Original Article

Evaluation of CTX-M-1 Beta Lactamase Gene in Escherichia coli Isolated from the Urine Tract Infections of Patients by PCR Method

Simin Saadatmand[1], Zahra Haji Gholami Esfahani[1], Mohammad Dakhili[2], Reza Yari[3]*

[1]*Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.*

[2]*Department of Laboratory Sciences, Faculty of Medicine, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.*

[3]*Department of Biology, Faculty of Sciences, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran.*

[*]***Corresponding Author:*** **Zahra Haji Gholami Esfahani**, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

Email: z.hajigholami90@yahoo.com

Received: 30 May, 2016

Accepted: 18 Jul, 2016

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 9:44 IRST on Tuesday November 21st 2017

Abstract

Background and Objectives: Pathogenic bacteria, such as *Escherichia coli* are dangerous for human population due to acquisition of resistance genes to beta-lactam antibiotics. This resistance is due to extended spectrum β lactamase (ESBL) genes, which are caused by plasmids, transposons, and/or mutation. The main cause of resistance to beta-lactam antibiotics is lactamase enzymes. In this study, the frequency of ESBL producing *E. coli* and molecular detection of CTX-M-1 gene, were investigated.

Methods: In this descriptive cross-sectional study, 58 *E. coli* samples isolated from patients with urinary tract infection, were identified using standard biochemical tests. Then, drug susceptibility test was performed using standard disk diffusion method (Kirby-Bauer). In the following, combined disk test was performed to identify ESBL producing strains among the resistant isolates. Plasmid DNA was extracted from ESBL-producing strains and CTX-M-1 genes were detected using PCR.

Results: Out of 58 *E.coli* strains, 28 strains (48.27%), were ESBLs producer, which in the molecular analysis, 20 strains (71.42%) had CTX-M-1 gene.

Conclusion: The results of the preset study is indicative of a high percentage of beta-lactamase resistance among *E. coli* strains. Considering the high percentage of antibiotic resistance, precise antibiogram testing is necessary in infections caused by ESBL-producing organisms.

Keywords: *Escherichia coli*; Drug resistance, Microbial; Polymerase chain reaction.

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره یازدهم، شماره ششم، شهریور ۹۶
صفحه ۲۸ الی ۳۵

مقاله پژوهشی
(Original Article)

ارزیابی ژن مقاومت بتالاکتاماز CTX-M-1 در *اشرشیاکلی‌های* جداشده از عفونت‌های ادراری، با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

سیمین سعادتمند[۱]، زهرا حاجی‌غلامی اصفهانی[۱*]، محمد دخیلی[۲]، رضا یاری[۳]

چکیده

زمینه و هدف: باکتری‌های بیماری‌زا مانند *اشرشیاکلی* به‌علت دریافت ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، برای جامعه بشری خطرناک هستند. این مقاومت به‌علت ژن‌های ESBL بوده که توسط پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و یا موتاسیون ایجاد می‌شود. مهم‌ترین عامل مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام؛ آنزیم‌های بتالاکتامازی می‌باشد. در این مطالعه، میزان فراوانی باکتری‌های *اشرشیاکلی* تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف و شناسایی ژن CTX-M-1 به‌روش مولکولی بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی - مقطعی، ۵۸ نمونه *اشرشیاکلی* جداشده از بیماران با عفونت ادراری با تست‌های بیوشیمیایی استاندارد تشخیص داده شدند. سپس با استفاده از روش استاندرد انتشار دیسک (Kirby-Bauer)، آزمون حساسیت دارویی انجام شد. در ادامه، به‌منظور شناسایی سویه‌های مولد ESBL در ایزوله‌های مقاوم، تست Combined disk صورت گرفت. از سویه‌های مولد ESBL؛ DNA پلاسمیدی، استخراج و ژن CTX-M-1 با استفاده از PCR شناسایی شد.

یافته‌ها: از مجموع ۵۸ سویه *اشرشیاکلی* مورد بررسی، ۲۸ سویه (۴۸/۲۷٪) مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف بودند که در بررسی مولکولی، ۲۰ سویه (۷۱/۴۲٪) حاوی ژن CTX-M-1 بود.

نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاضر، نشان‌دهنده درصد بالای مقاومت بتالاکتامازی در بین سویه‌های *اشرشیاکلی* می‌باشد. با توجه به درصد بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی، انجام دقیق آزمایشهای آنتی‌بیوگرام در عفونت‌های ناشی از ارگانیسم‌های تولیدکننده ESBL ضروری است.

کلید واژه‌ها: *اشرشیاکلی*؛ مقاومت دارویی میکروبی؛ واکنش زنجیره‌ای پلیمراز.

[۱]گروه میکروب‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران.

[۲]گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده علوم پایه، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران

[۳]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
زهرا حاجی‌غلامی اصفهانی، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
z.hajigholami90@yahoo.com

تاریخ دریافت:۹۵/۳/۹

تاریخ پذیرش:۹۵/۴/۲۷

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

**Saadatmand S, Haji Gholami Esfahani Z, Dakhili M. Evaluation of CTX-M-1 Beta Lactamase Gene in Escherichia Coli isolated from the urine tract infections of patients by PCR method.
Qom Univ Med Sci J 2017;11(6):28-35. [Full Text in Persian]**

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 9:44 IRST on Tuesday November 21st 2017

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 9:44 IRST on Tuesday November 21st 2017

مقدمه

امروزه نگرانی عمده در جوامع بشری، ایجاد مقاومت‌های دارویی در باکتری‌های بیماری‌زا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد که نقش مهم و اساسی در عدم کنترل و درمان عفونت‌های باکتریایی دارند (۱). *اشرشیاکلی*، یکی از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های ادراری در جامعه محسوب می‌شود که به‌علت دارا بودن مکانیسم‌های متعدد، ازجمله دریافت ژن‌های مقاومت از طریق پلاسمید، ترانسپوزون و یا موتاسیون، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم است (۲). طی چنددهه اخیر، به دلیل استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، بتالاکتامازهای مختلف ظاهر شده‌اند.آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام با اتصال به پروتئین باندشونده به پنی‌سیلین که در دیواره سلولی باکتری می‌باشد سبب مهار ترنس پپتیدازها، تخریب پپتید و گلیکان و درپی آن تخریب دیواره سلول و در نتیجه از بین رفتن باکتری می‌شوند (۴،۳).

آنزیم بتالاکتاماز، آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام را قبل رسیدن به PBPs در غشای سلولی، هیدرولیز و غیرفعال می‌کنند (۵). بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف، دسته‌ای از آنزیم‌ها هستند که به‌وسیله باسیل‌های گرم منفی، تولید و اهمیت ویژه‌ای در درمان ضدمیکروبی دارند. در تقسیم‌بندی که توسط Bush، Jakobi و Modirus صورت گرفت، بتالاکتامازها به ۴ کلاس مولکولی A, B, C, D تقسیم‌بندی شدند (۶). بیشترین میزان تولید این آنزیم‌ها، به‌وسیله *کلبسیلا پنومونیه* و *اشرشیاکلی* صورت می‌گیرد؛ البته این آنزیم‌ها در سایر جنس‌های انتروباکتریاسه مانند *انتروباکتر*، *سیتروباکتر*، *سراشیا*، *پروتئوس* و *سالمونلا* نیز مشاهده شده است (۷). بتالاکتامازهای رده A, C, D دارای اسیدآمینه سرین در سایت فعال خود می‌باشند و کلاس B برای انجام عملکرد، نیازمند عنصر روی بوده و متالوبتالاکتاماز محسوب می‌شود (۸). آنزیم‌های وسیع‌الطیف برای اولین‌بار در دهه ۱۹۸۰ شناسایی شدند. این آنزیم‌ها در گروه A قرار دارند و بیشتر از نوع SHV و TEM بوده که در نتیجه جهش‌های نقطه‌ای از آنزیم‌های اصلی فاقد فعالیت وسیع‌الطیف ایجاد شده‌اند. این آنزیم‌ها به‌طور معمول به‌وسیله پلاسمیدها کد می‌شوند که این پلاسمیدها ژن‌های مقاومت به دیگر کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی مانند آمینوگلیکوزیدها را نیز حمل می‌کنند (۹).

خانواده CTX-M، اولین‌بار (سال ۱۹۸۹) در کشور آلمان گزارش شد. این خانواده به پنج گروه CTX-M1 CTX-M25, CTX-M9, CTX-M2CTX-M8, تقسیم‌بندی می‌شود. بتالاکتامازهای CTX-M، ارتباط ژنتیکی کمی با اعضای بتالاکتامازهای TEM و SHV دارند و به‌طور گسترده از طریق پلاسمیدهای ESBL فاقد TEM و SHV، منتشر می‌شوند (۱۰). بتالاکتامازهای CTX-M، متعلق به گروه A هستند. *اشرشیاکلی* ازجمله باکتری‌هایی است که قادر به تولید آنزیم ESBL می‌باشد. این باکتری، عضو خانواده انتروباکتریاسه و عامل بسیاری از عفونت‌های بیمارستانی از قبیل سپسیس، مننژیت نوزادی، گاستروانتریت و عفونت ادراری شناخته شده که به‌علت اکتساب پلاسمیدهای کدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مثل سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف مقاوم شده‌اند. از این‌رو درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری با مشکل روبه‌رو شده است (۱۲،۱۱).

این مطالعه با هدف تعیین الگوی مقاومت سویه‌های *اشرشیاکلی* جداشده از بیماران با عفونت ادراری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان و ردیابی سویه‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف تیپ CTX-M-1، با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی - مقطعی، تعداد ۴۷۸ نمونه ادراری از آزمایشگاه‌های سطح استان قم از اردیبهشت‌ماه سال ۱۳۹۳ تا خردادماه سال ۱۳۹۴ جمع‌آوری شد. بعد از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه و کشت روی محیط بلاد آگار و مک‌کانکی آگار، انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت صورت گرفت. پس از انجام تست‌های بیوشیمیایی (از قبیل MR، VP، سیمون سیترات، اوره‌آز، TSI، SIM) بر روی کلنی‌ها، تعداد ۵۸ ایزوله *اشرشیاکلی* شناسایی گردید. مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها با انجام تست آنتی‌بیوگرام از طریق روش کربی - بایر مطابق با دستورات مؤسسه استانداردهای آزمایشگاهی بالینی CLSI و با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک تهیه‌شده از شرکت‌های مدیا شامل: سفتیزوکسیم (۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)،

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 9:44 IRST on Tuesday November 21st 2017

سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، سفالوتین (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، نیتروفورانتوئین (۵۰ میکروگرم)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۲۵ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۳۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، نورفلوکساسین (۱۰ میکروگرم) و اریترومایسین (۱۰ میکروگرم)، تعیین گردید (۱۳). برای تعیین باکتری‌های مولد بتالاکتاماز نیز از آزمایش تأییدی CLSI استفاده شد. پس از تهیه کشت خالص و یکنواخت بر روی محیط مولر هینتون آگار؛ دیسک‌های سفتازیدیم، سفتازیدیم – کلاونیک‌اسید و سفوتاکسیم، سفوتاکسیم - کلاونیک اسید با فاصله ۱۵ میلی‌متر روی سطح محیط قرار داده شدند.

تولید ESBL از طریق افزایش قطر هاله به اندازه ۵ میلی‌متر و یا بیشتر در اطراف دیسک سفتازیدیم، سفتازیدیم - کلاونیک اسید و سفوتاکسیم، سفوتاکسیم - کلاونیک اسید؛ براساس CSLI تعیین گردید. از سویه *اشرشیاکلی* ATCC25922، برای کنترل کیفی آنتی‌بیوگرام استفاده شد.

نمودار با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Excel 2012 رسم گردید.

برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، DNA ایزوله‌ها به‌وسیله روش Boiling استخراج شد. همچنین به‌منظور بررسی فراوانی ژن بتالاکتامازی CTX-M-1 در طی فرآیند PCR، از یک‌جفت پرایمر اختصاصی (ساخت شرکت سیناکلون) استفاده گردید (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR

نام پرایمر	توالی نوکلئوتیدی
CTX-M-1-F	5'- GCGGAAAAGCACGTCAATGGG -3'
CTX-M-1-R	5'- GCCAGATCACCGCGATATC -3'

واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل: $1/5mM\ MgCl_2$، 0/5µl dNTP، 0/5µl Taq DNA polymerase، ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X، ۵ میکرولیتر پرایمر، ۲ میکرولیتر DNA الگو، ۱۳ میکرولیتر آب مقطر در طی ۴۰ سیکل تحت برنامه زمانی شامل: مرحله اولیه بازشدن دو رشته DNA به مدت ۱ دقیقه در دمای ۹۶ درجه سانتیگراد، مرحله باز شدن دو رشته DNA به مدت ۱ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، مرحله اتصال پرایمرها به مدت ۱ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد، مرحله طویل شدن رشته هدف به مدت ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد ، مرحله طویل شدن نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد انجام شد.

