

## الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های بالینی اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه جدا شده از کشت ادرار بیماران پیوند کلیه و تعیین حداقل غلظت بازدارنده (MIC) ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم

معصومه کاشف‌نژاد<sup>۱</sup>، یعقوب شریفی<sup>۲</sup>، نیما حسینی جزنی<sup>۳</sup>، همایون بابازاده<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت 1394/01/20 تاریخ پذیرش 1394/03/25

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** عفونت دستگاه ادراری شایع‌ترین عفونت باکتریایی در دریافت‌کنندگان پیوند کلیه می‌باشد. هدف این مطالعه تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های بالینی اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه جدا شده از کشت ادرار بیماران پیوند کلیه و تعیین حداقل غلظت بازدارنده (MIC) ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** باکتری‌های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه از نمونه‌های ادرار بیماران پیوند کلیه با روش‌های استاندارد باکتری‌شناسی جمع‌آوری و شناسایی شدند. بعد حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها نسبت به سفوتاکسیم، سیپروفلوکساسین، جنتامیسین، آمپی‌سیلین، آزترونام، نیتروفورانتوئین، ارتاپنم، ایم‌پنم و تری متوپریم - سولفامتوکسازول با روش انتشار از دیسک سنجیده شد و در نهایت MIC ایزوله‌ها نسبت به سفوتاکسیم تعیین گردید.

نتایج: از ۹۶ ایزوله جمع‌آوری شده از کشت ادرار، (۵۹/۴ درصد) ۵۷ ایزوله به‌عنوان اشریشیاکلی و (۴۰/۶ درصد) ۳۹ ایزوله به‌عنوان کلبسیلا پنومونیه تعیین هويت شدند. بر اساس نتایج آزمون تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی، بیشترین مقاومت به ترتیب نسبت به آمپی‌سیلین (۹۵/۸ درصد) و تری‌متوپریم - سولفامتوکسازول (۷۸/۱ درصد) و کمترین میزان مقاومت به ایم‌پنم (۱۰/۴ درصد) مشاهده شد. ۶۷/۷ درصد ایزوله‌ها با تعیین مقادیر MIC نسبت به سفوتاکسیم مقاوم بودند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه بیان‌گر گسترش مقاومت‌های چند دارویی در بین ایزوله‌های به‌دست‌آمده از نمونه ادرار بیماران پیوند کلیه در ارومیه هست که مانع استفاده از آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند سفالوسپورین‌ها در درمان می‌شود و بر کنترل و غربال‌گری آزمایشگاهی مداوم این ایزوله‌ها تأکید می‌کند.

**واژه‌های کلیدی:** عفونت مجاری ادراری، پیوند کلیه، حساسیت آنتی‌بیوتیکی، سفوتاکسیم، MIC

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره پنجم، ص 409-400، مرداد 1394

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده پزشکی، تلفن: ۰۹۱۴۱۴۸۴۸۰۷

Email: ya.sharifi@gmail.com

### مقدمه

اصطلاحی گسترده است که استقرار باکتری‌ها در ادرار و عفونت ساختارهای مجاری ادراری - کلیوی، لگنچه کلیه، حالب‌ها، مثانه و مجرای خروجی مثانه و نیز ساختمان‌های مجاور مثل پروستات و اپی دیدیم را توصیف می‌کند (۳). UTI رایج‌ترین عارضه باکتریایی پس از پیوند کلیه می‌باشد (۴) و در ۴۰-۳۰ درصد از دریافت‌کنندگان پیوند کلیه در طول چهار ماه اول بعد از پیوند دیده می‌شود (۵). این واقعه در بیمارانی که پیشگیری دارویی دریافت نکرده‌اند، از ۳۶-۵ درصد متغیر است. شیوع UTI در زنانی که پیوند کلیه دریافت کرده‌اند دو برابر

نارسائی پیشرفته کلیه که توأم با عملکرد غیرطبیعی آن است منجر به افزایش مواد زیان‌آور خون نظیر اوره، کراتینین و تجمع مایع اضافی در بدن شده و به دنبال آن افزایش فشارخون بیمار و اختلالات هماتولوژیک رخ می‌دهد که همه مشکلات مذکور، زمینه را برای پیوند کلیه فراهم می‌سازد. پیوند کلیه در سال‌های اخیر به‌عنوان درمان اصلی و انتخابی برای اغلب بیماران مبتلا به نارسائی مزمن کلیه شناخته شده است (۱، ۲). عفونت مجاری ادراری<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده پزشکی، گروه آموزشی میکروبیشناسی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی

<sup>۲</sup> دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی (نویسنده مسئول)

<sup>۳</sup> دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده پزشکی، گروه آموزشی میکروبیشناسی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی

<sup>۴</sup> دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده پزشکی، گروه آموزشی میکروبیشناسی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی

<sup>۵</sup> UTI: Urinary Tract Infection

علاوه بر مقایسه نتایج به دست آمده از هر دو روش، نتایج به دست آمده در مطالعات آتی نیز مورد استفاده قرار گیرد.

## مواد و روش کار

جمع‌آوری و تشخیص باکتری‌ها:

تعداد ۹۶ ایزوله اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه از کشت ادرار بیماران پیوند کلیه در بیمارستان امام خمینی (ره) ارومیه در طی سال‌های ۹۲-۹۳ جمع‌آوری شدند. هویت ایزوله‌های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه با به‌کارگیری آزمون‌های بیوشیمیایی در محیط‌های افتراقی از جمله: محیط TSI<sup>۳</sup>، محیط SIM<sup>۴</sup>، واکنش در محیط MR/VP<sup>۵</sup>، محیط اوره و محیط سیمون سترات (شرکت Himedia هند) تعیین شدند. ایزوله‌های شناسایی شده در محیط نگه‌دارنده TSB<sup>۶</sup> (شرکت Merck آلمان) حاوی ۱۵ درصد گلیسرول کشت داده شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام سایر آزمایشات نگهداری شدند.

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها:

به منظور تعیین حساسیت ایزوله‌ها، باکتری‌های ذخیره شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد در داخل میکروتیوب‌های اپندروف حاوی محیط نگه‌دارنده TSB به همراه ۱۵ درصد گلیسرول، در دمای اتاق قرار گرفته و هر یک از ایزوله‌ها به صورت مجزا در محیط کشت مولر هینتون آگار (شرکت Himedia هند) کشت داده شدند و بعد از گرم‌خانه گذاری به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، از باکتری‌های تازه رشد کرده، سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند در سرم فیزیولوژی تهیه شد (۱۴).

برای تعیین الگوی حساسیت ایزوله‌ها از روش انتشار آنتی‌بیوتیک از دیسک (کربی-بوئر) در محیط مولر هینتون آگار و با دیسک‌های رایج مورد استفاده در درمان UTI مانند آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، جنتامیسین (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، نیتروفورانئوئین (۳۰۰ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، ارتاپنم (۱۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم)، کوتتری موکسازول (۱/۲۵-۲۳/۷۵ میکروگرم) و آزترونام (۳۰ میکروگرم) (ساخت شرکت MAST انگلستان) استفاده گردید. بدین صورت که باکتری‌ها به صورت چمنی به طور یکنواخت در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شده و پس از

بیشتر از مردان دریافت‌کننده پیوند است (۴).

رایج‌ترین باکتری‌های بیماری‌زای عامل UTI در افراد پیوندی شامل باکتری‌های متعلق به خانواده انتروباکتریاسه (غالباً اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه)، انتروکوک‌ها، استافیلوکوک‌ها و سودوموناس می‌باشند، با این حال دیگر میکروارگانسیم‌های کمتر شایع نظیر سالمونلا، یا کورینه باکتریوم اوره آلیتیکوم گاهی باعث ایجاد عفونت می‌شوند (۶). اشریشیاکلی شایع‌ترین عامل ایجادکننده عفونت مجاری ادراری می‌باشد که ۸۰ درصد از این موارد را به خود اختصاص داده است (۷، ۸).

عوامل باکتریائی نظیر *E. coli* و *Klebsiella spp* از عوامل اصلی ایجادکننده عفونت‌های دستگاه ادراری محسوب می‌شوند (۹). داروهای بتالاکتام، طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های دارای حلقه بتالاکتام از جمله: مشتقات پنی‌سیلین، سفالوسپورین‌ها و منوباکتام‌ها را شامل می‌شوند که بیشترین مصرف را در بین آنتی‌بیوتیک‌های مختلف، به دلیل کارایی، سمیت پائین و طیف اثر گسترده، برای درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی دارند. باکتری‌ها اغلب با تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز حلقه بتالاکتام را تخریب کرده و مانع فعالیت ضد باکتریائی این آنتی‌بیوتیک‌ها می‌گردند (۱۰). سفوتاکسیم یکی از سفالوسپورین‌های نسل سوم است که امروزه با ظهور آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف<sup>۱</sup>، میزان مقاومت به این آنتی‌بیوتیک به طور روبه افزایشی در حال بالا رفتن است که این نوع مقاومت در بین انتروباکتریاسه به‌ویژه *E. coli* و *Klebsiella spp* شایع می‌باشند (۱۱). ESBLs<sup>۱</sup> آنزیم‌هایی هستند که موجب هیدرولیز شاخه جانبی اکسی‌ایمینو<sup>۲</sup> سفالوسپورین‌هایی نظیر سفوتاکسیم، سفتریاکسون، سفنازیدیم و هم‌چنین آزترونام (oxyimino- monobactam) می‌گردند که در نتیجه منجر به مقاومت به داروهای مذکور می‌شوند (۱۲). به دلیل این‌که سفالوسپورین‌های نسل سوم (از جمله سفوتاکسیم) نسبت به سایر نسل‌های سفالوسپورین تأثیر بیشتری بر روی باکتری‌های گرم منفی (از جمله اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه) دارند (۱۳) و نیز از آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم به‌عنوان نماینده‌ای برای غربالگری فنوتیپی آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف استفاده می‌شود، بنابراین در این مطالعه علاوه بر تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان این نوع عفونت‌ها با روش انتشار از دیسک، حداقل غلظت بازدارنده سفوتاکسیم با استفاده از نوار E-test<sup>۱</sup> نیز سنجیده شده است تا

<sup>۳</sup> Triple Sugar Iron Agar

<sup>۴</sup> Sulfide- Indole- Motility

<sup>۵</sup> Methyl Red and Voges-Proskau

<sup>۶</sup> Tryptic Soy Broth

<sup>۱</sup> Extended-spectrum beta lactamases :ESBLs

<sup>۲</sup> oxyimino

به‌منظور کنترل کیفی تست‌ها از سویه‌های *K. pneumoniae* ATCC 700603 به‌عنوان کنترل مثبت و *E. coli* ATCC 25922 به‌عنوان کنترل منفی استفاده شده است.

### یافته‌ها

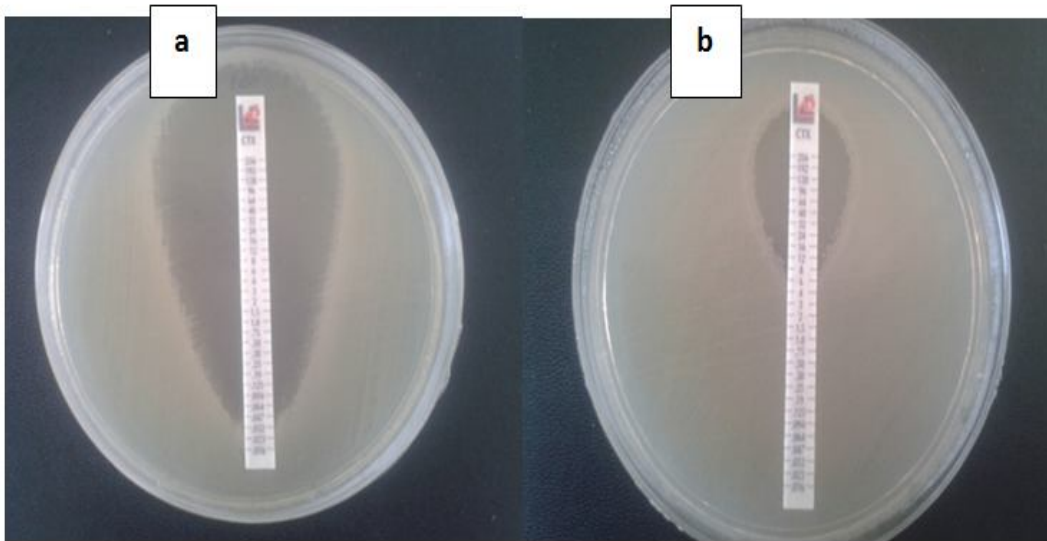
۹۶ ایزوله بالینی اشریشیاکلی و کلبسیلا در طی سال‌های ۱۳۹۳-۱۳۹۲ از بیمارستان امام خمینی (ره) شهرستان ارومیه جمع‌آوری گردید که ۵۷ (۵۹/۴ درصد) ایزوله به‌عنوان اشریشیاکلی و ۳۹ (۴۰/۶ درصد) ایزوله به‌عنوان کلبسیلا پنومونیه تعیین هويت شدند. کلیه ایزوله‌های جنس اشریشیا متعلق به گونه کلی و کلیه ایزوله‌های جنس کلبسیلا متعلق به گونه پنومونیه بودند. هم‌چنین توزیع ایزوله‌های ادراری در بیماران دریافت‌کننده پیوند ۴۳/۸ درصد در مردان و ۵۶/۲ درصد در زنان گزارش گردید.

نتایج تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها با روش انتشار آنتی‌بیوتیک از دیسک نشان داد که ۹۵/۸ درصد ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین مقاوم بودند و پس‌از آن بیشترین میزان مقاومت در برابر تری متوپریم-سولفامتوکسازول (۷۸/۱ درصد) و سفوتاکسیم (۷۴ درصد) و کمترین میزان مقاومت در برابر ایمپنم (۱۰/۴ درصد) بود (جدول شماره ۱). هم‌چنین بر اساس نتایج تعیین MIC برای سفوتاکسیم با استفاده از روش E-test (شکل ۱)، میزان مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک ۶۷/۷ درصد (میزان حساسیت ۳۲/۳ درصد) به دست آمد که این نتایج با روش انتشار آنتی‌بیوتیک از دیسک مقایسه گردید (نمودارهای شماره ۱ و ۲). با روش تعیین MIC میزان مقاومت به سفوتاکسیم در ایزوله‌های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه به ترتیب ۴۶/۹ درصد و ۲۷/۱ درصد به دست آمد.

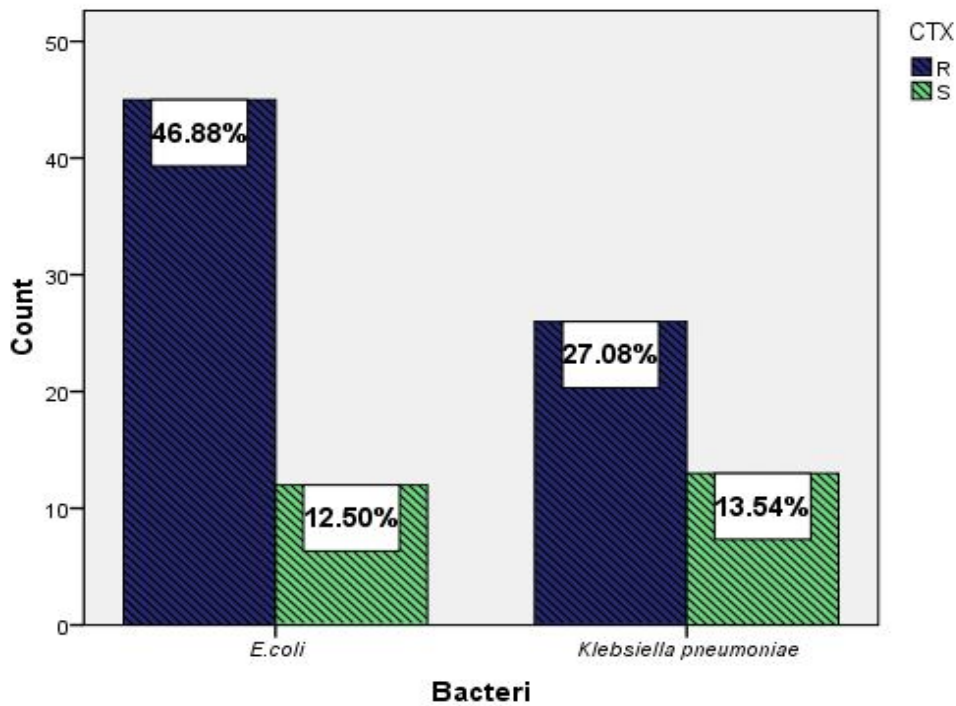
گرم‌خانه گذاری به مدت ۱۵-۵ دقیقه در دمای اتاق دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی به فاصله ۱/۵ سانتی‌متر از دیواره‌های پلیت و ۲/۵ سانتی‌متر از هم دیگر روی سطح محیط کشت قرار گرفتند. پس از گرم‌خانه گذاری به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد هاله عدم رشد برای هر کدام از دیسک‌ها قرائت گردید و نتایج به‌صورت حساس، نیمه حساس و یا مقاوم در مقایسه با جدول استاندارد (CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute) تعیین شد (۱۵). برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده (MIC) سفوتاکسیم برای هر ایزوله از روش انتشار آنتی‌بیوتیک از نوارهای E-test (Liofilchem - ایتالیا) با دامنه غلظت ۰/۰۱۶ تا ۲۵۶ میکروگرم استفاده گردید. بدین‌صورت که سوسپانسیون یکنواختی از کشت تازه و خالص باکتری‌ها معادل با کدورت استاندارد نیم مک فارلند (حاوی تعداد  $1/5 \times 10^8$  عدد باکتری در هر سی‌سی) تهیه شد، سپس باکتری‌ها به‌صورت یک لایه یکنواخت در سطح محیط مولر هینتون آگار کشت داده شدند. پس از قرارگیری در دمای اتاق به مدت ۱۵-۵ دقیقه، نوارها در سطح محیط کشت قرار داده شدند. سپس محیط‌های کشت حاوی نوارهای E-test سفوتاکسیم در دمای ۳۷-۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸-۲۴ ساعت گرم‌خانه گذاری شدند. حداقل غلظت بازدارنده آنتی‌بیوتیک، بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده قرائت گردید و مطابق با جدول استاندارد، ایزوله‌های با MIC بزرگ‌تر و یا مساوی چهار میکروگرم در میلی‌لیتر ( $\geq 4$ )، کوچک‌تر و یا مساوی یک میکروگرم در میلی‌لیتر ( $\leq 1$ ) و مساوی دو میکروگرم در میلی‌لیتر ( $= 2$ )، به ترتیب به‌عنوان ایزوله‌های مقاوم، حساس و نیمه حساس گزارش شدند (۱۵). اطلاعات به‌دست‌آمده در نرم‌افزار SPSS16 وارد شده و میزان مقاومت برای هر کدام از ایزوله‌ها تعیین شد.

جدول (۱): الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها به روش انتشار از دیسک

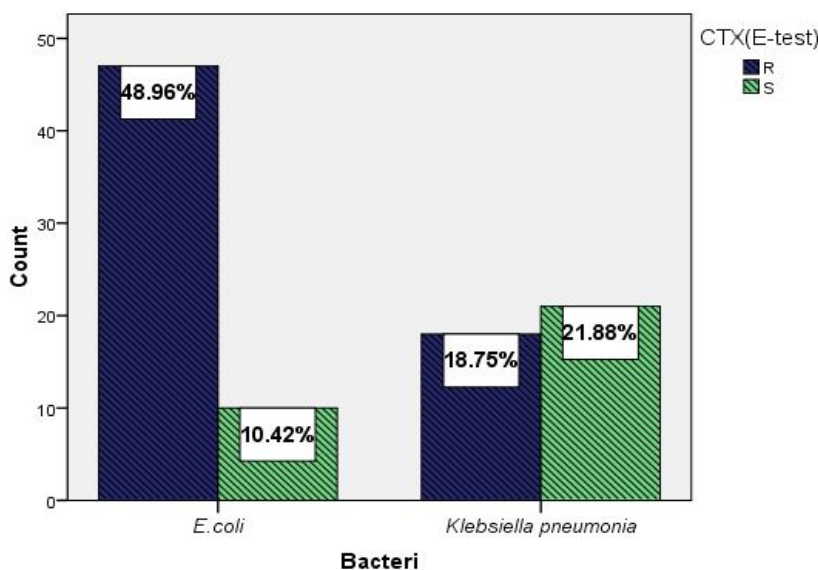
مقاومت کل (%)	<i>K. pneumoniae</i>			<i>E. coli</i>			آنتی‌بیوتیک
	حساس (%)	حد واسط (%)	مقاوم (%)	حساس (%)	حد واسط (%)	مقاوم (%)	
۹۵/۸	۰	۱	۳۹/۶	۳/۱	۰	۵۶/۲	آمپی‌سیلین
۷۰/۸	۱۲/۵	۰	۲۸/۱	۱۳/۵	۳/۱	۴۲/۷	آزترونام
۱۶/۷	۲۲/۹	۸/۳	۹/۴	۵۲/۱	۰	۷/۳	ارتاپنم
۱۰/۴	۳۳/۳	۰	۷/۳	۵۶/۲	۰	۳/۱	ایمی‌پنم
۵۹/۴	۱۶/۷	۰	۲۴	۲۴	۰	۳۵/۴	جنتامیسین
۶۴/۶	۱۳/۵	۵/۲	۲۱/۹	۱۴/۶	۲/۱	۴۲/۷	سفتازیدیم
۷۴	۱۳/۵	۰	۲۷/۱	۱۲/۵	۰	۴۶/۹	سفوتاکسیم
۶۹/۸	۱۳/۵	۰	۲۷/۱	۱۶/۷	۰	۴۲/۷	سیپروفلوکساسین
۷۸/۱	۱۲/۵	۱	۲۷/۱	۸/۳	۰	۵۱/۰	کوتریموکسازول
۴۲/۷	۴/۲	۲/۱	۳۴/۴	۴۲/۷	۸/۳	۸/۳	نیتروفوران‌توئین



شکل (۱): تعیین MIC سفوتاکسیم با استفاده از روش E-test  
 a: ایزوله حساس به سفوتاکسیم MIC ≤ 1 µg/ml b: ایزوله مقاوم به سفوتاکسیم MIC ≥ 4 µg/ml



نمودار (۱): مقایسه درصد فراوانی ایزوله‌های مقاوم و حساس اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه به سفوتاکسیم با روش انتشار از دیسک



نمودار (2): مقایسه درصد فراوانی ایزوله‌های مقاوم و حساس اشریشیاکلی

و کلبسیلا پنومونیه نسبت به سفوتاکسیم به روش E-test

## بحث و نتیجه‌گیری

بیش از ۸۰ درصد از عفونت‌های ادراری بدون عارضه توسط یک گروه ناهمگن (هتروزن) از سویه‌های اشریشیاکلی ایجاد می‌شود که اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک (UPEC) نامیده می‌شوند (۱۶). عفونت‌های همراه با عارضه (complicated) در افراد دچار نقص ایمنی در هر سن و جنس یا در افراد مبتلا به ناهنجاری‌های ساختمانی یا عملکردی ادراری اتفاق می‌افتد (۳). خانواده‌ی انتروباکتریاسه، معمول‌ترین پاتوژن‌های گرم منفی جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی بوده و آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام به‌طور وسیع و انتخابی برای درمان این عفونت‌ها به کار گرفته می‌شوند. باوجود ظهور آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف در بین ایزوله‌های باکتریایی، کارایی این داروها به‌طور چشمگیری کاهش یافته است. عوامل باکتریائی نظیر *E. coli* و *Klebsiella spp.* که از عوامل اصلی عفونت‌های دستگاه ادراری محسوب می‌شوند، با کسب مقاومت علیه تعداد زیادی از داروهای بتالاکتام (سفالوسپورین‌هایی نظیر سفوتاکسیم، سفتریاکسون، سفتازیدیم و هم‌چنین آزترونام) از طریق تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBLs) باعث شکل‌گیری عفونت‌های مقاوم به درمان شده‌اند و هم‌اکنون گسترش جهانی این عفونت‌ها به یک معضل اساسی در سرتاسر دنیا تبدیل شده است (۱۷). مصرف گسترده و بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها باعث افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این باکتری‌ها شده است (۱۸).

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۰ توسط Linares و همکاران در اسپانیا بر روی ۱۰۵۷ بیمار دریافت‌کننده پیوند (کلیه، کبد، قلب) انجام گرفت، ۱۱۶ عفونت ایجاد شده توسط کلبسیلا بود که از بین آن‌ها ۶۲ مورد حاوی آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف بودند و بیشترین عفونت مربوط به عفونت مجاری ادراری بود. در این مطالعه تمامی سویه‌های کلبسیلا پنومونیه حساس به کارباپنم‌ها (ایمی‌پنم و ارتاپنم) بودند (۱۹) که در مطالعه ما نیز تمامی ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه حساس به ایمی‌پنم بود ولی ۸/۳ درصد ایزوله‌ها به ارتاپنم مقاومت نشان داده‌اند.

در سال ۲۰۱۳، Yolbas و همکاران در ترکیه بر روی نمونه ادرار ۱۱۸ بیمار بستری مطالعه‌ای انجام دادند. با توجه به نتایج کشت ۷۵/۳ درصد ایزوله‌ها *E. coli* و ۲۰/۷ درصد، *Klebsiella spp.* ۲/۷ درصد *Proteus spp.* و ۱/۳ درصد *Pseudomonas spp.* بودند. تمامی ایزوله‌های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه به ایمی‌پنم حساس بودند ولی ۷ درصد ایزوله‌های *E. coli* مقاوم به ارتاپنم، ۹ درصد مقاوم به نیتروفوران‌توئین، ۳۷ درصد مقاوم به سفتازیدیم، ۵۱ درصد مقاوم به سفوتاکسیم، ۵۸ درصد مقاوم به کوتتری موکسازول و ۸۴ درصد مقاوم به آمپی‌سیلین بودند درحالی‌که میزان مقاومت به ارتاپنم، نیتروفوران‌توئین، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، کوتتری موکسازول و آمپی‌سیلین در *Klebsiella spp.* به ترتیب ۱۹ درصد، ۳۷ درصد، ۵۲ درصد، ۴۲ درصد، ۶۱ درصد و ۱۰۰ درصد بود (۲۰) که به‌استثنای

ایمی پنم مقاومت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها در این مطالعه بیشتر از مطالعه ما می‌باشد.

