indicated that the prevalence of ESBLS is increasing in Iran, and this leads to failure of treatment. Therefore, the present study recommends designing detailed methods and guidelines in order to detect antibiotic-resistant mechanisms, as this is crucial for the treatment and prevention of such isolates.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This descriptive-analytical study was conducted cross-sectionally from October 1400 to May 1401 with the code of ethics IR.SBU.REC.1400.164.

Funding

This research has not received any financial aid from government, private and non-profit organizations.

Authors contributions

Initial idea, editing and corrections: Seyed Hassan Nejat and Efat Abbasi Montazeri, analysis, processing and writing of the article: Seyed Hassan Nejat and Gholamhossein Ebrahimipour, data analysis: Mohammad Sovari.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

This research was the result of a master's thesis and supported by Shahid Beheshti University of Tehran.

مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

مقاله پژوهشی

بررسی فراوانی ژن *bla CTX-M* و *bla TEM* در ایزوله‌های اشریشیاکلی با مقاومت چندگانه دارویی جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های آموزشی اهواز

*سید حسن نجات[۱]، عفت عباسی منتظری[۲]، غلامحسین ابراهیمی پور[۳]، محمد سواری[۴]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی میکروبی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.
۲. دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.
۳. دانشیار،گروه میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی میکروبی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.
۴. استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

Use your device to scan and read the article online

Citation Nejat S H, Abbasi Montazeri E, Ebrahimipour Gh, Savari M. [Examining the Frequency of bla CTX-M and bla TEM Genes in Escherichia Coli Isolates with Multiple Drug Resistance Isolated from Patients Hospitalized in Ahvaz University Hospitals (Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2023; 22(4):469-482. 10.32592/JSMJ.22.3.469

https://doi.org/10.32592/JSMJ.22.3.469

CC BY NC

چکیده

زمینه و هدف در چند دهه اخیر، ظهور سویه‌های اشریشیاکلی تولید کننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف ESBLs افزایش یافته و هم اکنون به عنوان یک مشکل عمده در بیماران بستری مطرح می‌باشند. هدف از این مطالعه بررسی شیوع ژن blaCTX-M و blaTEM در اشریشیاکلی با مقاومت چندگانه دارویی بود.

روش بررسی در این مطالعه ازمهرماه ۱۴۰۰ تا اردیبهشت ۱۴۰۱ با مراجعه به آزمایشگاه میکروب شناسی بیمارستان‌های گلستان، امام خمینی اهواز و شهید بقائی شماره ۲ اهواز نسبت به جمع‌آوری جدایه های مشکوک به اشریشیاکلی جداشده از نمونه‌های کشت ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری، اقدام گردید. همه ی نمونه های اشریشیاکلی، با روش های مرسوم بیوشیمیایی و مولکولی تعیین هویت شدند. حساسیت آنتی بیوتیکی جدایه ها به روش دیسک دیفیوژن تعیین گردید. سپس به‌منظور تأیید نهایی، حضور ژن‌هایblaCTX-M و blaTE از روش PCR استفاده گردید.

یافته‌ها از ۱۶۰ جدایه باکتری تعداد ۱۳۸ جدایه (۸۶/۳٪) مقاومت چند دارویی (MDR) را نشان دادند. بیشترین درصد مقاومت نسبت به آموکسی سیلین-کلاونیک اسید (۸۴/۱٪) و کمترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک مروپنم (۵/۸٪) گزارش شد. با استفاده از روش دیسک ترکیبی مشخص شدکه ۹۶ایزوله(۶۹/۶٪) ESBLs مثبت بودند. در میان ۹۶ایزوله ESBLs مثبت به ترتیب، ۸۵ایزوله (۸۸/۵٪) و ۳۸ایزوله (۳۹/۶٪) حامل ژن های blaCTX-M و blaTEM بودند.

نتیجه گیری با توجه به شیوع قابل توجه سویه‌های اشریشیاکلی مقاوم به چند دارو و حامل ژن‌های ESBLs بتالاکتاماز در بیمارستان نیاز به اقدامات نظارتی کارآمد برای جلوگیری از گسترش بیشتر مقاومت دارویی در این جدایه ها می‌باشد.

کلیدواژه‌ها *اشریشیاکلی*، UTI، مقاومت چندگانه دارویی، *blaCTX-M blaTEM*

تاریخ دریافت: ۲۱ خرداد ۱۴۰۲
تاریخ پذیرش: ۰۵ آذر ۱۴۰۲
تاریخ انتشار: ۳۰ دی ۱۴۰۲

نویسنده مسئول:
سید حسن نجات
نشانی: گروه میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی میکروبی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.
تلفن: ۰۹۱۶۵۲۵۸۹۵۷
رایانامه: Seyyed.hassan.nejat@gmail.com

مقدمه

عفونت دستگاه ادراری(Urinary tract infection-UTI) یکی از رایج‌ترین عفونت‌های اکتسابی در سطح جامعه و نیز عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد. عفونت ممکن است در هر قسمتی از مجاری ادراری بروز نماید و باعث التهاب مثانه، مجرای پیشاب‌راه، پروستات و کلیه گردد. این عفونت، بر اساس آزمایش کامل ادرار و کشت تشخیص داده می‌شود. عفونت ادراری از شایع‌ترین عفونت‌ها و یکی از پنج اختلال اورولوژی پرهزینه در دنیاست و از مشکلات بهداشتی بسیاری از کشورها محسوب می‌شود. در آمریکا عفونت‌های ادراری پس از عفونت‌های تنفسی در مقام دوم قرار داشته و بسیاری از زنان و مردان در طول زندگی خود به آن مبتلا می‌شوند. اگرچه اکثریت عفونت‌ها به‌صورت حاد و کوتاه‌مدت هستند ولی باعث مرگ‌ومیر در جوامع می‌گردند. نتیجه عفونت شدید ادراری کاهش عملکرد کلیه‌ها و عوارض جلدی طولانی‌مدت است که اگر باکتری‌های مجاری ادراری به داخل خون راه پیدا کنند باعث سپتی سمی می‌شوند. فراوانی این عفونت بر اساس سن و جنس متفاوت است و به‌طور واضحی به دلایل تفاوت‌های آناتومیکی، در زنان بیشتر از مردان است [۱]. مطالعات انجام‌گرفته در کشورهای مختلف حاکی از این مطلب است که اصلی‌ترین عامل عفونت دستگاه ادراری باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه‌ها به‌خصوص *اشریشیاکلی* می باشد. باکتری *اشریشیاکلی* به دلیل توانایی تحرک بالا به‌راحتی می‌تواند در محیط‌های بیمارستان رشد کند و باعث ایجاد بیماری عفونی بیمارستانی شود. از جمله بیماری‌هایی که این ارگانیسم‌ها ایجاد می‌کند می‌توان به بیماری‌هایی مثل پنومونی، عفونت‌های مجاری ادراری (UTI)، بیماری‌های مجاری تنفسی، پوست و ... اشاره کرد. *اشریشیاکلی* عامل بیش از ۸۰ درصد موارد عفونت‌های دستگاه ادراری می‌باشد. عدم درمان عفونت ادراری می‌تواند منجر به بروز عوارض خطرناکی مانند اختلالات دستگاه ادراری، فشارخون بالا، اورمی و زایمان زودرس در زنان باردار شود. برای درمان این عفونت‌ها از آنتی-بیوتیک‌های مختلفی استفاده می‌شود. امروزه به دلیل دسترسی آسان، قیمت نسبتاً ارزان و بروز بیماری‌های عفونی مختلف مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها چنان فراوان و وسیع انجام می‌گیرد که منجر به شکل‌گیری جمعیت‌های باکتریایی مقاوم و متعاقب آن مشکلات درمانی، بروز عوارض جانبی بر میزبان و ضرر و زیان اقتصادی شده است. همچنین ارگانیسم‌های حساس می‌توانند حتی در طول درمان نیز مقاوم شوند [۲، ۳].

باکتری معمولاً با استفاده از مکانیسم‌های مختلفی از آثار مضر آنتی‌بیوتیک‌ها در امان می‌مانند. تولید آنزیم‌های بتالاکتامازی (Beta-lactamase enzymes) توسط باکتری‌های گرم منفی علیه آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، یکی از مهمترین این مکانیسم‌ها می‌باشد. در باکتری‌های گرم منفی، آنزیم‌های بتالاکتامازی، حلقه بتالاکتام آنتی‌بیوتیک‌ها را هیدرولیز کرده و از این طریق موجب ایجاد مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود. اخیراً به‌منظور درمان بیماری‌های عفونی باکتریایی و به دنبال استفاده بیش‌ازحد از آنتی‌بیوتیک‌های جدیدی مثل آزترئونام و سفالوسپورین‌های وسیع الطیف، شاهد ظهور گروه جدیدی از آنزیم‌های بتالاکتامازی به نام بتالاکتامازهای طیف وسیع (ESBLs) هستیم[۴، ۵]. بر حسب نوع عملکرد، آنزیم‌های بتالاکتامازی را به چهار گروه یا کلاس اصلی A، B، C و D تقسیم‌بندی می‌کنند. بر اساس این طبقه‌بندی، آنزیم‌های وسیع الطیف در گروه A قرار گرفته و شامل مشتقات آنزیم‌های موتاسیون یافته TEM و SHV و CTX_M می‌باشند[۶]. بتالاکتاماز TEM اولین بتالاکتامازی می‌باشد که به وسیله پلاسمید در انترو باکتریاسه ها کد شد. پلاسمیدی بودن و انتقال باواسطه ترانسپوزون، باعث تسهیل گسترش TEM به گونه های دیگر از باکتری‌ها شده است. باعث مقاومت به پنیسیلین و سفالوسپورین های اولیه در باکتری ها می گردد. خانواده bla_{CTX-M}از بتالاکتامازهای وسیع الطیف در سال ۱۹۸۹ برای اولین بار از آلمان گزارش شد. *ژن‌های* $bla_{CTX-M-14}$ و $bla_{CTX-M-15}$ بیشترین فراوانی را در جهان دارند[۷]. این بتالاکتامازها به علت دارا بودن فعالیت بالا بر ضد سفوتاکسیم، سفوتاکسیماز(*CTX-M-ase*) یا بتالاکتامازهای *CTX-M* نامیده شدند. *CTX-M-ase* با آنزیم‌های نسل TEM و *SHV* متفاوت هستند و کمتر از ۴۰ درصد شباهت با این آنزیم‌ها دارند و همچنین، غیر وابسته به بتالاکتامازهای *TEM* و *SHV* می‌باشند[۸]. امروزه این تیپ آنزیمی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مقاومتی در برابر آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام، در میان باکتری‌های گرم منفی مطرح می‌باشد. بر این اساس شناسایی سریع این سویه‌ها در آزمایشگاه‌های بالینی به‌منظور تشخیص این مقاومت، بسیار حائز اهمیت است[۹]. از آن جایی که فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری ها با توجه به سیاست های مراکز درمانی و کنترل عفونت در مناطق مختلف می توانند متفاوت باشد، و باتوجه به این نکته که فراوانی و الگوی مقاومت جدایه های باکتریایی مولد بتالاکتاماز در منطقه اهواز نامشخص است، لذا این مطالعه جهت ارزیابی آنزیم bla_{CTX-M} و bla_{TEM} در ایزوله هـای *اشریشیاکلی*، از لحاظ آنالیز فنوتیپی و ژنوتیپی است و تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی آن در بیماران بستری در بیمارستان های اهواز انجام گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی- تحلیلی که به صورت مقطعی از مهرماه ۱۴۰۰ تا اردیبهشت ۱۴۰۱ با کد اخلاق IR.SBU.REC.1400.164 انجام شد، تعداد ۱۶۰ جدایه *اشریشیاکلی* از نمونه‌های کشت ادرار بیماران بستری مبتلا به عفونت ادراری که به آزمایشگاه بیمارستان‌های گلستان، امام خمینی و بقایی شماره دو شهر اهواز ارجاع شده بود، پس از تکمیل پرسشنامه جمع آوری شد. بیماران در بخش‌های NICU، Neurology، Nephrology، Urology، Internal، ICU بستری شده بودند. تأیید عفونت ادراری توسط پزشک متخصص انجام شد. پلیت‌های کشت ادرار مثبت و مشکوک که اطلاعات بالینی آن‌ها مشکوک به عفونت ادراری بود به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی اهواز منتقل گردید.

مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

روش کشت و تعیین هویت سویه‌ها

در آزمایشگاه به‌منظور خالص‌سازی، با استفاده از لوپ نمونه‌های اخذشده به محیط بلادگار و مک کانکی آگار تلقیح شده و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس جهت تأیید نهایی جدایه ها، رنگ‌آمیزی گرم و مشاهده باسیل گرم منفی، آزمایش‌های بیوشیمیایی استاندارد شامل تست سیمون سیترات، اوره، لیزین آیرون آگار، واکنش در محیط TSI و کشت در محیط SIM انجام گردید. محیط‌های مورداستفاده از شرکت Merck تهیه‌شده بودند. پس از تعیین هویت، سویه‌های خالص‌شده در محیط TSB حاوی ۲۰٪ گلیسرول در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد جهت انجام آزمایشات بعدی نگهداری و ذخیره‌سازی شدند.

تعیین الگوی حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی با روش دیسک دیفیوژن آگار

تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن (کربی-بائر) براساس استانداردهای CLSI 2021 انجام شد[۱۰]. ابتدا از کشت ۲۴ ساعته باکتری، سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل لوله نیم مک فارلند تهیه و بر روی پلیت حاوی محیط کشت جامد مولر- هینتون (شرکتMerck، آلمان) تلقیح گردید. پس از پخش کامل سوسپانسیون میکروبی بر روی محیط کشت، دیسکهای آنتی بیوتیکی(Mast، انگلستان) مورد استفاده شامل: آمیکاسین (۳۰ µg)، مروپنم (۱۰ µg)، آمپی‌سیلین (۱۰ µg)، سیپروفلوکساسین (۵ µg)، کلرامفنیکل(۳۰ µg)، کوتریموکسازول (۱/۲۵ µg)، پیپراسیلین تازوباکتام (۱۰/۱۰۰ µg)، سفتازیدم (۳۰ µg)، سفوتاکسیم(۳۰ µg)، اموکسی سیلین کلاونیک اسید (۲۰/۱۰ µg)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ µg)، سفتریاکسون(۳۰ µg) و نیتروفورانتوئین (۳۰۰µg) به فاصله ۲۴ میلی متر از یکدیگر قرار داده شد و پس از ۱۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷°C، قطر هاله عدم رشد باکتری در اطراف هر دیسک اندازه گیری و نتایج ثبت شد. باکتری استاندارد *E. coli ATCC 25922* بعنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت.

تعیین مقاومت چندگانه دارویی در ایزوله های اشریشیا کلی جدا شده از عفونت ادراری

طبق تعریف CLSI به سویه‌هایی که مقاوم به حداقل یک آنتی‌بیوتیک در ۳ یا تعدادی بیشتر از خانواده‌های آنتی‌بیوتیکی باشد MDR گفته می‌شود.

شناسایی جدایه های تولید کننده ESBLs با استفاده از روش دیسک ترکیبی

جهت انجام این روش، ابتدا از ایزوله های موردنظر، استاندارد نیم مک فارلند تهیه و به‌صورت چمنی بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. سپس دیسک‌های سفتازیدم و سفتوتاکسیم با غلظت ۳۰ میکروگرم، به فاصله ۲۰ میلی‌متر از دیسک حاوی‌های سفتازیدم و سفتوتاکسیم حاوی ۱۰ میکروگرم اسیدکلاولانیک بر روی باکتری‌های کشت داده‌شده در محیط فوق قرار داده شد. جدایه هایی که قطر هاله عدم رشد آن‌ها در اطراف هر یک از دیسک‌های حاوی کلاولانیک اسید نسبت به دیسک‌های فاقد کلاولانیک اسید بیشتر یا مساوی ۵ میلی‌متر باشد، به‌عنوان باکتری‌های تولیدکننده ESBLs در نظر گرفته شدند[۹].

روش مولکولی

استخراج DNA

جهت جدا سازی DNA ژنومی، از روش Boiling استفاده گردید. بدین صورت که مقداری کلونی از این باکتری برداشته شد و در آب دیونیزه وارد و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد جوشانیده شد و پس از سانتریفوژ، محلول رویی به عنوان DNA الگو به منظور انجام واکنش PCR استفاده شد. جهت بررسی های کمی وکیفی DNA استخراج شده به ترتیب به روش‌های اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز۰/۸درصد استفاده گشت. جهت ادامه مطالعات، نمونه ها در فریز ۲۰- نگه داری شدند.

طراحی پرایمر

بعد از استخراج توالی نواحی ژن های مورد بررسی از GenBank پرایمرهای اختصاصی توسط نرم افزار primer3 طراحی گردید (جدول شماره ۱).

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مورداستفاده برای انجام PCR

نام ژن	توالی پرایمر(5′ to 3′)	اندازه باند (bp)
bla_{CTX-M}	F:CGCTTTGCGATGTGCAG R:ACCGCGATATGCAAAGCGT	۵۵۰
bla_{TEM}	F:AGTATTCAACATTTCCGTGTCG R:GCTTAATCAGTGAGGCACCTATC	۸۰۰

تکثیر ژن blaCTX-M و bla TEM

تکثیر ژن ها با روش Conventional PCR انجام شد. جهت انجام تکثیر از دستگاه ترموسایکلر (Quanta Biotech ساخت انگلستان) استفاده شد. برای انجام آزمایش واکنش PCR از حجم نهایی واکنش، یعنی ۲۵ میکرولیتر شامل: ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس 1X (حاوی $1/5 MgCl_2$ میلی مول)، ۲ میکرولیتر DNA (100ng)، ۲ میکرولیتر از هر کدام از جفت پرایمر (10pmol) و ۶/۵ میکرولیتر هم آب مقطر دوبار تقطیر استریل استفاده شد. برنامه های مورد استفاده جهت تکثیر قطعات مورد نظر نیز در جدول شماره ۲ آورده شده است. در نهایت محصول PCR با استفاده از الکتروفورزآگارز ژل ۱ درصد و در کنار مارکر DNA Ladder 100bp مورد بررسی قرار گرفت [۱۱].

آنالیز آماری

پس از جمع آوری داده‌ها و ورود اطلاعات به نرم افزار(ver.16 SPSS) کنترل‌های لازم انجام شده و توسط نرم افزار مربوطه تحت ازمون کای

جدول ۲. برنامه دمایی دستگاه ترموسایکلر برای ژن های ESBLs

Gene	Initial denaturation	Denaturation	Annealing	Extension	Final extension	Number cycles
bla_{CTX-M}	۹۴ درجه ۵ دقیقه	۹۴ درجه ۳۰ ثانیه	۶۰ درجه ۳۰ ثانیه	۷۲ درجه ۳۰ ثانیه	۷۲ درجه ۵ دقیقه	۳۰x
bla_{TEM}	۹۴ درجه ۵ دقیقه	۹۴ درجه ۳۰ ثانیه	۶۰ درجه ۳۰ ثانیه	۷۲ درجه ۳۰ ثانیه	۷۲ درجه ۵ دقیقه	۳۰x

اسکوار و آنالیز واریانس قرار گرفتند و با بکارگیری آمارهای توصیفی مانند درصد، میانگین و.... تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی دار آزمون ۰/۰۵ جهت تفسیر داده ها مورد استفاده قرار گرفت.

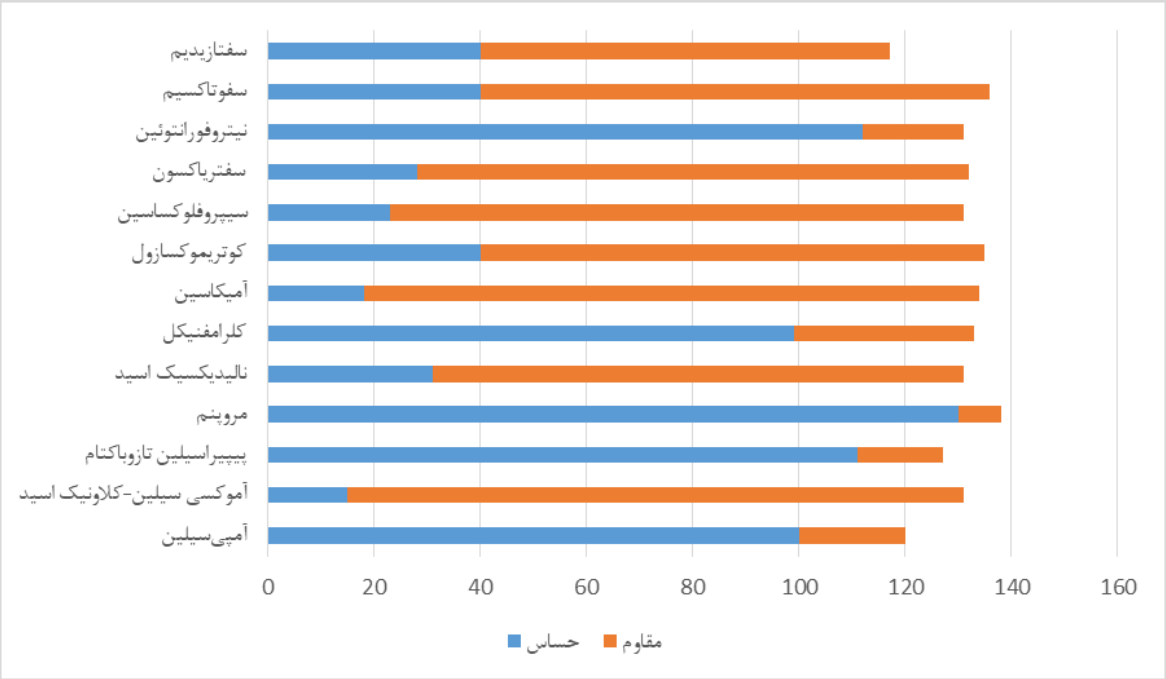
یافته ها

در این مطالعه مقطعی، ۱۶۰ سویه *اشریشیاکلی* جمع آوری و تایید گردید. بر اساس تست آنتی بیـوگرام، ۱۳۸ نمونه *اشریشیاکلی* MDRشناسایی شدند (۸۶/۳ درصد) و وارد مطالعـه گردیدند. جدایه های MDR بیشترین مقاومت را به آموکسی سیلین–کلاونیک اسید و آمیکاسین (۸۴/۱٪) و کمترین مقاومت را به آنتی بیوتیک مروپنم(۵/۸٪) نشان دادند (نمودار شماره ۱).

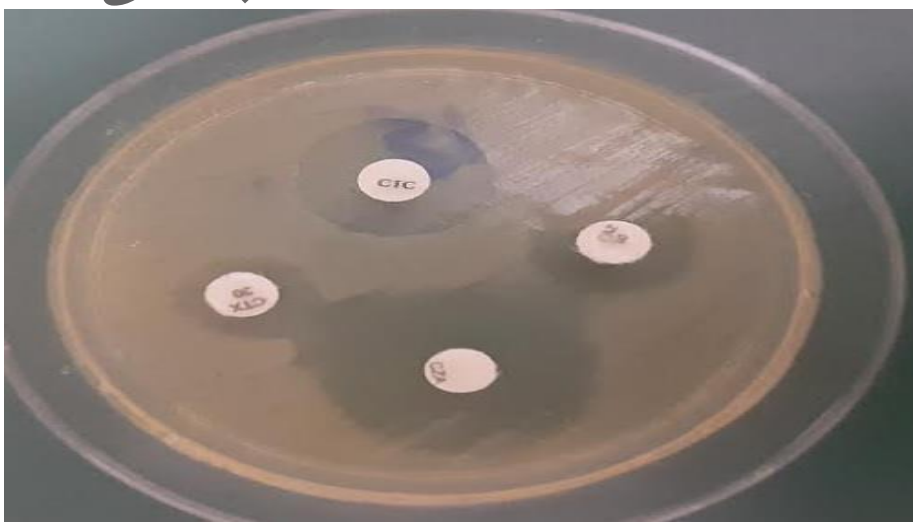
در این مطالعه از ۱۳۸ بیمار مورد مطالعه، ۷۷ نفر (۵۵/۸ ٪) مؤنث و ۶۱ نفر (۴۴/۲٪) مذکر بودند. از نظر آماری بین جنسیت افراد مورد بررسی و شیوع جدایه های MDR *اشریشیاکلی* رابطه معنی‌داری مشاهده نگردید. میانگین سنی بیماران ۲/۰۲± ۴۸/۸۶ و حداقل سن بیماران ۶ ماه تا حد اکثر ۸۶ سال متغیر بود. نتایج الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی MDR، به لحاظ بخش های بیمارستانی، به این شکل بود که در بخش اورولوژی با (۳۴/۱ ٪)، بیشترین تعداد ایزوله های دارای مقاومت چند دارویی MDR و بخش NICU با (۱/ ۵٪)، کمترین تعداد ایزوله های دارای مقاومت چند دارویی را از خود نشان دادند. از نظر آماری بین بخش مورد بررسی و شیوع جدایه‌های MDR *اشریشیاکلی* رابطه معنی‌داری مشاهده گردید P (<0.05). همچنین بیشترین ایزوله های *اشریشیاکلی* از بیمارستان گلستان (۴۹/۴٪) جدا شد و کمترین ایزوله ها نیز (۱۳/۱ ٪) در این مطالعه از بیمارستان بقایی جدا گردید.

نتایج آزمون تأییدی جدایه های تولید کننده ESBLs به روش فنوتیپی

پس از انجام تست‌های تاییدی که به وسیله ی دیسک های ترکیبی، سفتازیدم و سفتوتاکسیم با غلظت ۳۰ میکروگرم و همچنین مقایسه انها با دیسک حاوی‌های سفتازیدم و سفتوتاکسیم حاوی ۱۰ میکروگرم اسیدکلاولانیک، و مشاهده هاله عدم رشد در آنها، مشاهده شد در این مطالعه از بین ۱۳۸ جدایه *اشرشیا کلی*، ۹۶ جدایه (۶۹/۶ ٪) تولیدکننده ESBLs بودند. تست فنوتیپی فوق در شکل (شماره ۱) آورده شده است.



نمودار ۱. الگوی مقاومت ایزوله‌های MDR *اشریشیاکلی* جداشده از نمونه‌های بالینی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها

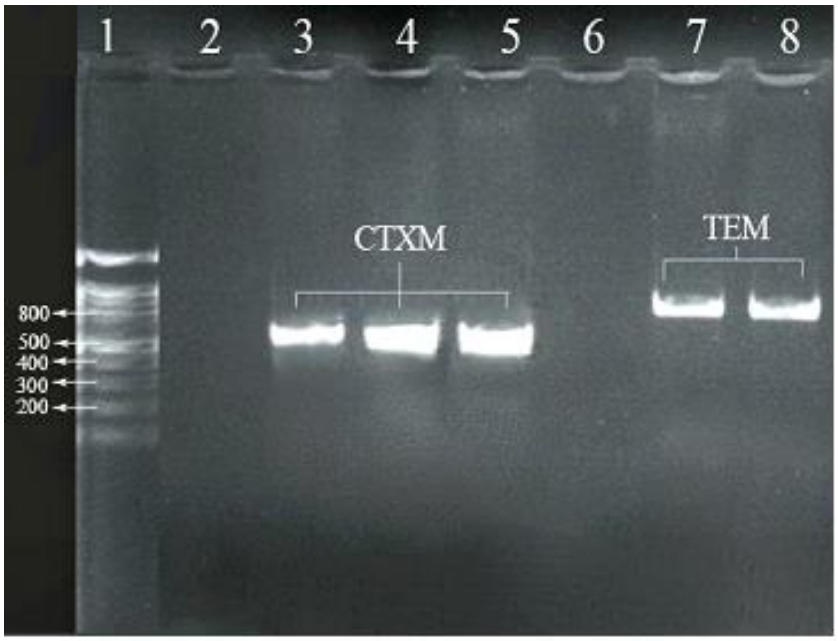


شکل ۱. شناسایی فنوتیپی جدایه های حاوی ESBLs به روش دیسک ترکیبی با کلاولانیک اسید (سفتازیدیم / کلاولانیک اسید و سفوتاکسیم /کلاولانیک اسید)

نتایج فراوانی ژن blaCTX-M و blaTEM

کلیه ۹۶ نمونه باکتری پس از استخراج DNA و انجام PCR به منظور تشخیص حضور یا عدم حضور ژن bla_{CTX-M} و bla_{TEM} با روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز کنترل شدند. از ۹۶ نمونه، ۸۵ ایزوله (۸۸/۵٪) دارای ژن bla_{CTX-M} بودند و ۱۱ ایزوله (۱۱/۵ ٪) فاقد ژن bla_{CTX-M}بودند. این ژن، محصولی به اندازه ۵۵۰bp شکل (۲) تولید می‌کند. از نظر آماری رابطه معنی داری بین حضور ژن bla_{CTX-M} و مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک آمیکاسین، کوتریموکسازول و سفتریاکسون وجود دارد (جدول شماره ۳).

از ۹۶ نمونه، ۳۸ ایزوله (۳۹/۶٪) دارای ژنbla_{TEM} بودند و ۵۸ ایزوله (۶۰/۴ ٪) فاقد ژن bla_{TEM} بودند. ۲۵ (۲۶/۰۴ ٪) ایزوله حامل هر دو ژن bla_{CTX-M} **و** bla_{TEM} بودند. این ژن، محصولی به اندازه ۸۰۰ bp شکل (۲) تولید می‌کند. از نظر آماری رابطه معنی داری بین حضور ژن bla_{TEM} و مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های مورد بررسی وجود ندارد.



شکل ۲. نتایج الکتروفورز محصول PCR ژن‌های ESBL جدایه های *اشریشیاکلی*: چاهک۱ مارک ۱۰۰ جفت بازی، چاهک۲ نمونه منفی bla_{CTX-M}، چاهک ۳ نمونه کنترل مثبت، چاهک ۴ و ۵ نمونه مثبت bla_{CTX-M} چاهک ۶ نمونه منفی bla_{TEM} ، چاهک ۷ نمونه کنترل مثبت، چاهک ۸ نمونه مثبت bla_{TEM}

جدول۳. ارتباط میان وجود ژن bla_{CTX-M}و bla_{TEM} مقاومت آنتی بیوتیکی در جدایه های تولیدکننده ESBLs *اشریشیاکلی*

آنتی بیوتیک	*کل مقاومت(٪)*	bla_{TEM} *مثبت*	bla_{TEM} *منفی*	*P Value*	bla_{CTX-M} *مثبت*	bla_{CTX-M} *منفی*	*P Value*
آمپی‌سیلین	۱۰(۱۰/۴)۱۰	۳(۳۰)۳	(۷۰)۷	۰/۳۴۷	(۱۰۰)۱۰	۰(۰)۰	۰/۳۴۷
آموکسی سیلین-کلاونیک اسید	۸۸(۹۱/۷)	۳۶(۴۰/۹)۳۶	۵۲ (۵۹/۱)	۰/۴۵۵	(۸۸/۶)۷۸	۱۰(۱۱/۴)۱۰	۰/۳۵۷
پیپیراسیلین تازوباکتام	۸(۸/۳)	۴(۵۰)	۴(۵۰)	۰/۴۴۵	۸(۱۰۰)	۰(۰)	۰/۲۳۸
مروپنم	۴(۴/۲)	۱(۲۵)	۳(۷۵)	۰/۵۴۳	۴(۱۰۰)	۰(۰)	۰/۴۶۲
نالیدیکسیک اسید	۷۶(۷۹/۲)	۲۹(۳۸/۲)	۴۷(۶۱/۸)	۰/۳۴۲	۶۹(۹۰/۸)	۷(۹/۲)	۰/۴۰۳
کلرامفنیکل	۲۲(۲۲/۹)	۷(۳۱/۸)	۱۵(۶۸/۲)	۰/۳۹۱	۲۱(۹۵/۵)	۱(۴/۵)	۰/۳۴۹
آمیکاسین	۹۱(۹۴/۸)	۳۶(۳۹/۶)	۵۵ (۶۰/۴)	۰/۳۴۷	۸۱(۸۹/۰)	۱۰(۱۱/۰)	<۰/۰۱۶
کوتریموکسازول	۶۷(۶۹/۸)	۲۷(۴۰/۳)	۴۰(۵۹/۷)	۰/۰۶	۶۳(۹۴/۰)	۴(۶/۰)	<۰/۰۳۲
سیپروفلوکساسین	۸۰(۸۳/۳)	۳۳(۴۱/۳)	۴۷(۵۸/۸)	۰/۷۵۷	۷۱(۸۸/۸)	۹(۱۱/۳)	۰/۴۴۹
سفتریاکسون	۸۳(۸۶/۵)	۳۵(۴۲/۲)	۴۸(۵۷/۸)	۰/۲۷۵	۷۶(۹۱/۶)	۷(۸/۴)	<۰/۰۱۰
نیتروفورانتوئین	۱۳(۱۳/۵)	۵ (۳۸/۵)	۸(۶۱/۵)	۰/۴۸۴	۱۱(۸۴/۶)	۲(۱۵/۴)	۰/۱۷۸
سفوتاکسیم	(۹۲/۷)	۳۴(۳۸/۲)	۵۵ (۶۱/۸)	۰/۲۱۰	۸۰(۸۹/۹)	۹(۱۰/۱)	۰/۱۰۹
سفتازیدیم	۸۹(۷۱/۹)	۲۴(۳۴/۸)	۴۵(۶۵/۲)	۰/۲۹۵	۶۴(۹۲/۸)	۵ (۷/۴)	<۰/۰۴۹

قابل توجه: اعداد داخل پرانتز درصد و خارج از پرانتز تعداد را نشان می دهند.

بحث

با توجه به اینکه اعضای خانواده انتروباکتریاسه عوامل عمده عفونت‌های ادراری می باشند و برخی از آنها مانند *اشریشیاکلی* به عنوان اعضای فلور طبیعی سبب ایجاد عفونت های فرصت طلب می شوند، لذا اتخاذ یک استراژی نوین در درمان و تشخیص این سویه ها ضروری می باشد. درمان آنتی بیوتیکی این عفونت ها در سالهای گذشته با آنتی بیوتیکهای خانواده پنی سیلین به آسانی موثر بودند، اما متاسفانه امروزه با کسب انواع مقاومت‌ها از جمله بروز بتالاکتاماز ها مشکل و پر هزینه گردیده است [۴]. بسیاری از مطالعات نشان داده اند که *اشرشیا کلی*، به ویژه سویه های مقاوم به چند دارو (MDR) در بیمارستان های ایران شیوع بسیار بالایی دارد.

در اکثر مطالعات انجام‌شده، مقاومت به چند دارو به‌عنوان مقاومت به حداقل سه دارو از انواع کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی می‌باشد، این گروه‌ها عبارت‌اند از: آمینوگلیکوزیدها، پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها، کارباپنمازها و فلوروکینولون‌ها[۴]. با توجه به تعریف ارائه‌شده در مطالعه حاضر ۱۳۸ ایزوله (۸۶/۳٪) به ۳ یا بیشتر از ۳ نوع آنتی‌بیوتیک مختلف مقاوم بودند. *اشریشیاکلی* مقاوم به چند دارو به علت استفاده فراوان از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع الطیف در بیماران به‌وفور دیده می‌شود. نتایج مطالعه حاضر در توافق با مطالعات جمعه زاده و Mouanga Ndzime و Bala است[۱۲-۱۴].

افزایش شیوع این سویه‌ها دارای دلایل متعددی می‌باشد و ممکن است در اثر تجویز بی‌مورد آنتی‌بیوتیک‌ها، تجویز بلندمدت آنتی‌بیوتیک‌های وریدی برای پیشگیری از عفونت در بیماران پرخطر و نیز عدم استفاده محافظه‌کارانه از وسایل و تجهیزات پزشکی دلیل مقاومت بالا در بین جدایه ها باشد.

در مطالعه حاضر، بیشترین درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آموکسی‌سیلین-کلاونیک اسید (۸۴/۱٪) بود. آموکسی‌سیلین-کلاونیک اسید جز خانواده آمینو پنی‌سیلین‌ها می‌باشد. در مطالعه برانی و همکاران در سال ۱۳۹۰ میزان مقاومت به داروی آموکسی‌سیلین ۵۳/۴۵ ٪ به دست آمد(۱۵). در مطالعه محمدی و همکاران در خرم‌آباد میزان مقاومت به آموکسی‌سیلین ۸۳/۷درصد تعیین شد[۱۶].

در مطالعه‌ای که توسط نی و همکاران در شش کشور اروپایی از جمله فنلاند، آلمان، لتونی، لهستان، روسیه و سوئد در سال ۲۰۱۷ انجام شد، میزان مقاومت آموکسی‌سیلین کلاوولانیک اسید ۱۶/۷ درصد بود[۱]. در مطالعه Ait-Mimoune در سال ۲۰۲۲ در کشور الجزایر درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آموکسی‌سیلین-کلاونیک اسید(۵۸/۳٪) گزارش گردید[۱۷].

همان‌طور که ملاحظه می‌گردد مقاومت نسبت به آموکسی‌سیلین-کلاونیک اسید در مطالعه حاضر و سایر مطالعات انجام‌شده در ایران نسبت به سایر کشورها از فراوانی بالایی برخوردار می‌باشد. ازآنجاکه در درمان امپریک عفونت ادراری آموکسی‌سیلین به‌عنوان آنتی‌بیوتیک خط اول معرفی شده است و با توجه به میزان بالای مقاومت پیشنهاد می‌گردد تا در معرفی این آنتی‌بیوتیک به‌عنوان انتخاب اول تجدیدنظر گردد.

مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

در مطالعه حاضر در بین آنتی‌بیوتیک‌های خانواده پنی‌سیلین‌ها، درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آمپی‌سیلین (۱۴/۵٪) بود. در مطالعه Ait-Mimoune در سال ۲۰۲۲ در کشور الجزایر درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آمپی‌سیلین (۷۳/۳٪) گزارش گردید[۱۷].

در مطالعه Post و همکاران در سال ۲۰۲۲ میزان شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی آمپی‌سیلین (۶۵/۸٪) بود[۱۸]. در مطالعه امیری و همکاران در سال ۱۳۹۸ میزان شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی آمپی‌سیلین ۸۴ درصد بود[۱۹]. در مطالعه انجام‌شده توسط سوادکوهی ۸۷/۵٪ گزارش گردید [۲۰]. در مطالعه Ait-Mimoune در سال ۲۰۲۲ در کشور الجزایر درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آمپی‌سیلین (۶/۳٪) گزارش گردید[۱۷]. همان‌طور که ملاحظه می‌گردد مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین در مطالعه حاضر و Ait-Mimoune نست به سایر مطالعات از فراوانی کمتری برخوردار است. اما در سایر مطالعات از شیوع بالایی برخوردار است. باید توجه داشت که تفاوت منطقه‌ای در نقاط مختلف دنیا یا حتی یک کشور، پاسخ‌های درمانی متفاوتی را نسبت به داروهای ضد میکروبی ایجاد می‌کند. منشأ این تفاوت‌ها در نقاط مختلف را می‌توان تفاوت‌های ژنتیکی افراد، تفاوت‌های ژنتیکی سویه‌ها و تفاوت در زمینه‌های دیگر دانست که با توجه به این امر، الگوهای درمانی مورداستفاده در نقاط مختلف، متفاوت و بر اساس ویژگی‌های خاص هر منطقه تعریف می‌شود. ازاین‌رو باید به‌طور دوره‌ای در هر منطقه بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی برای استفاده در درمان اختصاصی عفونت‌های ادراری صورت پذیرد.

در مطالعه حاضر در بین آنتی‌بیوتیک‌های خانواده کارباپنم درصد مقاومت نسبت به مروپنم (۵/۸٪) بود. در مطالعه NY و همکاران میزان شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی مروپنم ۰ درصد بود[۱]. در مطالعه حسینی در سال ۱۳۹۷ درصد مقاومت نسبت به ایمی‌پنم ۳۱/۱٪ گزارش گردید[۲۱]. نتایج مطالعه ما در توافق با سایر مطالعات می‌باشد. همان‌طور که ملاحظه می‌گردد مروپنم نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌های کارباپنم مقاومت کمتری نشان می‌دهد و گزینه مناسبی برای تجویز این دارو در بین خانواده کارباپنم‌ها است. اما بااین‌حال مقاومت ناچیز باکتری‌ها نسبت به این دسته از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند حائز اهمیت باشد، چراکه در بیشتر مناطق دنیا حتی ایران، بروز بتالاکتامازهای غیرفعال کننده کارباپنم (کارباپنماز) در برخی از باکتری‌های پاتوژن به‌ویژه اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسه تجربه شده است.

در مطالعه حاضر در بین آنتی‌بیوتیک‌های خانواده آمینوگلیکوزید درصد مقاومت نسبت به آمیکاسین (۸۴/۱٪) بود. میزان مقاومت به جنتامایسین در مطالعه منصوری و همکاران ۳۴ ٪ گزارش گردید[۲۲]. در مطالعه Post و همکاران در سال ۲۰۲۲ میزان شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی جنتاماسین (۳/۹٪) بود[۱۸]. Kandakai-Olukemi در نیجریه در سال ۲۰۰۹ مقاومت به جنتامایسین را ۷۰/۹٪ و امیکاسین را ۶۵/۸٪ گزارش کردند[۲۳]. در مطالعه حیدری در شهرکرد میزان مقاومت نسبت به جنتامایسین ۱۰٪ و امیکاسین ۷/۶٪ گزارش گردید[۲۴]. در مطالعه Ait-Mimoune در سال ۲۰۲۲ در کشور الجزایر درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به جنتامایسین (۴۷/۵٪) و امیکاسین (۸٪) گزارش گردید[۱۷]. در مطالعه حاضر درصد مقاومت به آمیکاسین نسبت به مطالعه حیدری و Ait-Mimoune از شیوع بالاتری برخوردار است. میزان فراوانی مقاومت آمینوگلیکوزیدی در مطالعه احسانی و Kandakai-Olukemi نسبت به نتایج به‌دست‌آمده از سایر محققین از فراوانی بالایی برخوردار می‌باشد؛ که این می‌تواند به دلیل دسترسی آسان، قیمت نسبتاً ارزان و بروز بیماری‌های عفونی مختلف مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها چنان فراوان و وسیع انجام گیرد که منجر به شکل‌گیری جمعیت‌های باکتریایی مقاوم گردد. همچنین توسعه مقاومت آمینوگلیکوزید ها با واسطه پلاسمید، اینتگرون و ترانسپوزون صورت می‌گیرد و لذا باعث انتقال ژن مقاومت به سایر باکتری‌ها گردیده، میکروارگانیسم‌های حساس را نسبت به درمان مقاوم می‌کند.

در مطالعه حاضر از گروه سفالوسپورین‌ها، درصد مقاومت نسبت به سفتریاکسون (۷۵/۴٪)، سفوتاکسیم (۶۹/۶٪) و سفتازیدیم (۵۵/۸٪) بود. در مطالعه انجام‌شده توسط سوادکوهی درصد مقاومت نسبت به سفتریاکسون ۳۵/۴٪ و سفوتاکسیم ۲۸٪ گزارش گردید [۲۰]. در مطالعه انجام‌شده توسط حیدری مقاومت نسبت به سفتریاکسون ۴۲/۸٪ گزارش گردید[۲۴]. در مطالعه Post و همکاران در سال ۲۰۲۲ میزان شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی سفتریاکسون (۳/۹٪) بود[۱۸]. در مطالعه حسینی در سال ۱۳۹۷ درصد مقاومت نسبت به سفتازیدیم ۶۴/۴٪، سفوتاکسیم ۴۲/۲٪ و سفتریاکسون ۷۰٪ گزارش گردید(۲۲). میزان مقاومت به سفتازیدیم در مطالعه منصوری و همکاران ۴۷/۵ ٪ گزارش گردید[۲۲]. در مطالعه Ait-Mimoune در سال ۲۰۲۲ در کشور الجزایر درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به سفتازیدیم (۳۸/۵٪) و سفوکسیتین (۲۰٪) گزارش گردید[۱۷]. متأسفانه امروزه فراوانی بالای بتالاکتامازهای وسیع الطیف در بین باسیل‌های گرم منفی، باعث شده تا ارگانیسم‌های بسیاری نسبت به سفالوسپورین‌ها مقاوم شوند. با توجه به اینکه بتالاکتام‌ها از پرمصرف‌ترین آنتی‌بیوتیک‌ها در دنیا می‌باشند، ایجاد مقاومت به آن‌ها در دو دهه اخیر بحران مهم بالینی محسوب می‌شود. در بین سفالوسپورین‌ها سفپیم کمترین مقاومت را نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌های این گروه نشان می‌دهد. ازآنجایی‌که سفپیم جز سفالوسپورین‌های نسل چهارم تلقی می‌شود، استفاده کمتری در درمان بالینی بیماران عفونی نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم دارد و به همین دلیل، در این آنتی‌بیوتیک در مقایسه با سفالوسپورین‌های دیگر، مقاومت کمتری مشاهده می‌شود.

در مطالعه حاضر درصد مقاومت نسبت به نیتروفورانتوین ۱۳/۸٪ بود. نیتروفورانتوین دارای طیف اثر گسترده‌ای بوده و باکتریواستاتیک می‌باشد. به علت تراکم دارو در ادرار، نیتروفورانتوین‌ها به‌طور اولیه برای درمان عفونت‌های ادراری ساده به کار می‌روند. مقاومت نسبت به نیتروفورانتوین در مطالعه انجام‌شده توسط امیری، حیدری، Kandakai-Olukemi، Ait-Mimoune، NY، Post و سوادکوهی به ترتیب ۶، ۲۰، ۵/۱، ۲/۴۶، ۱/۲، ۳/۹ و ۷/۲ ٪ گزارش گردید[۱۷-۲۰, ۲۳, ۲۴].

بنابراین بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه، میزان مقاومت جدایه‌های بررسی‌شده نسبت به نتایج به‌دست‌آمده از سایر محققین در یک راستا است؛ اما این میزان مقاومت پایین هم می‌تواند ناشی از تجویز گسترده آنتی‌بیوتیک مخصوصاً در کلینیک‌ها سبب افزایش فشار انتخابی بر روی نمونه‌های حساس بوده و سبب افزایش نمونه‌های مقاوم می‌شود.

در مرحله بعدی این تحقیق، با استفاده از PCR، ژن‌های bla_{CTX-M} و bla_{TEM} مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه ۶۹/۶ درصد جدایه‌های *اشریشیاکلی* حاوی ESBLs به روش فنوتیپی بودند. در میان ۹۶ ایزوله ESBLs مثبت به ترتیب، ۸۵ ایزوله (۸۸/۵٪) و ۳۸ ایزوله (۳۹/۶٪) حامل ژن های bla_{CTX-M} و bla_{TEM} بودند.

امروزه تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف تهدید بزرگی برای مصرف سفالوسپورین‌های وسیع الطیف قلمداد می‌شوند. از طرف دیگر وجود ژن‌های این آنزیم‌ها با افزایش مقاومت‌های چندگانه دارویی ارتباط دارند. به‌طوری‌که بروز و انتشار این ژن‌ها باعث پیدایش و افزایش مقاومت‌های دارویی چندگانه شده و در نهایت استفاده و انتخاب داروهای مفید و مناسب درمان را با چالش مواجه ساخته است.

مطالعات و گزارش‌های متعددی در خصوص افزایش و شیوع رو به رشد ارگانیسم‌های مولد ESBL از مناطق مختلف در کشور وجود دارد. آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف یکی از مهم‌ترین علل شکست در درمان عفونت‌های دارای است که به‌سرعت در سطح جهان گسترش‌یافته است و مهم‌ترین دلیل آن می‌تواند مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی باشد. در بسیاری از کشورها گروهای مختلفی از آنزیم‌های مشاهده می‌شود، بااین‌حال با توجه به مطالعات متعدی که در ایران انجام گرفته bla_{CTX-M} نوع غالب در ایران اعلام شده است.

فراوانی ژن‌های bla_{CTX-M} در مطالعات مختلف صورت گرفته در کشور بسیار متفاوت است که این تفاوت‌ها می‌تواند ناشی از انتشار کلونال ارگانیسم‌های مولد این آنزیم‌ها در مناطق و یا بیمارستان‌ها یا حتی بخش-های مختلف باشد. بتالاکتامازهای bla_{CTX-M} فعالیت بسیار بالایی در برابر آنتی‌بیوتیک‌هایی از قبیل سفتریاکسون و سفوتاکسیم در مقایسه با سفتازیدیم نشان می‌دهند، ولی جهش‌های نقطه‌ای می‌تواند باعث افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در برابر سفتازیدیم نیز شود. اگر پاتوژن تولیدکننده ESBLدر شرایط in vitro حساس به سیپروفلوکساسین باشد، با استفاده از کوئینولون‌ها می‌توان پاسخ بالایی را دریافت کرد؛ اما متأسفانه، مطالعات اپیدمیولوژیک ارتباط قوی بین مقاومت به فلوروکینولون و تولید ESBL در انتروباکتریاسه را نشان داده است.

در مطالعه منصوری ۶۳ ٪ از جدایه های *اشریشیاکلی* مولد آنزیم بتالاکتاماز تشخیص داده شده است که در این مورد با مطالعه حاضر همخوانی داشت[۲۲].

در بررسی کومار و همکاران در سال ۲۰۱۴، از ۱۸۰ جدایه مقاوم به سفالوسپورین‌های نسل سوم، ۵۵/۵۵ ٪ مولد بتالاکتاماز معرفی شده که با درنظر گرفتن تعداد جدایه‌های مطالعه حاضر و گزارش تعداد جدایه‌های مولد بتالاکتاماز این هم‌خوانی داشته است[۲۵].

در مطالعه حبیب و همکاران در سال ۲۰۱۳ در پاکستان، به افزایش جدایه‌های مولد ESBL در *اشریشیاکلی* ۶۰ ٪ اشاره شده است که در این مورد با مطالعه حاضر همخوانی داشت[۲۶].

حمدی محمد و همکاران در سال ۲۰۱۶ در یک مطالعه با هدف توصیف شیوع ایمی‌پنم مقاوم به درمان و شناسایی ژن‌های*SHV*، *M-CTX* و*M-CTX* جدایه‌های باسیلی گرم منفی را از بیمارستان‌های مصر جداسازی کردند. در این مطالعه ۲۴ ایزوله (۷۲/۷٪) دارایbla_{TEM} و ۶ ایزوله (۱۸/۲٪) دارای bla_{CTX-M} بودند[۲۷].

در مطالعه لیا او و همکاران در سال ۲۰۱۶، در ۱۶۷ سویه *اشریشیاکلی* تولیدکنندهESBL، ۱۰۴ سویه (۶۲/۳ ٪) از نظر ژن bla_{CTX-M} مثبت بودند[۲۸].

Malande و همکاران در سال ۲۰۱۹ شیوع ESBL در *اشریشیاکلی* در یک بیمارستان در آفریقای جنوبی را مورد بررسی قرار دادند. ۱۳۶ مورد (۲۹/۹٪) ایزوله تولیدکننده ESBL بودند[۲۹].

در مطالعه Bajpai و همکاران در سال ۲۰۱۷ در میان ۱۸ جدایه *اشریشیاکلی* تولیدکننده ESBL ژنی که غالب بود bla_{TEM} (۴۸/۷ درصد) و پس از آن bla_{CTX-M} (۷/۶ ٪) بود. در مطالعه Jena و همکاران در سال ۲۰۱۷ در میان ۴۶ جدایه *اشریشیاکلی* تولیدکنندهESBL، ۶۹/۸ ٪ هر سه ژن*TEM*، *M-CTX* و*SHV* را در خود جای‌داده بودند. ژن *TEM* با فراوانی ۹۳/۴۷ ٪ و پس از آن bla_{CTX-M} با فراوانی ۸۹/۶ ٪ غالب بود [۳۰].

دراین پژوهش علاوه بر این، از نظر آماری رابطه معنی‌داری بین شیوع ژن و مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین، کوتریموکسازول و

مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

سفتریاکسون مشاهده گردید. از انجائیکه ژن‌های مقاومت نسبت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها ازجمله بتالاکتامازها می‌توانند به‌وسیله اینتگرون و پلاسمید حمل شوند لذا این ارتباط منطقی به نظر می‌رسد.

البته باید متذکر شد که شیوع این آنزیم‌ها دارای تنوع جغرافیایی می‌باشند، درنتیجه در کشورهای مختلف از شیوع مختلفی برخوردار می‌باشد. نکته دیگری که از تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت، این مطلب است که اکثر جدایه هایی که دارای مقاومت فنوتیپی به بتالاکتامازها هستند، دارای ژن‌های آنزیم‌های بتالاکتامازها می‌باشند؛ که نشان‌دهنده این مطلب است که این مکانیسم به‌عنوان یکی از شایع‌ترین مکانیسم‌های مقاومت به بتالاکتامازها مطرح است. شایان‌ذکر است ازآنجایی‌که در جدایه‌های حساس ازنظر فنوتیپی، ژن مربوط به این آنزیم‌ها وجود نداشت می‌توان به اهمیت این ژن‌ها در مقاومت *اشریشیاکلی* نسبت به بتالاکتامازها پی برد.

نکته مهمی دیگری که باید به آن اشاره کرد این مطلب است که علاوه بر مکانیسم آنزیم‌های بتالاکتاماز که موضوع اصلی این تحقیق است، مکانیسم‌های دیگری نیز مانند نفوذناپذیری و افلاکس پمپ، در *اشریشیاکلی* شایع می‌باشند؛ در واقع اگر ایزوله‌ای که ازنظر فنوتیپی مقاوم بوده، فاقد ژن آنزیم‌های بتالاکتامازها باشد، احتمالاً از طریق مکانیسم‌های دیگری به بتالاکتامازها مقاوم شده است.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج مطالعه حاضر و مطالعات مشابه مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مورداستفاده در درمان بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری ناشی از *اشریشیاکلی* در کشور ما در حال گسترش است؛ و از جمله مهم‌ترین عـوامل مؤثر بـر ایـن پدیده، مصرف بی‌رویه و نـادرست آنتی‌بیوتیک‌ها، کامل نکردن دوره درمان، تجویز نابجای آنتی‌بیوتیک توسط پزشکان، تجویز دوز ناکافی دارو، اکتفا به درمان امپریکال بدون توجه به نتیجه کشت و آنتی‌بیوگرام می‌باشد و بایستی در جهت دستیابی به استفاده صحیح و به‌جا آنتی‌بیوتیک‌ها تلاش نمود. بدین دلیل لازم است پزشکان قبل از دریافت نتایج آنتی‌بیوگرام اقدام به درمان بیمار نکنند.

در مـطالعه حـاضر، بیشترین درصـد مـقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت بـه آموکسی‌سیلین–کلاونیک اسید (۸۴/۱٪) گزارش گردید. بدین ترتیب تجویز اموکسی سیلین–کلاونیک اسید نمی‌توانند نقشی در درمان بیماران داشته باشند و نه‌تنها بیماری را بهبود نمی‌بخشند، بلکه به تعداد سوش‌های مقاوم می‌افزایند و درصد درمان مؤثر را کاهش می‌دهند. در مطالعه ما نیز بیش‌ترین حساسیت دارویی مربوط به آنتی‌بیوتیک مروپنم (۵/۸٪) بوده است و لذا گزینه مناسبی برای تجویز این دارو در موارد مقاوم می‌باشد.

در صد فراوانی جدایه‌های مولد ESBLs ۶۹/۶٪ گزارش گردیده که نشان‌دهنده شیوع نسبتاً بالای جدایه‌های مولد ESBLs در این منطقه بوده است. با توجه به آزمایش‌های انجام‌شده و تحلیل‌های آماری صورت گرفته بر روی جدایه‌های بیمارستانی و غیر بیمارستانی چنین نتیجه‌گیری شد که ژن‌های bla_{CTX-M} افزایش چشمگیری داشته است. یافته‌های ما نشان داد که شیوعESBLs در ایران رو به افزایش است که منجر به شکست در درمان می‌شود؛ بنابراین، مطالعه حاضر توصیه می‌کند که روش‌ها و دستورالعمل‌های دقیقی برای تشخیص مکانیسم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک طراحی شود، زیرا برای درمان و پیشگیری ازاین‌گونه جدایه‌ها بسیار مهم است.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه توصیفی– تحلیلی به صورت مقطعی از مهرماه ۱۴۰۰تا اردیبهشت ۱۴۰۱ با کد اخلاق IR.SBU.REC.1400.164 انجام شد.

حامی مالی

این پژوهش هیچگونه کمک مالی از سازمانیهای دولتی، خصوصی و غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

ایده اولیه، ویرایش و تصحیحات: سید حسن نجات و عفت عباسی منتظری تحلیل، پردازش و نگارش مقاله:سید حسن نجات و غلامحسین ابراهیمی پور، بررسی دادهها: محمد سواری.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می دارند که هیچگونه تضاد منافعی وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد و تحت حمایت دانشگاه شهید بهشتی تهران بود.

Jundishapur
Scientific Medical Journal

References

[1] Ny S, Edquist P, Dumpis U, Gröndahl-Yli-Hannuksela K, Hermes J, Kling AM, Klingeberg A, Kozlov R, Källman O, Lis DO, Pomorska-Wesołowska M. Antimicrobial resistance of Escherichia coli isolates from outpatient urinary tract infections in women in six European countries including Russia. Journal of global antimicrobial resistance. 2019 Jun 1;17:25-34. [10.1016/j.jgar.2018.11.004] [PMID]

[2] Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology. Elsevier Health Sciences; 2015 Oct 28. [Link]

[3] Sanchez UM, Bello TH, Dominguez YM, Mella MS, Zemelman ZR, Gonzalez RG. Transference of extended-spectrum beta-lactamases from nosocomial strains of Klebsiella pneumoniae to other species of Enterobacteriaceae. Revista medica de Chile. 2006 Apr 1;134(4):415-20. [10.4067/s0034-98872006000400002] [PMID]

[4] Minami J, Katayama SI, Matsushita O, Sakamoto H, Okabe A. Enterotoxic activity of Klebsiella oxytoca cytotoxin in rabbit intestinal loops. Infection and immunity. 1994 Jan;62(1):172-7. [10.1128/iai.62.1.172-177.1994] [PMID]

[5] Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Mprse SA, Mietzner TA. Medical microbiology. United States. [Link]

[6] Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-determined AmpC-type -lactamases. Antimicrob. Agents Chemother. 2002. [10.1128/AAC.46.1.1-11.2002] [PMID]

[7] Chevalier J, Mulfinger C, Garnotel E, Nicolas P, Davin-Régli A, Pagès J-MJPO. Identification and evolution of drug efflux pump in clinical Enterobacter aerogenes strains isolated in 1995 and 2003. 2008;3(9):e3203. [10.1371/journal.pone.0003203] [PMID]

[8] Thirapanmethee KJMUJPS. Extended spectrum β-lactamases: critical tools of bacterial resistance. 2012;39(1):1-8. [Link]

[9] Humphries R, Bobenchik AM, Hindler JA, Schuetz ANJJocm. Overview of changes to the clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100. 2021;59(12):e00213-21. [10.1128/JCM.00213-21] [PMID]

[10] Yazdanpour Z, Vaez H. Molecular Detection of Aminoglycoside Acetyltransferases Genes in Escherichia coli Isolated from Community-Acquired Urinary Tract Infections of Patients Referred to Amiralmomenin Hospital, Zabol, 2019-2021. yafte 2022; 24 (1) :1-10. [link]

[11] Ponnusamy P, Nagappan RJIJMR. Molecular characterization of bla CTX-M, bla TEM, bla SHV-beta lactamase produced by uropathogenic Escherichia coli isolates. 2015;6:67-73. [Link]

[12] Mouanga Ndzime Y, Onanga R, Kassa Kassa RF, Bignoumba M, Mbehang Nguema PP, Gafou A, et al. Epidemiology of community origin Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae uropathogenic strains resistant to antibiotics in Franceville, Gabon. 2021:585-94. [10.2147/IDR.S296054] [PMID]

[13] Bala R, Singh VA, Gupta N, Rakshit PJTJoliDC. Prevalence, multidrug-resistance and risk factors for AmpC β-lactamases producing Escherichia coli from hospitalized patients. 2020;14(12):1466-9. [10.3855/jidc.13483] [PMID]

[14] Jomehzadeh N, Ahmadi K, Rahmani ZJOPH, Perspectives R. Prevalence of plasmid-mediated AmpC β-lactamases among uropathogenic Escherichia coli isolates in southwestern Iran. 2021;12(6):390. [10.24171/j.phrp.2021.0272] [PMID]

[15] Barati Leila, Qazlsafli Farzad, Azarhosh Ramin, Heydari Farida, Nora Mohammad. Determining the sensitivity of Escherichia coli bacteria isolated from the urine of pregnant women to antibiotics in Kalaleh (1387) (short report).[Link]

[16] Mohammadi M, Ghasemi E, Mokhayeri H, Pournia Y, Boroun HJAJoBS. Antimicrobial resistance patterns of E. coli detected from hospitalized urine culture samples. 2010;3(4):195-201. [Link]

[17] Ait-Mimoune N, Hassaine H, Boulanoir MJIJoM. Bacteriological profile of urinary tract infections and antibiotic susceptibility of Escherichia coli in Algeria. 2022;14(2):156. [10.18502/ijm.v14i2.9180] [PMID]

[18] Post A, Guiraud I, Peeters M, Lompo P, Ombelet S, Karama I, et al. Escherichia Coli From Urine Samples of Pregnant Women as an Indicator for Antimicrobial Resistance in the Community: a Field Study From Rural Burkina Faso. 2021. [10.1186/s13756-022-01142-7] [PMID]

[19] Amiri M, Farzin H, Jamshidian-Mojaver M. Phenotypic and Genotypic Study of Antibiotic Resistance among Escherichia coli Isolates from Human Urinary Infection Cases in Bojnord Province. Avicenna Journal of Clinical Medicine. 2019 Dec 15;26(3):173-80. [Link]

[20] Barari Sawadkouhi R, Sorkhi H, Pournasrollah M, Bijani A, Babazadeh N, Baleghi Damavandi S. Antibiotic resistance of bacteria causing urinary tract infections in children hospitalized in Amirkola Children Hospital during 2010-2011. Journal of Babol University of Medical Sciences. 2013 Sep 10;15(5):89-94 [Link]

[21] Hosseini F. Antibacterial evaluation of Vancomycin/Trimethoprim combination on beta-lactamase resistant genes of Escherichia coli isolated from patients with urinary tract infection referring to the Shahid Rajaii hospital of Gachsaran. Islamic Azad University Gachsaran Branch. 2018. [Link]

[22] Mansouri S, Neyestanaki DK, Shokoohi M, Halimi S, Beigverdi R, Rezagholezadeh F, Hashemi A. Characterization of AmpC, CTX-M and MBLs types of β-lactamases in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli producing extended spectrum β-lactamases in Kerman, Iran. Jundishapur journal of microbiology. 2014 Feb;7(2). [10.5812/jjm.8756] [PMID]

[23] Kandakai-Olukemi YT, Mawak JD, Onojo MM. Isolation of enteropathogenic Escherichia coli from children with diarrhoea attending the national hospital in Abuja, Nigeria. Shiraz E-Medical Journal. 2009 Aug 31;10(3). [Link]

[24] Heidari-soureshjani E, Heidari M, Doosti A. Epidemiology of urinary tract infection and antibiotic resistance pattern of E. coli in patients referred to Imam Ali hospital in Farokhshahr, Chaharmahal va Bakhtiari, Iran. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences. 2013 May 15;15(2):9-15. [Link]

[25] Kumar D, Singh AK, Ali MR, Chander Y. Antimicrobial susceptibility profile of extended spectrum β-lactamase (ESBL) producing Escherichia coli from various clinical samples. Infectious Diseases: Research and Treatment. 2014 Jan;7:IDRT-S13820. [10.4137/IDRT.S13820] [PMID]

[26] Habeeb MA, Haque A, Nematzadeh S, Iversen A, Giske CG. High prevalence of 16S rRNA methylase RmtB among CTX-M extended-spectrum β-lactamase-producing Klebsiella

pneumoniae from Islamabad, Pakistan. International journal of antimicrobial agents. 2013 Jun 1;41(6):524-6. [10.1016/j.ijantimicag.2013.02.017] [PMID]

[27] Mohammed H, Elsadek Fakhr A, Al Johery SA, Abdel Ghani Hassanein W. Spread of TEM, VIM, SHV, and CTX-M β-lactamases in imipenem-resistant Gram-negative bacilli isolated from Egyptian hospitals. International Journal of Microbiology. 2016 Mar 31;2016. [10.1155/2016/8382605] [PMID]

[28] Liao K, Chen Y, Wang M, Guo P, Yang Q, Ni Y, Yu Y, Hu B, Sun Z, Huang W, Wang Y. Molecular characteristics of extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae causing intra-abdominal infections from 9 tertiary hospitals in China. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2017 Jan 1;87(1):45-8. [10.1016/j.diagmicrobio.2016.10.007] [PMID]

[29] Malande OO, Nuttall J, Pillay V, Bamford C, Eley B. A ten-year review of ESBL and non-ESBL Escherichia coli bloodstream infections among children at a tertiary referral hospital in South Africa. PloS one. 2019 Sep 24;14(9):e0222675. [10.1371/journal.pone.0222675] [PMID]

[30] Jena J, Sahoo RK, Debata NK, Subudhi E. Prevalence of TEM, SHV, and CTX-M genes of extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli strains isolated from urinary tract infections in adults. 3 Biotech. 2017 Aug;7:1-7. [10.1007/s13205-017-0879-2] [PMID]