نتیجه PCR برای شناسایی قطعات اختصاصی با اندازه ۴۲۷bp بعد از الکتروفورز مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها

از مجموع ۴۷۸ نمونه ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری مورد بررسی، ۵۸ سویه *اشرشیاکلی* جدا شد و به‌وسیله آزمون‌های بیوشیمیایی، تأیید و تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی روی آنها انجام گرفت.

جدول شماره ۲، الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش نشان می‌دهد.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 9:44 IRST on Tuesday November 21st 2017

جدول شماره ۲: مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های مورد مطالعه

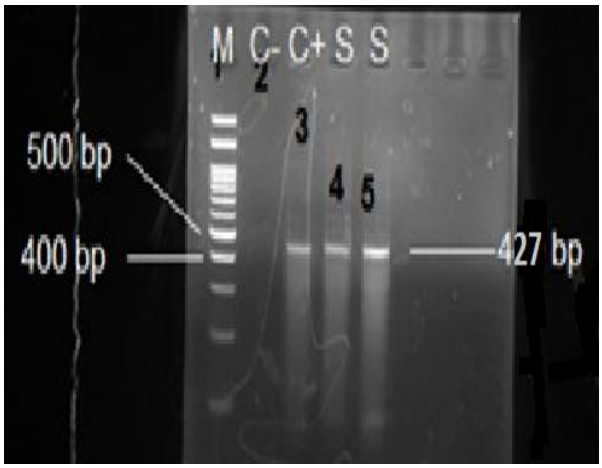
آنتی‌بیوتیک	نام اختصاری	حساس (درصد)	نیمه‌حساس (درصد)	مقاوم (درصد)
آمپی‌سیلین	AM	۳۵	۵	۶۰
کلرامفنیکل	C	۵۷	۲۱	۲۲
سفتازیدیم	CAZ	۷۶	۷	۷۱
سفالوتین	CF	۲۸	۲۲	۵۰
سیپروفلوکساسین	CP	۵۵	۱۲	۳۳
سفتی‌زوکسیم	CT	۶۰	۲۶	۱۴
سفوتاکسیم	CTX	۵۳	۱۴	۳۳
اریترومایسین	E	۱۴	۳۴	۵۲
نیتروفورانتوئین	FM	۸۱	۵	۱۴
جنتامایسین	GM	۶۵	۷	۲۸
ایمی‌پنم	IPM	۷۸	۰	۲۲
نالیدیکسیک اسید	NA	۴۸	۱۰	۴۱
نورفلوکساسین	NOR	۷۱	۵	۲۴
کوتریموکسازول	SXT	۵۶	۳	۴۱

نتایج حاصل از Combined disk نشان داد از میان ۵۸ ایزوله *اشرشیاکلی*، ۲۸ نمونه مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف بوده‌اند (شکل شماره ۱). پس از تعیین جدایه‌های مولد ESBL، DNA پلاسمیدی آنها استخراج شد.

براساس آزمایش PCR با استفاده از پرایمر اختصاصی و باکتری کنترل مثبت، از تعداد ۲۸ ایزوله ESBL مثبت، ۲۰ نمونه دارای ژن CTX-M-1 بودند (شکل شماره ۲).

شکل شماره ۱: تشخیص فنوتیپی مولدین ESBLs مثبت.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 9:44 IRST on Tuesday November 21st 2017



شکل شماره ۲: ژل آگارز حاوی نمونه‌های PCR ژن CTX-M-1 در *اشرشیاکلی*.
۱) مارکر bp۱۰۰۰؛ ۲) کنترل منفی برای CTX-M-1؛ ۳) کنترل مثبت برای CTX-M-1؛ ٤ و ٥) ایزوله بالینی مثبت برای CTX-M-1.

بحث

امروزه، استفاده وسیع از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام باعث گسترش آنزیم‌های ESBL، همچنین افزایش شیوع آنزیم ESBL در *اشرشیاکلی* که شایع‌ترین عامل عفونت ادراری می‌باشد، شده است (۱۴). پلاسمیدهای حمل‌کننده ESBLها، به‌سهولت بین سویه‌ها و گونه‌های مختلف باسیل‌های گرم منفی روده‌ای منتقل می‌شوند. همچنین ارگانیسم‌هایی که این ژن را در خود حمل می‌کنند سبب افزایش بیماری‌زایی و مرگ و میر در بین افراد می‌شوند (۱). آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف، دسته‌ای از آنزیم‌های بتالاکتامازی هستند که در درمان ضدمیکروبی اهمیت ویژه‌ای دارند. امروزه، تولید این آنزیم‌ها به‌عنوان یکی از معضلات بهداشت عمومی خود را نمایان ساخته و از خطرهای جدی در درمان عفونت‌های دارای مقاومت چندگانه می‌باشد که به سرعت در سراسر جهان گسترش یافته است (۱۵). در سالهای اخیر، آنزیم CTX-M به‌عنوان شایع‌ترین نوع ESBL در اروپا و امریکای شمالی گزارش شده، در ایران و شهرهای مختلف آن نیز مطالعاتی در این مورد صورت گرفته است (۱۶). در مطالعه حاضر، از میان ۵۸ ایزوله *اشرشیاکلی*، ۲۸ نمونه (۴۸/۲۷٪)، مولد ESBL و ۲۰ مورد (۷۱/۴۲٪) دارای ژن CTX-M-1 بودند. در مطالعه مشابهی (سال ۲۰۱۱)، Soltan Dallal و همکاران در بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی وسیع‌الطیف در ۲۰۰ *اشرشیاکلی* توانستند باکتری‌های مولد ESBL را شناسایی کنند که ۱۲۸ نمونه (۶۴٪)، ESBL و ۷۷/۳۴٪ آنها حاوی ژن CTX-M بودند (۱۷).

Shahid و همکاران، شیوع ژن CTX-M را در ۹۳ نمونه *اشرشیاکلی* مورد بررسی قرار دادند که ۷۲ نمونه (۷۷/۴٪) مثبت بودند (۱۸). Mirzaea و همکاران (سال ۲۰۰۹)، با بررسی باکتری *اشرشیاکلی* جداشده از بیمارستان‌های تهران از نظر تولید بتالاکتامازهای CTX-M با روش PCR نشان دادند ۳۷/۸٪ نمونه‌ها مثبت بوده‌اند (۱۹). در مطالعه‌ای‌که توسط Burcu Bali و همکاران صورت گرفت از میان ۴۴ نمونه *اشرشیاکلی*، ۱۰ نمونه (۲۲/۷۲٪) حاوی ژن CTX-M بودند (۲۰). در تحقیقی‌که توسط Soltan Dallal انجام شد، مشخص گردید از ۱۸۸ *اشرشیاکلی* جداشده از نمونه‌های ادراری بیمارستان‌های تبریز، ۸۴/۱٪ جدایه‌ها حاوی ژن بتالاکتاماز تیپ CTX-M می‌باشند (۲۱).

نتیجه‌گیری

مقایسه نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق حاضر با مطالعات انجام‌شده در سالهای اخیر نشان می‌دهد باکتری *اشرشیاکلی* تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف، به‌خصوص تیپ CTX-M با سرعت بیشتری در حال افزایش است که جهت کنترل این آنزیم‌ها نیاز به شناسایی ESBLها توسط آزمایشگاه‌ها و تجویز مناسب داروهای بتالاکتام می‌باشد، همچنین پیشنهاد می‌گردد ژن‌های دیگر مسئول در ایجاد مقاومت نیز بررسی شوند.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 9:44 IRST on Tuesday November 21st 2017

References:

1. Al-Jasser AM. Extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs): A global problem. Kuwait Med J 2006;38(3):171-85.

2. Sanchez U, Bello T, Dominguez Y, Mella M, Zemelman Z, Gonzalez R. Transference of extended-spectrum beta-lactamases from nosocomial strains of Klebsiella pneumoniae to other species of Enterobacteriaceae. Rev Med Chil 2006;134(4):415-20.

3. Livermore DM. beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev 1995;8(4):557-84.

4. Medeiros A, Mayer KH, Opal SM. Plasmid-mediated beta-lactamases. Antimicrob Newsl 1988;5(9):61.

5. Falagas M, Karageorgopoulos DE. Extended-spectrum β-lactamase-producing organisms. J Hosp Infec 2009;73(4):345-54.

6. Howard C, Van Daal A, Kelly G, Schooneveldt J, Nimmo G, Giffard PM. Identification and minisequencing-based discrimination of SHV β-lactamases in nosocomial infection-associated Klebsiella pneumoniae in Brisbane, Australia. Antimicrob Agents Chemother 2002;46(3):659-64.

7. Bradford PA. Extended-spectrum β-lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. J Clin Microbiol 2001;14(4):933-51.

8. Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new β-lactamases. N Engl J Med 2005;352(4):380-91.

9. Raveh D, Yinnon AM, Broide E, Rudensky B. Susceptibilities of ESBL-producing Enterobacteriaceae to ertapenem, meropenem and piperacillin-tazobactam with and without clavulanic acid. Chemother 2007;53(3):185-9.

10. Medeiros AA. Nosocomial outbreaks of multiresistant bacteria: Extended-spectrum beta-lactamases have arrived in North America. Ann Intern Med 1993;119(5):428-30.

11. Hadziyannis E, Tuohy M, Thomas L, Procop GW, Washington JA, Hall GS. Screening and confirmatory testing for extended spectrum β-lactamases (ESBL) in Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, and Klebsiella oxytoca clinical isolates. Diagn Microbiol Infect Dis 2000;36(2):113-7.

12. Yagi T, Wachino J-i, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K, Doi Y, et al. Practical methods using boronic acid compounds for identification of class C β-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli. J Clin Microbiol 2005;43(6):2551-8.

13. Wikler MA. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Sixteenth informational supplement: Clin Lab Stand Inst 2015;35(3):M100-S25.

14. Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. Am J Med 2006;119(6 Suppl 1):S20-8;discussion S62-70.

15. Poirel L, Weldhagen GF, Naas T, De Champs C, Dove MG, Nordmann P. GES-2, a Class A β-Lactamase from Pseudomonas aeruginosa with increased hydrolysis of Imipenem. Antimicrob Agents Chemother 2001;45(9):2598-603.

16. Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, et al. CTX-M: Changing the face of ESBLs in Europe. J Antimicrob Chemother 2007;59(2):165-74.

17. Soltan Dallal M, Mobasseri G, Fallah Mehrabadi J, Eshraghian M, Rastegar Lari A, Molla Aghamirzaei H. Detection of CTX-M-1 beta lactamase gene in Escherichia coli isolated from clinical samples by Polymerase Chain Reaction (PCR). Tehran Univ Med J 2011;69(1):16-21. [Full Text in Persian]

18. Shahid M, Monil S, Abida M, Indu S, Khan H. ESBL phenotypes and prevalent genotype of CTX-M type beta lactamases in clinical isolates of E. coli in a North Indian tertiary care hospital. Proceed Microcon 2006:70.

19. Mirzaee M, Pourmand M, Chitsaz M, Mansouri S. Antibiotic resistance to third generation cephalosporins due to CTX-M-Type extended-spectrum β-lactamases in clinical isolates of Escherichia coli. Iran J Pub Health 2009;38(1):10-7.

20. Bali EB, Acik L, Sultan N. Phenotypic and molecular characterization of SHV, TEM, CTX-M and extended-spectrum beta-lactamase produced by Escherichia coli, Acinobacter baumannii and Klebsiella isolates in a Turkish hospital. Afr J Microb Res 2010;4(8):650-4.

21. Soltan Dallal M, Azarsa M, Shirazi MH, Owlia P, Sabbaghi A, Shamkani F, et al. The prevalence of extended-spectrum beta-lactamases and CTX-M-1 producing Escherichia coli in urine samples collected at Tabriz city Hospitals. Tehran Univ Med J 2011;69(5):273-8. [Full Text in Persian]

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 9:44 IRST on Tuesday November 21st 2017