هادی مهرگان و همکاران در سال ۲۰۰۹ در بیمارستان میلاد تهران بر روی ۲۰۲ ایزوله کلبسیلا به دست آمده از نمونه‌های مختلف، حساسیت به سفنازیدیم را ۱۵/۳ درصد، سفوتاکسیم ۱۳/۴ درصد، ایمپنم ۹۸/۵ درصد و آزترونام ۱۲/۹ درصد گزارش کردند (۲۱) که حساسیت به سفنازیدیم، سفوتاکسیم و آزترونام در مقایسه با مطالعه حاضر کمتر و حساسیت به ایمپنم بیشتر است. در مطالعه‌ای دیگر که توسط زکیه رستم‌زاده و همکاران طی سال‌های ۲۰۰۵-۲۰۰۶ بر روی ۸۰۳ ایزوله جدا شده از کشت ادرار بیماران در شهرستان ارومیه انجام شد، ۸۱/۶ درصد بیماران را زنان و ۱۸/۲ درصد را مردان تشکیل داده بودند (۲۲) که در مطالعه ما نیز نسبت زنان بیشتر از مردان است ولی این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). این اختلاف ممکن است به دلیل محدود بودن مطالعه حاضر بر روی عفونت‌های ادراری در بیماران دریافت‌کننده پیوند کلیه و نیز بیشتر بودن تعداد مردان دریافت‌کننده پیوند در مقایسه با زنان دریافت‌کننده پیوند باشد. در مطالعه رستم‌زاده و همکاران اشریشیاکلی شایع‌ترین میکروارگانیزم جدا شده در تمامی گروه‌های سنی و در هر دو جنس و به دنبال آن کلبسیلا و پروتئوس قرار داشتند که با مطالعه ما هم‌خوانی دارد. در کشور آمریکا اشریشیا کلی عامل ۷۵-۹۰ درصد (۲۳) و در کشورهای روسیه، عربستان و ژاپن به ترتیب عامل ۸۵/۹ درصد، ۵۸ درصد و ۵۰ درصد عفونت ادراری گزارش شده است (۲۴-۲۶). همچنین در تحقیق رستم‌زاده و همکاران اشریشیاکلی بیشترین حساسیت را به ترتیب به سفتی زوکسیم (۸۹/۵۴ درصد)، جنتامیسین (۸۳/۹ درصد) و سیپروفلوکساسین (۸۳/۲ درصد) و بیشترین مقاومت را به آمپی‌سیلین و کوتریموکسازول و کلبسیلا پنومونیه نیز بیشترین حساسیت را به سیپروفلوکساسین و جنتامیسین نشان دادند (۲۲). این در حالی است که شیوع ایزوله‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین و جنتامیسین در مطالعه ما بیشتر است ولی بیشترین مقاومت به آمپی‌سیلین و کوتری موکسازول در مطالعه ما نیز به اثبات رسید. در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۹۰ توسط مهاجری و همکاران در کرمانشاه منتشر شد از ۲۰۰ ایزوله اشریشیاکلی جدا شده از کشت ادرار، ۲۷ درصد از نمونه‌ها به سفنازیدیم و ۲۶ درصد نمونه‌ها به سیپروفلوکساسین مقاوم و تمامی آن‌ها به ایمپنم و آمیکاسین حساس بودند (۲۷) که شیوع مقاومت در مقایسه با نتایج ما پایین‌تر می‌باشد. مباشر کار جدی و همکاران نیز با مطالعه‌ای در مراکز درمانی تبریز در سال

۲۰۰۹ فراوانی اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه جدا شده از بیماران بستری را به ترتیب ۴۶/۶ درصد و ۵۳/۴ درصد گزارش کردند که با روش آگار دیسک دیفیوژن (کری-بوئر) ایزوله‌های اشریشیاکلی و کلبسیلا به ترتیب به میزان ۸۰/۹۴ درصد و ۹۱/۴۸ درصد، نسبت به سفنازیدیم و به میزان ۷۸/۵ درصد و ۳۹/۳۶ درصد، نسبت به سفوتاکسیم مقاوم بودند (۲۸) که در مطالعه ما که محدود به بیماران پیوندی است شیوع ایزوله‌های مقاوم به سفوتاکسیم با هر دو روش انتشار از دیسک و تعیین MIC بیشتر از سفنازیدیم بود که دلیل آن ممکن است شیوع بالای آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف CTX-M باشد که فعالیت هیدرولیزی زیادی نسبت به سفوتاکسیم در مقایسه با سفنازیدیم دارند (۱۱). همچنین در مطالعه ما سویه‌های اشریشیاکلی در مقایسه با سویه‌های کلبسیلا پنومونیه مقاومت بیشتری به سفوتاکسیم و سفنازیدیم داشتند درحالی‌که مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها در این دو گونه متغیر بود. حدادی و همکاران در سال ۱۳۸۶ با مطالعه‌ای در تهران بیان کردند که روش E-test برای تعیین مقاومت میکروبی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها روش بهتری بوده و نتایج کمی دقیق‌تری به دست می‌دهد ولی در بیشتر موارد روش انتشار آنتی‌بیوتیک از دیسک نیز نتایج کمی مشابهی به دست می‌دهد و لذا روش انتشار آنتی‌بیوتیک از دیسک برای بررسی‌های روتین قابل استفاده است (۲۹) که در مطالعه حاضر نیز این نتیجه‌گیری تأیید شد. در هماهنگی با سایر مطالعات مشاهده می‌شود که مقاومت باکتری‌های گرم منفی به سفالوسپورین‌های نسل سوم رو به افزایش است. باتوجه به نتایج مطالعات متعدد می‌توان نتیجه گرفت که حساسیت به این آنتی‌بیوتیک‌ها به دلایلی از جمله تجویز مکرر و غیر منطقی آنتی‌بیوتیک‌ها، جهش‌های آنزیمی و همچنین انتقال مقاومت از طریق پلاسمیدها کاهش یافته است (۳۰، ۳۱). امروزه شیوع روز افزون مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در نقاط مختلف دنیا ناشی از آنزیم‌های بتالاکتاماز نشان دهنده جهانی بودن این مشکل است (۳۲). اگر چه با استفاده از پیشگیری آنتی‌بیوتیکی، میزان عفونت بعد از عمل کاهش پیدا کرده است، استفاده غیر صحیح از آنتی‌بیوتیک‌ها در جراحی، هنوز به صورت یک مشکل عمده باعث بروز واکنش‌های دارویی، گسترش عفونت‌های مقاوم باکتریایی و تحمیل هزینه‌های غیرضروری بر سیستم بیمارستان می‌شود (۳۳) که در مورد بیماران پیوندی از اهمیت بالایی برخوردار است. با توجه به درصد به نسبت بالای شیوع باکتری‌های مقاوم به داروهای بتالاکتام، درمان این بیماران با داروهای بتالاکتام توصیه نمی‌شود و بهتر است درمان با

حساسیت آنتی‌بیوتیکی مناسب نظیر MIC، درمان بیماران با موفقیت انجام پذیرد.

### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه به دلیل تأمین هزینه‌های مالی برای انجام این طرح تحقیقاتی که در مرکز تحقیقات سلولی مولکولی دانشکده پزشکی انجام شد تشکر و قدردانی می‌شود. لازم به توضیح است که این مقاله مستخرج از پایان نامه دانشجویی دوره کارشناسی ارشد رشته میکروبی شناسی به شماره قرارداد ۱۲۹۱ می‌باشد.

### Rererences:

1. Eggers PW. Effect of transplantation on the Medicare end-stage renal disease program. *N Engl J Med* 1988; 318(4):223-9.
2. Evans RW, Manninen DL, Garrison LP, Jr, Hart LG, Blagg CR, Gutman RA, et al. The quality of life of patients with end-stage renal disease. *N Engl J Med* 1985;312(9):553-9.
3. Ejrnaes K. Bacterial characteristics of importance for recurrent urinary tract infections caused by *Escherichia coli*. *Dan Med Bull* 2011;58(4):B4187.
4. Munoz P. Management of urinary tract infections and lymphocele in renal transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2001;33 Suppl 1:S53-7.
5. Satish R, Gokulnath. Intractable urinary tract infection in a renal transplant recipient. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2009;20(3):458-61.
6. Pastural M, Audard V, Bralet MP, Remy P, Salomon L, Tankovic J, et al. *Mycoplasma hominis* infection in renal transplantation. *Nephrol dial transpl* 2002;17(3):495-6.
7. von Baum H, Marre R. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and therapeutic implications. *Int J med microbiol* 2005;295(6-7):503-11.
8. Santo E, Salvador MM, Marin JM. Multidrug-resistant urinary tract isolates of *escherichia coli* from Ribeirao Preto, Sao Paulo, Brazil. *Brazilian J Infect Dis* 2007;11(6):575-8.
9. Canton R, Coque TM. The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol*. 2006;9(5):466-75.
10. Shahid M, Sobia F, Singh A, Malik A, Khan HM, Jonas D, et al. Beta-lactams and beta-lactamase-inhibitors in current- or potential-clinical practice: a comprehensive update. *Crit Rev Microbiol* 2009;35(2):81-108.
11. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases :the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(1):1-14.
12. Emery CL, Weymouth LA. Detection and clinical significance of extended-spectrum beta-lactamases in a tertiary-care medical center. *J Clin Microbiol* 1997;35(8):2061-7.
13. Mims C DH, Goering R, Roitt I, Wakelin D, Zuckerman M. Attaching the enemy: antimicrobial agents and chemotherapy, In: *Medical microbiology*. 3rd ed. London, England: Mosby Europe Limited; 2004.P. 477-8 .
14. Baron E F, SM. Enterobacteriaceae, In: *Bailey and Scott,s Diagnostic Microbiology*. 8<sup>th</sup> ed. New York: Mosby, St Louis; 1990.P.323-30.
15. Jean B FR, Jeff Alder, Patricia A, George M, Dwight J, Janet A, Stephen G. Enterobacteriaceae, In: *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*; 24<sup>th</sup> Informational

- Supplement. 24th ed. Wayne, Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014. P.50-7.
16. Brumbaugh AR, Mobley HL. Preventing urinary tract infection: progress toward an effective *Escherichia coli* vaccine. *Expert Rev vaccines* 2012;11(6):663-76.
  17. Cantón R, Coque TM. The CTX-M  $\beta$ -lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* 2006;9(5):466-75.
  18. Manges AR, Johnson JR, Foxman B, O'Bryan TT, Fullerton KE, Riley LW. Widespread distribution of urinary tract infections caused by a multidrug-resistant *Escherichia coli* clonal group. *N Engl J Med* 2001;345(14):1007-13.
  19. Linares L, Cervera C, Hoyo I, Sanclemente G, Marco F, Cofan F, et al. *Klebsiella pneumoniae* infection in solid organ transplant recipients: epidemiology and antibiotic resistance. *Transplantation proceedings*. 2010;42(8):2941-3.
  20. Yolbas I, Tekin R, Kelekci S, Tekin A, Okur M, Ece A, et al. Community-acquired urinary tract infections in children: pathogens, antibiotic susceptibility and seasonal changes. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013;17(7):971-6.
  21. Mehrgan H, Rahbar M, Arab-Halvahi Z. High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary care hospital in Tehran, Iran. *J Infect in Dev Ctries* 2010;4(3):132-8.
  22. Khameneh ZR, Afshar AT. Antimicrobial susceptibility pattern of urinary tract pathogens. *Saudi J kidney Dis Transpl* 2009;20(2):251.
  23. Hickerson AD, Carson CC. The treatment of urinary tract infections and use of ciprofloxacin extended release. *Expert opinion on investigational drugs* 2006;15(5):519-32.
  24. Strachounski LS, Rafalski VV. Antimicrobial susceptibility of pathogens isolated from adult patients with uncomplicated community-acquired urinary tract infections in the Russian Federation: two multicentre studies, UTIAP-1 and UTIAP-2. *Int J Antimicrob Agents* 2006;28 Suppl 1:S4-9.
  25. Kader AA, Kumar A, Dass SM. Antimicrobial resistance patterns of gram-negative bacteria isolated from urine cultures at a general hospital. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2004;15(2):135-9.
  26. Jha N, Bapat SK. A study of sensitivity and resistance of pathogenic micro organisms causing UTI in Kathmandu valley. *Kathmandu Univ Med J (KUMJ)* 2005;3(2):123-9.
  27. Mohajeri P, Izadi B, Rezai M, Falahi B, Khademi H, Ebrahimi R. Assessment of the frequency of extended spectrum beta lactamases producing *Escherichia coli* isolated from Urinary tract infections and its antibiotic resistance pattern in kermanshah. *J Ardabil Univ Med Sci* 2011;11(1):86-94.
  28. Mobasher Kare Jeddi A, Nahaei M, Mobayyen H, Pornour M, Sadeghi J. Molecular study of extended-spectrum beta-lactamase (SHVtype) in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from Medical Centers of Tabriz. *Iran J Med Microbiol* 2009;2(3):9-17.
  29. Hadadi A, Rasoulinejad M, Maleki Z, Mojtahedzadeh M, Younesian M, Ahmadi S, et al. Antimicrobial resistance patterns among Gram-negative bacilli isolated from patients with nosocomial infections: Disk diffusion versus E-test. *Tehran Univ Med J* 2007;65(4):1-10.
  30. Jabeen K, Zafar A, Hasan R. Frequency and sensitivity pattern of Extended Spectrum beta Lactamase producing isolates in a tertiary care hospital laboratory of Pakistan. *J Pakistan Med Assoc* 2005;55(10):436-9.
  31. Poole K. Resistance to beta-lactam antibiotics. *Cell Mol Life Sci* 2004;61(17):2200-23.
  32. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important



- resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001;14(4):933-51,
33. Bratzler DW, Houck PM. Antimicrobial prophylaxis for surgery: an advisory statement from the National Surgical Infection Prevention Project. Clin Infect Dis 2004;38(12):1706-15.

## ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY PATTERN OF ESCHERICHIA COLI AND KLEBSIELLA PNEUMONIAE ISOLATED FROM URINE SPECIMENS OF RENAL TRANSPLANT PATIENTS AND DETERMINATION OF MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION (MIC) OF ISOLATES TO CEFOTAXIME

Masoomeh Kashef Nejad<sup>1</sup>, Yaeghob Sharifi<sup>2</sup> \*, Nima Hosseini Jazani<sup>3</sup>, Homayon Babazadeh<sup>4</sup>

Received: 9 Apr, 2015; Accepted: 15 June, 2015

### Abstract

**Background & Aims:** Urinary tract infection (UTI) is the most common bacterial infection in renal transplant recipients. The aim of this study was to determine antimicrobial susceptibility patterns of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates as well as determining cefotaxime Minimum Inhibitory Concentration (MIC) for obtained isolates.

**Materials & Methods:** *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* were obtained and identified from urine samples of renal transplant patients, according to standard bacteriologic tests. The antimicrobial susceptibility of the isolates to cefotaxim, ceftazidim, nitrofurantoin, imipenem, ciprofloxacin, aztreonam, erthapenam, ampicillin, gentamicin, cotrimoxazole were investigated using the disc diffusion method and MIC of cefotaxim for each isolate was determined using E-test.

**Results:** Of 96 isolates that were collected from urine specimens, 57 isolates were identified as *E. coli* (59.4%) and 39 as *Klebsiella pneumoniae* (40.6%). Considering antibiotic susceptibility patterns of disc diffusion method, high resistance to ampicillin (95.8%) and trimethoprim-sulfamethoxazole (78.1 %) were observed, and the least levels of resistance was observed to imipenem (10.4 %). In total, 67.7 % of isolates were resistant to cefotaxime by determining MIC values.

**Conclusion:** Accordingly, this study indicate the spread of multi-drug resistance isolates among the renal transplant patients in Urmia and it seems to be an obstacle in usage of cephalosporin's especially cefotaxime in treatment of such infections and insists on continuous laboratory screening and control of such isolates.

**Keywords:** Urinary tract infections, Kidney transplantation, Antimicrobial susceptibility, cefotaxime, Minimum inhibitory concentration

**Address:** Student Research Committee, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

**Tel:** +98 9141484807

**Email:** ya.sharifi@gmail.com

SOURCE: URMIA MED J 2015; 26(5): 409 ISSN: 1027-3727

<sup>1</sup> Cellular and Molecular Research Center, Microbiology Department, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

<sup>2</sup> Student Research Committee, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran (Corresponding Author)

<sup>3</sup> Cellular and Molecular Research Center, Microbiology Department, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

<sup>4</sup> Cellular and Molecular Research Center, Microbiology Department, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran