

## شیوع ژن بتالاکتاماز CTX-M-3 در نمونه های مختلف بالینی کلبسیلاپنومونیه در شهرستان ساری

محمد آهنگان<sup>۱</sup>، مریم عبدالهی<sup>۲</sup>، بهنام هاشمی<sup>۳\*</sup>، عیسی نظر<sup>۴</sup>، ظاهر مرسل جهان<sup>۵</sup>

(۱) گروه میکروبی شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

(۲) کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

(۳) کمیته تحقیقات دانشجویی، گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۱۲

### چکیده

**مقدمه:** مصرف روزافزون مواد ضد میکروبی بتالاکتام در درمان عفونت های باکتریایی سبب افزایش مقاومت بر علیه آن ها شده است. هم اکنون یکی از معضلات درمان عفونت های بیمارستانی مقاومت آنزیمی به بتالاکتاماز های وسیع الطیف در میان ایزوله های بالینی به ویژه کلبسیلاپنومونیه می باشد. طی یک دهه گذشته آنزیم های نوع CTX-M شایع ترین نوع بتالاکتاماز های وسیع الطیف را در اروپا کانادا و آسیا را به خود اختصاص داده اند. هدف از این مطالعه بررسی میزان فراوانی باکتری های کلبسیلاپنومونیه تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع الطیف و شناسایی ژن CTX-M-3 به روش مولکولی بود.

**مواد و روش ها:** طی یک دوره ۹ ماهه، ۱۳۰ ایزوله کلبسیلاپنومونیه از نمونه های بالینی مختلف (ادرار، خون، زخم) بیماران عفونی بیمارستان امام خمینی شهرستان ساری جدا گردید و حساسیت آن ها به ۹ آنتی بیوتیک مورد استفاده در برابر باکتری های گرم منفی به روش دیسک دیفیوژن آگار سنجیده شد. ایزوله های تولیدکننده (ESBL) extended-spectrum beta-lactamases، با استفاده از روش دیسک ترکیبی مشخص گردیده و سپس سوبه های تولیدکننده آنزیم CTX-M-3 با روش PCR شناسایی شد.

**یافته های پژوهش:** ۴۸ (۳۶/۸ درصد) ایزوله کلبسیلاپنومونیه تولیدکننده بتالاکتاماز های وسیع الطیف (ESBL) بودند و از میان آن ها ۲۲ (۱۶/۹ درصد) مورد حاوی ژن CTX-M-3 بودند.

**بحث و نتیجه گیری:** مطالعه ما نشان داد که شیوع تولید بتالاکتاماز های وسیع الطیف در ایزوله های مقاوم به کینولون ها در کشور ما در مقایسه با کشورهای پیشرفته بالاتر می باشد.

**واژه های کلیدی:** بتالاکتاماز های وسیع الطیف، کلبسیلاپنومونیه، CTX-M-3

\*نویسنده مسئول: کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

Email: behnam.hashemi02@gmail.com

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

## مقدمه

کلبسیلاپنومونیه، یک باکتری گرم منفی و عامل پنومونی، هم چنین یکی از عوامل مهم ایجادکننده عفونت های بیمارستانی در ایجاد بیماری های مهمی از جمله عفونت مجاری ادراری در افراد با سیستم ایمنی ضعیف شده نقش مهمی دارد (۱). آنتی بیوتیک های بتالاکتاماز از شایع ترین داروهایی هستند که برای درمان این عفونت ها از عوامل ضد میکروبی انتخاب و تجویز می شوند. از ویژگی مشترک این دارو ها، وجود حلقه بتالاکتام در ساختمان شیمیایی آن ها است، پنی سیلین ها، سفالوسپورین ها و کارباپنم ها از خانواده آنتی بیوتیک های بتالاکتام می باشند (۳،۲). تولید بتالاکتاماز مهم ترین مکانیسم مقاومت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام می باشد که عملکرد این داروها را به طور قابل توجهی کاهش داده است (۳،۲). این آنزیم ها یک اتصال آسپیل کووالانت را از طریق گروه کربوکسیل حلقه بتالاکتام به وجود می آورند که حاصل آن باز شدن حلقه بتالاکتام و غیر فعال شدن دارو می باشد (۴). بتالاکتامازهای با واسطه پلاسمید بیشتر شایع تر است و در باکتری های گرم منفی مقاومت به پنی سیلین ها و سفالوسپورین های نسل اول و نسل دوم (به جز Cefuroxim, Cephamycin) نسل سوم و نسل چهارم و یا بتالاکتام های جدیدتر شامل کارباپنم ها یا آرترونام را به دنبال دارد (۵). بتالاکتامازهای وسیع الطیف آنزیم هایی هستند که محدوده طیف اثر وسیعی بر روی پنی سیلین ها و سفالوسپورین ها و آرترونام ها دارند اما این آنزیم ها تاثیری بر روی سفامیسین ها یا کرباپنم ها ندارند (۵). مهارکننده های بتالاکتاماز (کلاولانیک اسید، سولباکتام و تازوباکتام) معمولاً توانایی مهار بتالاکتاماز مشتق از پلاسمید را ندارند TEM-1 اولین آنزیم بتالاکتامازی می باشد که در باکتری های گرم منفی در سال ۱۹۶۰ مشخص گردید. با گذشت زمان وجود این بتالاکتاماز از سراسر جهان گزارش گردید و در اکثر باکتری های خانواده انتروباکتریاسه هم یافت می شود (۶). در حالت کلی می توان گفت که شایع ترین ESBL گزارش شده از کشورهای غربی و آسیایی، بتالاکتامازهای وسیع الطیف می باشد که بر روی SHV و TEM

مشتق شده از پلاسمیدهای بزرگ قرار دارند و سویه های مقاوم به درمان را ایجاد می کنند (۷،۸). اخیراً بیشتر ESBL های نظیر آنزیم های وابسته به تیپ CTX-M، در اغلب مناطق جغرافیایی به طور وسیع، تعیین هویت شده اند. از بررسی هایی که انجام شده است مشخص شده که این بتالاکتاماز ترجیحاً سفوتاکسیم را بهتر از سفتازیدیم هیدرولیز می نماید. بتالاکتامازهای CTX-M به طور فزاینده ای در اشریشیاکلی و کلبسیلاپنومونیه شایع هستند (۹،۱۰). این آنزیم ها بر اساس تغییرات اسید آمینه به پنج گروه اصلی- CTX-M1, CTX-M2, CTX-M25 CTX-M1, CTX-M2, CTX-M3, CTX-M8, CTX-M9 تقسیم می شوند؛ که آنزیم CTX-M3 در گروه CTXM-1 قرار دارد (۱۱). تیپ های CTX-M-2 و CTX-M-3 در سراسر جهان شیوع بیشتری دارند و در اکثر کشورهای مختلف جهان، تیپ های غالب می باشند. هم چنین در فرانسه ایزوله های تولیدکننده CTX-M-3 از انتروباکتریاسه گزارش گردیده است (۱۲،۱۳) بنا بر اهمیت موضوع، هدف از انجام این پژوهش ارزیابی CTX-M-3 در ایزوله های کلبسیلاپنومونیه، در شهرستان ساری می باشد.

## مواد و روش ها

ابتدا تعداد ۳۰۰ نمونه بالینی مختلف از جمله ادرار، زخم و خون طی ۷ ماه از اسفند ۱۳۹۳ تا شهریور ۱۳۹۴ از بیمارستان های آموزشی امام خمینی و بوعلی در شهر ساری جمع آوری گردید. سپس نمونه ها بر روی محیط کشت بلاد آگار و ائوزین متیلن بلو (مرک، آلمان) کشت داده شدند. سپس از طریق تست های بیوشیمیایی از قبیل سیمون سیترات (مرک، آلمان)، اوره از (مرک، آلمان)، لیزین دکربوکسیلاز (مرک، آلمان)، TSI (مرک، آلمان)، SIM (مرک، آلمان)، MR/VP (مرک، آلمان) که بر روی کلنی ها انجام گرفت، ۱۳۰ ایزوله کلبسیلاپنومونیه شناسایی شد. باکتری های جداسازی شده بعد از تشخیص در محیط تریپتی کیز سوی برات حاوی ۲۰ درصد گلیسرول در ۸۰- درجه سانتی گراد تا زمان انجام آزمون های بعدی ذخیره شدند.

ارزیابی حساسیت ضد میکروبی: حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی تمامی سویه ها به روش دیسک آگاردیفیوژن (Kirby-Bauer) و با استفاده از دیسک های آنتی بیوتیکی تهیه شده از شرکت پادتن طب شامل کوتریموکسازول، سفکسیم، جنتامایسین، آمپی سیلین، سفتریامکسون، سیپروفلوکسازین، سفوتاکسیم، مروپنم تعیین گردید. به این صورت که به فاصله حداقل ۲/۵ سانتی متر از یکدیگر در محیط مولر هینتون آگار قرار گرفتند. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوباسیون هاله عدم رشد در اطراف دیسک ها اندازه گیری و با استانداردهای جهانی (CLSI) مقایسه و به صورت مقاوم (R) نیمه حساس (I) حساس R گزارش گردیدند (۱۴).

ارزیابی تولید آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف: برای بررسی ارگانسیم های تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف، به پیشنهاد سازمانی جهانی CLSI از روش Combined disk استفاده شد (۱۴). ابتدا با استفاده از کشت خالص باکتری ها سوسپانسیونی به کدورت ۰/۵ مک فارلند تهیه و سپس با سوپ استریل بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شدند. سپس دیسک های سفنازیدیم ۳۰ میکروگرم، سفنازیدیم-کلاولانیک اسید (۳۰-۱۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم) و سفوتاکسیم-کلاولانیک اسید (۳۰-۱۰ میکروگرم) به فاصله حداقل ۲/۵ سانتی متر از یکدیگر بر روی محیط قرار گرفتند. بعد از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، تولید ESBL از طریق افزایش قطر هاله عدم به اندازه ۵ میلی متر یا بیشتر در اطراف دیسک سفنازیدیم/کلاولونیک اسید یا سفوتاکسیم کلاولونیک اسید مشخص گردید. از باکتری های رشد یافته DNA ژنومیک به روش جوشاندن استخراج

گردید. بدین صورت که مقداری کلونی از این باکتری برداشته و در آب دیونیزه وارد و به مدت ۸ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد جوشانیده و سپس ویال ها به مدت ۵ دقیقه در دور rpm ۱۳۰۰۰ سانترفیوژ کرده (۱۵)، محلول رویی را به عنوان DNA الگو در ۲۰- درجه سلسیوس به منظور انجام PCR ذخیره شد. ایزوله هایی که از نظر تست تاییدی ESBL مثبت شدند، از نظر حضور ژن CTX-M-3 و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی مورد بررسی قرار گرفتند در جدول شماره ۱ مخلوط اصلی واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل: ۱۰۰ میکرومول dNTPs، ۵۰ پیکومول از هر پرایمر، ۲/۵ میلی مول در لیتر  $MgCl_2$ ، ۱ واحد آنزیم Tag و ۱ میکروگرم DNA الگو بود، برنامه دستگاه ترموسایکلر شامل: مرحله واسرشته شدن اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه که با ۳۰ سیکل ادامه می یابد. مرحله واسرشته شدن (Denaturation) در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال (Annealing) در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله طویل شدن (Elongation) در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله طویل شدن نهایی هم در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه ادامه می یابد (۱۶). در واکنش PCR، جهت کنترل کیفی تست از سوش کنترل مثبت ۷۰۰۶۰۳ Klebsiella pneumonia ATCC استفاده گردید. لازم به ذکر است که برای الکتروفورز از بافر TBE1X و ژل آگاروز ۱ درصد استفاده شد. هم چنین لدر استفاده شده در این مطالعه ۱۰۰ bp تهیه شده از شرکت تکاپوزیست می باشد. برای تجزیه و تحلیل نتایج از نرم افزار SPSS و آزمون  $X^2$  استفاده شد.

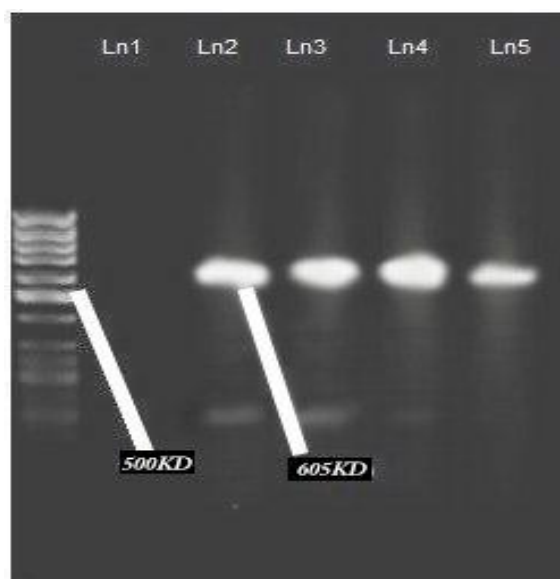
جدول شماره ۱. توالی پرایمرهای اختصاصی مورد استفاده جهت انجام آزمون PCR

نام پرایمر	توالی نوکلئوتیدی	اندازه محصول PCR
CTX-M-3-F	GCGATGTGCAGCACCAGTAA	605
CTX-M-3-R	GTTGAGGCTGGGTGAAGTA	605

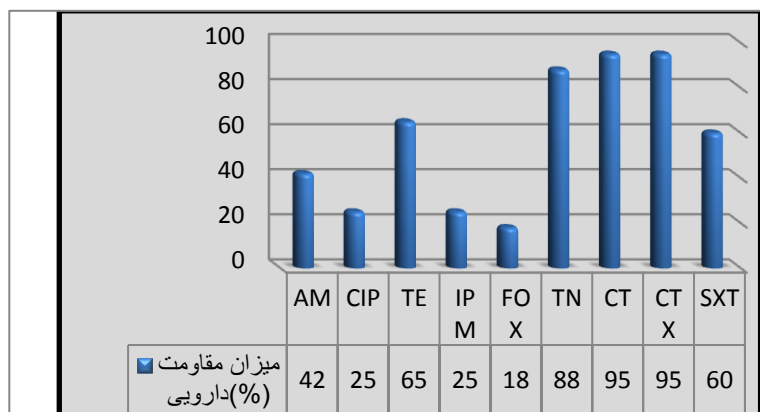
### یافته های پژوهش

از کل ۱۳۰ باکتری ایزوله شده ۱۰۲ باکتری از عفونت ادراری (۷۸/۴ درصد) ۱۱ مورد از عفونت زخمی (۸ درصد)، ۱۷ مورد از خون (۱۳ درصد) جداسازی گردید. از میان ۱۳۰ ایزوله کلبسیلا ۴۸ (۳۶/۸ درصد) نمونه مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف می باشد. لازم

به ذکر است که بیشترین مولدین آنزیم های بتالاکتامازی متعلق به نمونه های ادراری می باشد. ۵۲ مورد دارای مقاومت داروی چندگانه بودند (نمودار شماره ۱). در تست PCR، ۲۲ ایزوله (۴۵/۸ درصد) از سویه های مقاوم دارای بتالاکتامازهای وسیع الطیف از نوع CTX-M-3 بودند (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱. ژل آگاروز حاوی نمونه های PCR ژن CTX-M-3 در کلبسیلا پنومونیه  
lan1: کنترل منفی، lan 2, 3, 4: ایزوله های مثبت، lan 5: کنترل مثبت



نمودار شماره ۱. اطلاعات مربوط به درصد مقاومت دارویی

## بحث و نتیجه گیری

یکی از عوامل موثر در افزایش مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های بتالاکتاماز از جمله سفالوسپورین های وسیع الطیف، تولید آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف است (۱۶). هم چنین میزان تولید ESBL در میان انتروباکتریاسه در سراسر جهان متفاوت می باشد (۱۷). ایزوله های تولیدکننده ESBL می توانند به راحتی ژن های مقاومت را به وسیله پلاسمید از طریق انتقال افقی منتقل کرده و سبب ایجاد عفونت های بیمارستانی در بیمارستان ها گردند (۱۸). تولید آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف به عنوان یکی از خطرهای جدی در درمان عفونت های دارای مقاومت چندگانه در نظر گرفته می شود. از مهم ترین دلایل آن می توان به مصرف بی رویه آنتی بیوتیک های بتالاکتام اشاره کرد. هم چنین ارگانسیم هایی که این ژن ها را حمل می کنند می توانند باعث افزایش بیماریزایی در بین افراد گردند (۱۹). در مطالعه ای که انجام شد مشاهده گردید که ۳۸ مورد از ۱۳۰ نمونه کلبسیلاپنومونیه، واجد مقاومت چند دارویی می باشند. نمونه هایی نیز به آنتی بیوتیک هایی مانند سفکسیم، توپرا مایسین، و سفتی زوکسیم مقاوم بودند. در این مطالعه از ۱۳۰ ایزوله جدا شده، ۳۶/۸ درصد مولد آنزیم های بتالاکتاماز بودند که با مطالعه ای که در مشهد توسط نخعی و همکاران انجام تقریباً مشابه می باشد (۲۰) در مطالعه ای که توسط میرزایی و همکاران انجام گرفت نشان دادند که گروه CTXM-1 با شیوع ۳۵/۷۸ درصد بالاترین شیوع را داشت (۱۲). در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۲ توسط Minjun Chen در کشور چین صورت گرفت مشاهده گردید که حدود

۴۰ درصد از ایزوله های کلبسیلاپنومونیه مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف بوده اند. در این مطالعه ۱۹ مورد از سویه های مورد بررسی مولد ژن CTX-M-3 بوده اند که نسبت به مطالعه حاضر شیوع پایین تری داشته است (۲۱). در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۱ در تایوان انجام گرفته است، مشخص شد که از ۲۱۱ ایزوله کلبسیلاپنومونیه، ۸۷ نمونه (۴۱ درصد)، مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف بوده اند. از این تعداد، ۲۸ مورد (۳۲ درصد) دارای ژن CTX-M-3 می باشند که نتایج این مطالعه تقریباً با مطالعه حاضر هم خوانی دارد (۲۲). مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۱ توسط Marek Gniadkowski در لهستان انجام گرفته است به این صورت بوده است که از ۸۴ ایزوله انتروباکتریاسه همه نمونه ها مولد ESBL بوده اند که در نتیجه با تعیین سکانس ۲۷ تا از نمونه ها دریافتند که هر ۲۷ مورد دارای ژن CTX-M-3 بوده اند (۲۳).

در مطالعه حاضر، تقریباً درصد بالایی از ایزوله های کلبسیلاپنومونیه به عنوان مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف شناسایی شدند. مطالعه حاضر و مطالعات مشابهی که در سراسر جهان در این زمینه صورت گرفته است نشان از این دارد که درصد ارگانسیم های تولیدکننده ESBL در دنیا سیر صعودی داشته و با توجه به ضرورت این موضوع در افزایش مقاومت دارویی و در نتیجه آن عدم درمان عفونت های بیمارستانی، توصیه می شود پژوهش های بیشتری در این زمینه و انواع ESBL ها صورت گیرد تا بتوان پروتوکل درمانی مناسب و راهکارهای ویژه جهت جلوگیری از مقاومت آنتی بیوتیکی ارائه داد.

## References

1. Shyamala R, Rao J. Klebsiella pneumonia A common pathogen causing bacterial pneumonia in a teaching hospital. *J Microbiol Biotechnol Res* 2017; 4:7-10.
2. Bradford PA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21st century characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14:933-51. doi: 10.1128/CMR.14.4.933-951.2001
3. Bush M, Johnson C. Ureidopenicillins and  $\beta$ -lactam/beta-lactamase inhibitor combinations. *Infect Dis Clin North Am* 2000; 14:409-33. doi.org/10.1016/S0891-5520(05)70255-5
4. Brooks F, More A. *Medical Microbiology*. 22<sup>ed</sup> th. United States of America, Mcgraw Hill Publication. 2000; P.145.
5. Hesdorffer C, Berg T, Kanner M. An update on antiepileptic drugs and suicide:

- are there definitive answers yet. *Epil Curr* 2010; 10:137-45. doi: 10.1111/j.1535-7511.2010.01382.x
6. Datta N, Kontomichalou P. Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature* 1965; 208:239-41.
7. Matsumoto Y, Inoue M. Characterization of SFO-1 a plasmid-mediated inducible class A  $\beta$ -lactamase from Enterobacter cloacae. *Antimicrobial Age Chemotherap* 1999; 43:307-13. doi: 10.1128/AAC.43.2.307
8. Jean S, Hsueh R. High burden of antimicrobial resistance in Asia. *Int J Antimicrob Age* 1996;37:291-5. doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.01.009
9. Ishii Y, Ohno A, Taguchi H, Imajo S, Ishiguro M, Matsuzawa H. Cloning and sequence of the gene encoding a cefotaxime-hydrolyzing class A beta-lactamase isolated from Escherichia coli. *Antimicrob Age Chemotherap* 1995; 39:2269-75. doi: 10.1128/AAC.39.10.2269
10. Ma L, Ishii Y, Ishiguro M, Matsuzawa H, Yamaguchi K. Cloning and sequencing of the gene encoding Toho-2 a class A  $\beta$ -lactamase preferentially inhibited by Tazobactam. *Antimicrob Age Chemotherap* 1998; 42:1181-6. doi: 10.1128/AAC.42.5.1181
- 11 Bonnet R. Growing group of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases the CTX-M enzymes. *Antimicrob Age Chemotherap* 2004; 48:1-14. doi: 10.1128/AAC.48.1.1-14.2004
12. Mirzaee M, Pourmand M, Chitsaz M, Mansouri S. Antibiotic resistance to third generation cephalosporins due to CTX-M-Type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in clinical isolates of Escherichia coli. *Iranian J Publ Health* 2009; 38:10-7.
13. Yu X, Susa M, Weile J, Knabbe C, Schmid D, Bachmann T. Rapid and sensitive detection of fluoroquinolone-resistant Escherichia coli from urine samples using a genotyping DNA microarray. *Int J Med Microbiol*2007; 297:417-29. doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.03.018
14. Wayne P. Clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing. WHO Publication. 2007; P.17.
15. Pitout D, Thomson S, Hanson D, Ehrhardt F, Coudron P, Sanders C. Plasmid mediated resistance to expanded-spectrum cephalosporins among enterobacter aerogenes strains. *Antimicrob Agents Chemotherap* 1998; 42:596-600.
16. Branger C, Zamfir O, Geoffroy S, Laurans G, Arlet G, Thien HV, et al. Genetic background of Escherichia coli and extended spectrum  $\beta$ -lactamase type. *Emerg Infect Dis* 2005; 11:54.
17. Falagas M, Karageorgopoulos DE. Extended spectrum  $\beta$ -lactamase-producing organisms. *J Hosp Infect* 2009; 73:345-54. doi.org/10.1016/j.jhin.2009.02.021
18. Livermore M.  $\beta$ -Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8:557-84. doi: 10.1128/CMR.8.4.557
19. Canton R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, et al. Prevalence and spread of extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14:144-53. doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01850.x
20. Nakhaei MM, Moshefi S. [Determinatinfg the antibiotic resistance pattern of urinary isolates of Escherichia coli and prevalence of extended Spectrum  $\beta$ -Lactamses among them]. *J Sabzevar Uni Med Sci*2010; 16:228-233. (Persian)
21. Wang H, Kelkar S, Wu W, Chen M, Quinn JP. Clinical isolates of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: prevalence of CTX-M-3 at a hospital in China. *Antimicrobial Age chemotherap* 2003; 47:790-3. doi: 10.1128/AAC.47.2.790-793.2003
22. Yu L, Winokur L, Von Stein L, Pfaller A, Wang H, Jones N. First description of Klebsiella pneumoniae harboring CTX-M  $\beta$ -lactamases CTX-M-14 and CTX-M-3 in Taiwan. *Antimicrob Age Chemotherap* 2002; 46:1098-100. doi: 10.1128/AAC.46.4.1098-1100.2002
23. Baraniak 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. *J Antimicrob Chemother*2002; 46:151-9. doi: 10.1128/AAC.46.1.151-159.2002.

## Prevalence of CTX-M-3 Type Beta-Lactamase Genes in Various Clinical Specimens of *Klebsiella pneumoniae* in Sari, Iran

Ahanjan M<sup>1</sup>, Abdollahi M<sup>2</sup>, Hashemi B<sup>2\*</sup>, Nazar E<sup>3</sup>, Morsaljahan Z<sup>2</sup>

(Received: May 2, 2017

Accepted: January 3, 2018)

### Abstract

**Introduction:** The wide use of beta-lactam antibacterial agents in the treatment of bacterial infections has increased bacterial resistance. Nowadays, one of the problems in the treatment of nosocomial infections is enzymes resistance to broad spectrum beta-lactamases among clinical isolates, especially *Klebsiella pneumoniae*. Over the past decade, CTX-M type enzymes have been recognized as the most common type of broad-spectrum beta-lactamase in Europe, Canada, and Asia. The aim of this study was to evaluate the prevalence of broad-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* bacteria and to identify the CTX-M-3 gene by molecular method.

**Materials & Methods:** Over a 9-month period, 130 *Klebsiella pneumoniae* were isolated from different clinical specimens (urine, blood, ulcers) of infectious patients in Imam Khomeini Hospital, Sari, Iran.

Their susceptibility to nine antibiotics used for gram-negative bacteria was measured by disk diffusion agar method. The extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) producing isolates were identified using a hybrid disc method. Moreover, strains producing CTX-M-3 enzyme were detected by polymerase chain reaction method.

**Findings:** The 48 (36.8%) isolates of *Klebsiella pneumoniae* were the producer of ESBLs. Moreover, 22 (16.9%) of these cases contained the CTX-M-3 gene.

**Discussion & Conclusions:** The obtained results of the current study showed that the prevalence of ESBL producing strains resistant to quinolones is higher in Iran, compared to the developed countries.

**Keywords:** Spectrum  $\beta$ -lactamases, *Klebsiella pneumoniae*, CTX-M-3

1. Dept of Microbiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

2. Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

3. Dept of Biostatistics and Epidemiology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Corresponding author Email: behnam.hashemi02@gmail.com