

Prevalence of extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* from patients diagnosed with urinary tract infections in Olabisi Onabanjo University Teaching Hospital, Sagamu, Ogun State.

OL Okunye¹, PA Idowu² and FO Odeleye³

Department of Pharmaceutical Microbiology¹, Olabisi Onabanjo University, Ogun State,
Department of Pharmaceutical Microbiology², University of Ibadan, Ibadan and Department of
Pharmaceutical Microbiology³, Olabisi Onabanjo University, Ogun State, Nigeria.

Abstract

Background: Extended spectrum Beta-lactamases (ESβLs) are variants of beta lactamase enzymes that are capable of hydrolyzing broader spectrum of beta-lactams antibiotics. The enzymes have mutation in the gene at the active site that is believed to be the cause of high Beta lactamase activity. ESβL mediate resistance to all third generation cephalosporins, including monobactams. This study was carried out to determine the prevalence of ESBL producing *Escherichia coli* from patients presenting with cases of urinary tract infection at Olabisi Onabanjo University Teaching Hospital between April and June 2016.

Method: Urine samples from cases of UTI were centrifuged and the supernatants were diluted serially up to 10⁻⁵ with sterile distilled water. A loopful of each of the last two dilutions was streaked on a plate of sterile Eosin Methylene Blue (EMB) agar. The plates were incubated at 37°C for 24 hrs. Plates that elicited growth were sub-cultured and stored for further use. Gram staining and conventional biochemical tests including indole, citrate utilization, hydrogen sulphide utilization, nitrate, catalase and urease tests were conducted on selected distinct colonies with green metallic sheen on the EMB culture plate. Antimicrobial susceptibility was determined by disc-diffusion method. ESBL detection was done by using the double-disc synergy test. An antibiotic disc of amoxicillin-clavulanic acid (Oxoid, UK) was placed at the center of the plate and discs containing Ceftazidime (CAZ - 30μg) (Oxoid, UK), Ceftriaxone (CRO - 30μg) Aztreonam (ATM - 30μg) were sited 0.2cm equidistant from the amoxicillin-clavulanic acid disc. After aerobic incubation at 37°C for 18 hours, a clear extension of the edge of the growth inhibition zone of the cephalosporins towards amoxicillin-clavulanic acid disc was measured and used as positive index of ESBL production.

Results: Of the 100 urine samples examined, 79 (79%) isolates of *Escherichia coli* were detected by conventional biochemical tests of which 30 (38%) isolates were found to exhibit ESβL production. The antibiotic susceptibility profile of the isolates elicited highest susceptibility to ofloxacin (90%), gentamicin (87%) and amoxicillin-clavulanate (53%). A progressive decrease in sensitivity to cefixime (60%) and cefuroxime (27%) – a cephalosporinase effect was recorded.

Conclusion: Judicious use of antibiotics is more important to prevent infections by these resistant organisms in the community coupled with awareness by microbiologists and clinicians serving the community as key to early detection and appropriate treatment of patients affected by ESβL producing *Escherichia coli*.

Keywords: Urinary tract infection, ESβL, *Escherichia coli*

Résumé

Contexte: Les bêta-lactamases à spectre étendu (ESBL) sont des variantes des enzymes bêta-lactamase qui sont capables d'hydrolyser un plus large spectre d'antibiotiques bêta-lactames. Les enzymes ont une mutation dans le gène sur le site actif qui est considéré comme la cause d'une activité bêta-lactamase élevée. L'ESBL opère une résistance à toutes les céphalosporines de troisième génération, y compris les mono-bactames. Cette étude a été réalisée pour déterminer la prévalence d'*Escherichia coli* produisant des ESβL chez des patients présentant des cas d'infection urinaire à l'Hôpital d'Enseignement Universitaire Olabisi Onabanjo entre avril et juin 2016.

Méthode: Des échantillons d'urine provenant de cas d'UTI ont été centrifugés et les sous-produits ont été dilués en série jusqu'à 10⁻⁵ avec de l'eau distillée stérile. Une boucle de chacune des deux dernières dilutions a été striée sur une plaque d'agar stérile Éosine Méthylène Blue (EMB). Les plaques ont été incubées à 37 ° C pendant 24 heures. Les plaques qui ont suscité une croissance ont été sous-cultivées et stockées pour une utilisation ultérieure. La coloration à Gram et les tests biochimiques classiques, y compris l'utilisation d'indole, de citrate, d'utilisation de sulfure d'hydrogène, d'essais de nitrate, de catalase et d'uease ont été réalisés sur des colonies différentes avec un brillant métallique vert sur la

plaque de culture EMB. La susceptibilité aux antimicrobiens a été déterminée par la méthode de diffusion de disque. La détection ES β L a été effectuée en utilisant le test de synergie à double disque. Un disque antibiotique d'amoxicilline-acide clavulanique (Oxoid, UK) a été placé au centre de la plaque et des disques contenant du Cefotaxime (CAZ-30 μ g) (Oxoid, UK), Ceftriaxone (CRO - 30 μ g) Aztreonam (ATM - 30 μ g) ont été installés 0,2 cm équidistant du disque acide amoxicilline-clavulanique. Après une incubation aérobie à 37 ° C pendant 18 heures, on a mesuré un prolongement clair du bord de la zone d'inhibition de la croissance des céphalosporines par rapport au disque acide amoxicilline-clavulanique et utilisé comme indice positif de la production ES β L.

Résultats: Sur les 100 échantillons d'urine examinés, 79 (79%) des isolats d'*Escherichia coli* ont été détectés par des tests biochimiques classiques dont 30 (38%) isolés ont été exposés à la production ESBL. Le profil de sensibilité aux antibiotiques des isolats a suscité la plus forte susceptibilité à l'ofloxacine (90%), à la gentamicine (87%) et à l'amoxicilline-clavulanate (53%). Une diminution progressive de la sensibilité au cefixime (60%) et à la cefuroxime (27%) - un effet céphalosporinase a été enregistré.

Conclusion: l'utilisation judicieuse des antibiotiques est plus importante pour prévenir les infections par ces organismes résistants dans la communauté, associée à la prise de conscience par les microbiologistes et les cliniciens qui servent la communauté comme élément clé du dépistage précoce et du traitement approprié des patients atteints d'ES β L produisant *Escherichia coli*.

Mots-clés: *Infection des voies urinaires, ES β L, Escherichia coli*

Correspondence: Mr. O.L. Okunye, Department of Pharmaceutical Microbiology, Olabisi Onabanjo University, Ogun State, Nigeria. Email: