مقاله پژوهشی

فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ژن CTX-M در اشرشیا کلی جدا شده از عفونت ادراری بیماران سرپایی در کرمانشاه

مهرداد خدادوست[۱]، دکتر علیشا اکیا[۲]*، سید منصور آل طه[۳]، شیرین اداباقر[۴]

تاریخ دریافت 1391/12/01 تاریخ پذیرش 1391/02/05

چکیده

پیش زمینه و هدف: عفونت مجاری ادراری (UTI) یکی از شایع‌ترین عفونت‌های باکتریایی است و اشریشیاکلی از حدود ۷۵ تا ۹۰ درصد از موارد UTI جدا شده است. از طرفی وقوع UTI کسب شده از جامعه ناشی از جدایه‌های E.coli مولد بتالاکتاماز با طیف گسترده (ESBL) به ویژه CTX-M به صورت جهانی در حال افزایش است. هدف از این مطالعه بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، فراوانی جدایه‌های مولد ESBL و نیز ژن CTX-M در جدایه‌های اشریشیاکلی جدا شده از عفونت ادراری بیماران سرپایی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از نمونه ادراری بیماران سرپایی، ۱۴۰ جدایه اشریشیاکلی جدا شد. تست تعیین حساسیت نسبت به ۱۰ آنتی‌بیوتیک منتخب توسط روش انتشار از دیسک در محیط جامد انجام گرفت. سپس با استفاده از آزمون فنوتیپی جدایه‌های تولید کننده ESBL شناسایی گردیدند. در نهایت با استفاده از روش PCR، ژن blaCTX-M در جدایه‌های تولید کننده ESBL مشخص شد.

یافته‌ها: از ۱۴۰جدایه، به ترتیب ۸۱/۴۳ و ۶۲/۱۳ درصد آن‌ها به آمپی‌سیلین و کوتریموکسازول مقاوم بودند، اما ۱۰۰ درصد جدایه‌ها نسبت به ایمیپنم حساس بودند. همچنین ۳۴ جدایه (۲۴/۲۸ % از جدایه‌ها) تولید کننده ESBL بودند. در آزمایش PCR، ژن blaCTX-M در ۳۰ (۸۸ %) جدایه‌های مولد ESBL یافت شد.

نتیجه‌گیری: مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بتالاکتام به خصوص سفالسپورین‌های نسل سوم یک نگرانی جدی است. تولید ESBL به ویژه در جدایه‌های بیماران سرپایی، تهدیدی بزرگ برای مصرف سفالسپورین‌های طیف گسترده است. با توجه به حضور ژن CTX-M در درصد بالایی از این جدایه‌ها، مطالعات بیشتر مولکولی و اپیدمیولوژیکی در باکتری‌های پاتوژن در این منطقه لازم به نظر می‌رسد.

کلیدواژه‌ها: عفونت ادراری، اشریشیاکلی، CTX-M

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و چهارم، شماره پنجم، ص ۳۲۸-۳۱۸، مرداد ۱۳۹۲

آدرس مکاتبه: کرمانشاه، بلوار شهید شیرودی، خیابان دانشگاه، دانشکده پزشکی، گروه میکروب‌شناسی، کد پستی ۶۷۱۴۸۶۹۹۱۴، تلفن: ۰۸۳۱-۴۲۷۴۶۱۸

Email: aakya@kums.ac.ir

مقدمه

عفونت مجاری ادراری[۵] شایع‌ترین بیماری ادراری - تناسلی و دومین عفونت شایع در اطفال می‌باشد (۱). عفونت ادراری یکی از شایع‌ترین علل مراجعات بیماران سرپایی به مراکز پزشکی است که گاهی به دلیل وخامت حال عمومی و یا وجود یک زمینه ناتوان کننده در شخص، نیاز به بستری پیدا می‌کنند. عفونت ادراری همچنین شایع‌ترین نوع عفونت بیمارستانی و دومین علت مرگ بر اثر عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد (۱). در آمریکا عفونت ادراری سالانه ۷-۸ میلیون بیمار سرپایی را درگیر می‌کند و بیش از یک سوم موارد عفونت‌های بیمارستانی را شامل می‌شود (۲).

---

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات اراک، گروه میکروبیولوژی، اراک، ایران

[۲] استادیار میکروب شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات عفونت‌های بیمارستانی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه (نویسنده مسئول)

[۳] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ایران

[۴] کارشناس میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ایران

[۵] urinary tract infection (UTI)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

در اکثر مقالات و کتب مرجع اشریشیاکلی(E.coli[1]) به عنوان شایع‌ترین علت عفونت ادراری در سطح جامعه معرفی شده است (۳).

با پیدایش آنتی‌بیوتیک‌های جدید و رواج استفاده از آن‌ها، مقاومت‌های باکتریایی در برابر این داروها پدیدار شده است (۴). سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های جدید نه تنها در بیماران بستری بلکه در بین افراد جامعه نیز شیوع یافته‌اند (۵). در عفونت مجاری ادراری درمان اولیه آنتی‌بیوتیکی معمولاً به صورت تجربی انجام می‌شود و کمتر دسترسی به اطلاعات دقیق و به روز از الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های منطقه‌ای وجود دارد. امروزه مقاومت‌های دارویی در میان عوامل ایجادکننده عفونت‌های ادراری به طور جهانی افزایش یافته است (۶). نوع آنتی‌بیوتیک انتخابی برای درمان تجربی عفونت مجاری ادراری در حال حاضر مورد بحث است، چون هم اکنون ۲۰-۵۰ درصد از سویه‌های E.coli حتی در کشورهای توسعه یافته به آنتی‌بیوتیک‌های خط اول درمان مقاوم شده‌اند (۷).

روش‌های مختلفی توسط باکتری‌ها به کار گرفته می‌شود تا از اثرات زیان بار آنتی‌بیوتیک‌ها مصون بمانند. یکی از مهم‌ترین این مکانیسم‌ها که در باکتری‌های گرم منفی علیه آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام به کار گرفته می‌شود، تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز است (۸). این آنزیم‌ها از طریق هیدرولیز هسته مرکزی آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام باعث غیر فعال شدن آن‌ها می‌شوند. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های جدید از قبیل سفالوسپورین‌های طیف گسترده و آزترونام در درمان عفونت‌های باکتریایی منجر به بروز دسته جدیدی از این آنزیم‌ها به نام بتالاکتامازهای طیف گسترده(ESBL[2]) شده است (۹). از طرفی وقوع عفونت مجاری ادراری کسب شده از جامعه ناشی از سویه‌های اشریشیا کلی مولد ESBL به طور جهانی در حال افزایش است و این سویه‌ها به طور افزاینده‌ای به داروهای ضد میکروبی بتا لاکتام مقاوم شده‌اند (۱۰). ژن‌های ESBL معمولاً بر روی پلاسمیدهای قابل انتقال قرار دارند که اغلب پلاسمیدهای حاوی این آنزیم‌ها، ژن‌های مقاومت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها را نیز با خود حمل می‌کنند(۱۱).

در سال‌های اخیر خانواده جدیدی از بتالاکتامازهای طیف گسترده بنام CTX-M که ترجیحاً سفوتاکسیم را هیدرولیز می‌نمایند، شناسایی شده‌اند (۱۲) که غالباً در اشرشیاکلی و کلبسیلا گزارش شده اما در سایر انتروباکتریاسه‌ها نیز دیده شده‌اند (۱۳). در دهه اخیر ESBL های نوع CTX-M جایگزین انواع TEMو SHV در اروپا، کانادا، آسیا و آفریقا شده، و شایع‌ترین نوع ESBL را در این نواحی تشکیل می‌دهند (۱۴). در گزارشات اخیر تیپ‌های CTX-M در میان سویه‌های E.coli جدا شده از عفونت مجاری ادراری بیماران سرپایی افزایش یافته است (۱۵). لذا هدف از این مطالعه بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، فراوانی ESBL و ژن CTX-M در میان جدایه‌های اشریشیاکلی جدا شده از عفونت ادراری بیماران سرپایی بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، نمونه‌های ادراری طی ۶ ماه از آذرماه ۱۳۹۰ تا اردیبهشت ماه ۱۳۹۱ از کلینیک ویژه دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه جمع آوری شدند. ابتدا به بیماران آموزش داده شد که چگونه نمونه‌های ادرار میانی (midstream) را جمع آوری کنند. برای این کار از ظروف پلاستیکی استریل با درب گشاد استفاده شد. عفونت ادراری به صورت وجود تعداد10^5 یا بیشتر باکتری اشریشیاکلی در هر میلی لیتر حجم ادرار در افراد مشکوک از نظر عفونت در نظر گرفته شد (۱۶). از طرفی اطلاعات بیماران از طریق پر کردن پرسشنامه و مصاحبه با بیمار یا خانواده وی از نظر جنس، سن، سابقه عفونت ادراری، سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک، بیماری زمینه و سابقه بستری در بیمارستان در ۳ ماه گذشته بررسی شد. پس از جمع آوری نمونه‌های ادراری و آزمایش آن‌ها، تعداد ۱۴۰ جدایه E.coli بر اساس روش استاندارد و با استفاده از واکنش گرم، ریخت شناسی، خصوصیات کشت و تست‌های تکمیلی بیوشیمیایی متداول (اکسیداز، سیمون سیترات، اوره آز، فنیل آلانین دآمیناز، لیزین دکربوکسیلاز، MRVP، TSI، SIM) جدا سازی و شناسایی شدند (۱۷). سپس جدایه‌های E.coli را در دمای۷۰- درجه سانتی‌گراد و در محیط نگهدارنده تریپتیکس سوی براث حاوی گلیسرول[3](Merck, Germany) نگهداری شدند.

بررسی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش disk diffusionطبق دستورالعمل (Clinical and Laboratory Standards Institute) CLSIبا استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی شرکت MAST England (Merseyside) شامل سفتریاکسون(30µg)، جنتامیسین(10µg)، توبرامایسین(10µg)، کوتریموکسازول(25µg)، سفتازیدیم(30µg)، سفوتاکسیم(30µg)، آزترونام(30µg)، آمپی‌سیلین(10µg)، ایمی پنم (10µg)و سیپروفلوکساسین(30µg) انجام شد (۱۸). برای انجام disk diffusion ابتدا سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند از کلنی‌های ۱۸ ساعته تهیه و سپس با سواپ استریل روی سطح محیط مولرهینتون آگار(Merck, Germany) کشت داده شد و

[1] Escherichia coli
[2] Extended-spectrum beta-lactamase
[3] Trypticase Soy Broth

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

بعد از گذشت ۱۵دقیقه، دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی را روی سطح محیط قرار دادیم. بعد از گذشت ۱۵ دقیقه بعد از قرار دادن دیسک‌ها، پلیت‌ها در دمای ۳۷-۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸-۱۶ ساعت انکوبه گردیدند. قطر هاله عدم رشد با خط کش اندازه گیری و تفسیر آن با توجه به جداول استاندارد CLSI تعیین شد (۱۸). در ضمن از سویه استاندارد E.coli ATCC[1] 25922 به منظور کنترل کیفی استفاده شد. جدایه‌هایی که قطر هاله عدم رشد آن‌ها حداقل برای یکی از آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون و آزترونام به ترتیب ۲۲، ۲۷، ۲۵ و ۲۷ میلی متر و یا کمتر بود از نظر حضور ESBL بررسی شدند (۱۸).

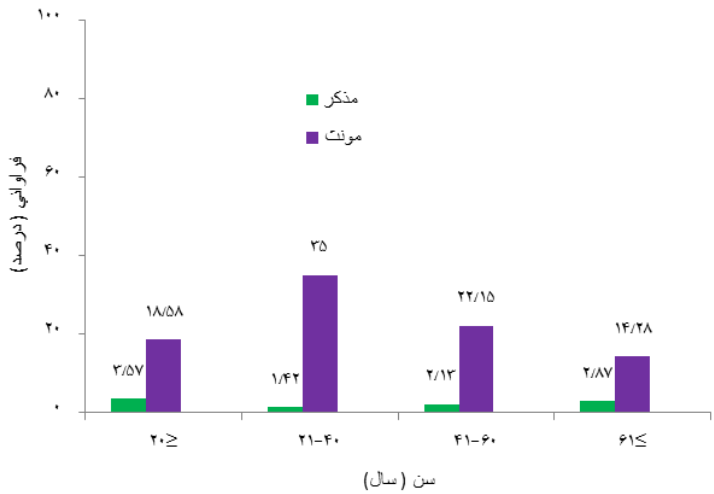
برای تایید تولید ESBL در ارگانیسم‌های کاندید از تست فنوتیپی تائیدی(phenotypic confirmatory tests) استفاده شد. در این روش از دیسک‌های ترکیبی شامل سفتازیدیم ((30 µg +کلاولانیک اسید(gµ10) و سفوتاکسیم+((30 µg کلاولانیک اسید(gµ10) (MAST England (Merseyside محیط مولر هینتون آگار(Germany, Merck) استفاده شد. در صورتی که قطر هاله عدم رشد باکتری اطراف دیسک ترکیبی، حداقل ۵ میلی‌متر یا بیشتر از قطر هاله عدم رشد دیسک منفرد همان آنتی‌بیوتیک بود، به عنوان جدایه مولد ESBL قلمداد گردید (۱۸). از سویه استاندارد E.coli ATCC 35218 به منظور کنترل کیفی جدایه‌های مولد ESBL استفاده شد. برای انجام واکنش زنجیره پلیمراز (PCR[2]) ابتدا DNA جدایه‌ها به روش جوشانیدن (boiling)استخراج و از یک جفت پرایمر(شرکت سینا کلون) برای تعیین حضور ژن بتالاکتامازی CTX-M با توالی زیر استفاده شد (۱۹):

CTX- M F: 5´-
TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA-3´
CTX- MR: 5´-
CGATATCGTTGGTGGTGCCATA-3´

واکنشPCR در حجم نهایی 25 µl در طی ۳۰ سیکل، شامل: مرحله اولیه باز شدن دو رشته DNA به مدت ۳ دقیقه در دمای 94°C، مرحله باز شدن دو رشته به مدت ۲۵ ثانیه در 95°C، مرحله اتصال پرایمرها به مدت ۳۰ ثانیه در دمای51°C، مرحله طویل شدن رشته هدف به مدت ۴۰ ثانیه در دمای 72°C و مرحله طویل شدن نهایی به مدت ۳ دقیقه در دمای 72°C انجام شد. محصولPCR (544 bp) بعد از الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱ درصد، مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس محصولPCR توالی‌یابی(Applied Biosystem ABI3130,USA) شد و نتیجه آن با استفاده از نرم افزار BLAST (http: //blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) آنالیز گردید. در پایان داده‌ها جمع آوری شده و وارد نرم افزار SPSS (Version 11/5) گردید و نتایج به دست آمده به وسیله شاخص‌های آماری(شاخص‌های مرکزی) تحلیل شد.

یافته‌ها

از ۱۴۰ جدایه اشریشیا کلی مورد بررسی، ۱۲۵ (۸۹/۳ %) نمونه از زنان و ۱۵ (۱۰/۷ %) نمونه از مردان به دست آمد. میانگین سنی بیماران ۳۶/۹ سال بود. توزیع جنسی و سنی بیماران مورد مطالعه در نمودار (۱) نشان داده شده است.



نمودار شماره (۱): توزیع دموگرافیک بیماران بر حسب سن و جنس

[1] American type culture collection
[2] Polymerase chain reaction

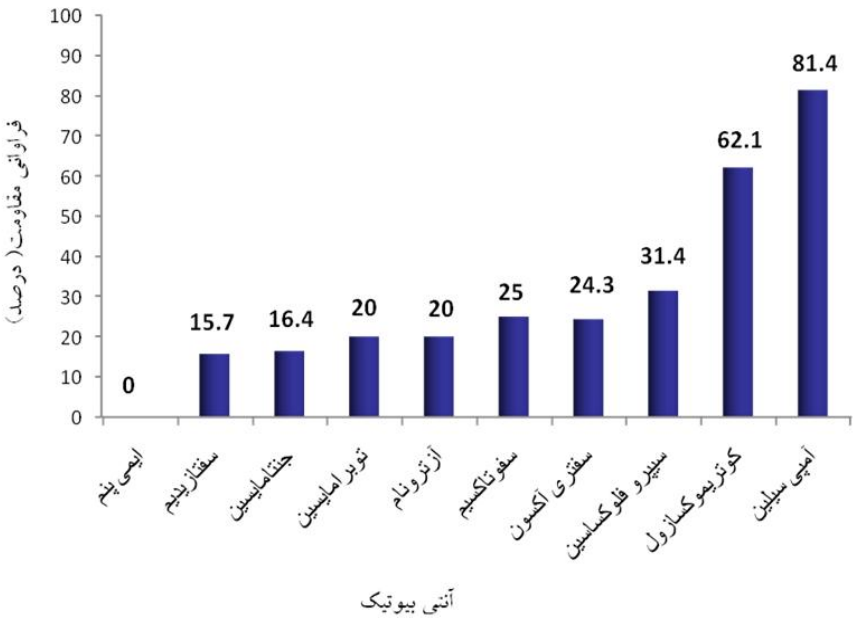
[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

از ۱۴۰ بیمار، ۷۴ نفر (۵۳%) سابقه قبلی ابتلا به عفونت مجاری ادراری را داشتند، ۳۸ نفر(۲۷/۱۴%) دارای درد پهلو، ۳۶ نفر(۲۵/۷%) سوزش ادرار و ۳۴ نفر (۲۴/۲%) دارای تکرر ادرار بودند. همچنین در این مطالعه ۲۴ نفر (۱۷%) در طی یک ماه قبل از انجام آزمایش سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک داشتند و ۴۴ نفر (۳۱/۵%) نیز برای کنترل به آزمایشگاه مراجعه کرده بودند و به طبع علامتی نداشتند. همچنین در جدول(۱) نشان داده شده است که بیمارانی که سابقه عفونت ادراری داشته‌اند درصد بیشتری دارای ژن CTX-M بوده‌اند و بقیه علائم ادراری تقریباً بر فراوانی شیوع ژن CTX-M تأثیر نسبتاً کمی داشته‌اند.

جدول شماره (۱): رابطه بین علائم عفونت ادراری و فاکتورهای خطر ساز با شیوع ژن CTX-M

شیوع ژن CTX-M	فراوانی	علائم و فاکتورهای خطر ساز
% ۱۲/۸۵	۱۸	سابقه عفونت ادراری
% ۵	۷	مصرف آنتی‌بیوتیک
% ۳/۶	۵	درد پهلو
% ۲/۱۴	۳	تکرر ادرار
% ۲/۱۴	۳	سوزش ادرار
۰	۰	بی قراری
% ۹	۱۲	بدون علامت

در آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها حداکثر میزان مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین (با ۸۱/۴۳% مقاومت) و حداقل میزان مقاومت نسبت به ایمی پنم(با ۱۰۰ % حساسیت)مشاهده شد(نمودار ۲). همچنین در این مطالعه فراوانی جدایه‌های مقاوم به چند دارو زیاد بود به طوری که ۳۹/۶۰ درصد از جدایه‌ها به سه یا بیشتر از سه آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند.

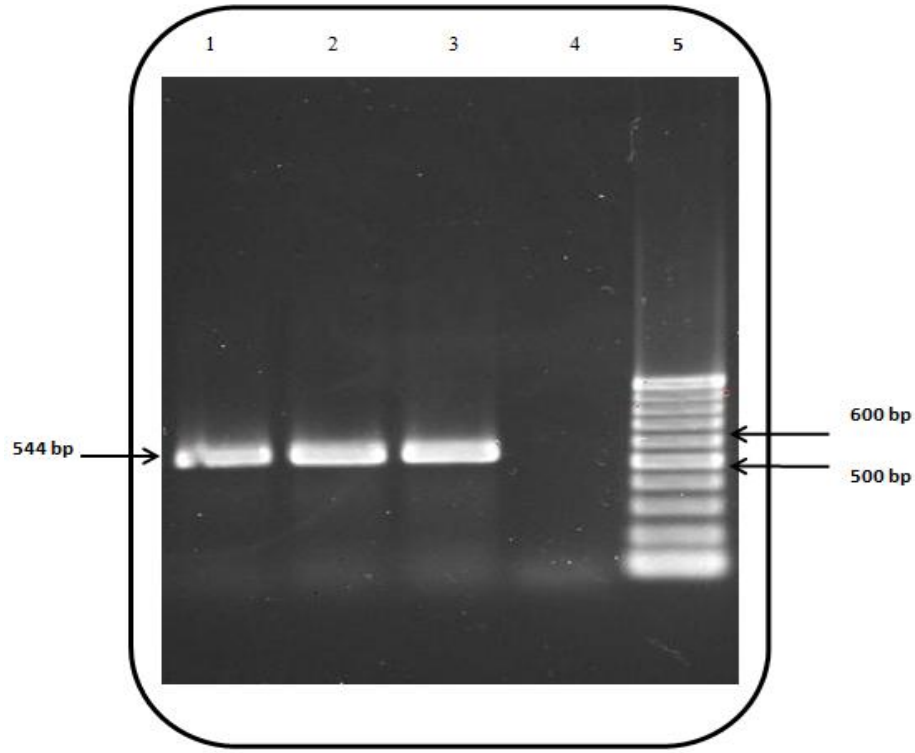


نمودار 2: مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های اشریشیاکلی

۳۴ (۲۴/۲۸ %) جدایه تولید کننده ESBL بودند و در آزمایش PCR برای ژن CTX-M ۳۰ (۸۸ %) جدایه‌های مولد ESBL حاوی این ژن بودند (شکل ۱). توزیع CTX-M از نظر جنسیت بیماران، ۲۴ (۸۰ %) نفر در بیماران مؤنث و۶ (۲۰ %) نفر در بیماران مذکر یافت شد. در نهایت محصول PCR ژن CTX-M تعیین توالی شد و توالی در نرم افزار BLAST مورد بررسی قرار

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

گرفت. که این توالی‌ها دارای تشابه با نمونه کنترل بود و در نرم‌افزار BLAST هومولوژی کامل با توالی به دست آمده داشت و نتایج PCR را تایید کرد.



شکل شماره (۱): الکتروفورز محصول PCR برای ژن CTX-M ،ردیف ۱ و ردیف ۲: نمونه‌های PCR مثبت ژن CTX-M ردیف ۳: کنترل مثبت ژن CTX-M ، ردیف ۴: کنترل منفی، ردیف ۵: مارکر (100bp DNA ladderشرکت سازنده ذکر شود).

اشریشیاکلی یکی از باکتری‌های روده‌ای در دستگاه گوارش انسان است و سویه‌هایی از این ارگانیسم که از نظر ژنوتیپی با فلور طبیعی روده متفاوت هستند باعث ایجاد بیماری‌های خارج روده‌ای از جمله عفونت مجاری ادراری به ویژه در خانم‌ها می‌شوند (۲۰). در مطالعه ما اکثریت بیماران مبتلا به عفونت ادراری را افراد مؤنث تشکیل می‌دادند و تنها نزدیک به ده درصد بیماران افراد مذکر بودند. تفاوت معنی‌داری بین میزان ابتلای دو جنس مؤنث و مذکر وجود دارد که با مطالعات سایر محققین در نقاط مختلف دنیا هم‌خوانی دارد (۲۱). از نظر ترکیب سنی بیماران بر اساس نمودار ۱، افرادی که در گروه سنی جوان)۲۱-۴۰ سال) بودند بیشترین فراوانی(۳۶/۴۲ %) را داشتند که به نظر می‌رسد این درصد بالا نسبت به گروه‌های سنی دیگر به دلیل افزایش فعالیت جنسی و همچنین بارداری خانم‌ها در این گروه سنی باشد. علاوه بر این گروه، گروه سنی ۴۱– ۶۰ سال با فراوانی ۲۴/۳ درصد در رتبه دوم قرار داشت، که احتمالاً می‌تواند به دلیل تضعیف سیستم ایمنی و همچنین سابقه قبلی عفونت و نیز آسیب‌های دستگاه ادراری در گذشته باشد(۲۲).

در مطالعه ما بر اساس نمودار ۲ مقاومت به آمپی‌سیلین بالا بود، که با نتایج سایر مطالعات تطابق داشت، به طوری که در ایران و سایر نقاط جهان تحقیقات انجام شده بر روی جدایه‌های E.coli ادراری بیماران سرپایی و بستری، مقاومت ۷۷ درصدی را برای آمپی‌سیلین در سال ۱۳۸۸ در بیماران سرپایی و بستری کرمانشاه (۲۳) مقاومت ۹۸/۵ در صدی در بیماران سرپایی و بستری تهران سال ۱۳۸۷ (۲۴)، مقاومت ۸۰ درصدی در بیماران سرپایی جهرم سال ۱۳۸۸ (۲۵)، و مقاومت ۹۹ درصدی در بیماران سرپایی و بستری خراسان سال ۱۳۸۵ (۲۶) را برای آمپی‌سیلین گزارش شده است. همچنین در پژوهشی در هندوستان سال ۲۰۰۵ بیماران سرپایی ۷۵ درصد (۲۷) و در کره جنوبی سال ۲۰۰۹ بیماران سرپایی ۶۰ درصد (۲۸) مقاومت به آمپی‌سیلین مشاهده هر چند در کشورهای پیشرفته مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین وجود دارد، اما میزان مقاومت نسبت به کشورهای در حال توسعه کمتر است،

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

به طوری که در مطالعه بیماران بستری در یونان سال ۲۰۰۸ مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین حدود ۵۰ درصد گزارش شده است (۲۹)، در ترکیه نیز سال ۲۰۰۶، ۷۴ درصد مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک در بیماران سرپایی و بستری گزارش شد(۳۰).

در این پژوهش بر اساس نمودار ۲ در بین جدایه‌های مورد بررسی پس از آمپی‌سیلین بیشترین میزان مقاومت نسبت به کوتریموکسازول مشاهده شد که نتیجه به دست آمده با سایر مطالعات هم‌خوانی دارد. به طوری که مطالعه در ایران و سایر نقاط جهان تحقیقات انجام شده بر روی جدایه‌های E.coli ادراری بیماران سرپایی و بستری، در بیماران بستری مشهد سال ۱۳۸۸، ۵۵ درصد نسبت به این آنتی‌بیوتیک مقاومت مشاهده شد (۳۱) و همچنین در بیماران سرپایی کرمان سال ۱۳۸۷، ۶۲/۳۲ درصد (۳۲)، در بیماران سرپایی و بستری اصفهان سال ۱۳۸۸، ۵۹/۲ درصد (۳۳) و در بیماران سرپایی و بستری تهران سال ۱۳۸۷، ۶۲/۲ درصد (۲۴)گزارش کرده‌اند. از طرفی در ترکیه در بیماران سرپایی و بستری سال ۲۰۰۶، ۶۱ درصد مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک مشاهده شد(۳۰). در دهه گذشته استفاده نامناسب از آمپی‌سیلین و کوتریموکسازول باعث افزایش مقاومت نسبت به این داروها شده است (۳۴). نتایج این تحقیق با رژیم درمانی که توسط سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۰۷ منتشر شد و کوتریموکسازول و آمپی‌سیلین را به عنوان داروی انتخابی عفونت مجاری ادراری معرفی کرده بود سازگاری ندارد(۳۰).

مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین جدایه‌های مورد بررسی برای سفتری‌آکسون، سفوتاکسیم و سفتازیدیم نسبتاً پایین بود، که با نتایج سایر مطالعات هم‌خوانی دارد، به طوری که در ایران و سایر نقاط جهان تحقیقات انجام شده بر روی جدایه‌های E.coli ادراری، در بیماران بستری کرمان سال ۱۳۸۷، برای سفتری‌آکسون ۳۰، سفوتاکسیم ۲۸ و سفتازیدیم ۲۷ درصد مقاومت گزارش شده است (۳۲). در بیماران سرپایی و بستری تهران سال ۱۳۸۸ برای سفتری آکسون ۳۰، سفوتاکسیم ۳۲ و سفتازیدیم ۳۰ درصد (۳۵)، همچنین در کرمانشاه بیماران سرپایی و بستری سال ۱۳۸۸ برای سفتری‌آکسون ۲۷/۵، سفوتاکسیم ۲۷ و سفتازیدیم ۲۲/۵ درصد (۲۳) مقاومت گزارش شده است. در کشورهای پیشرفته‌تر که از لحاظ سطح بهداشت و برنامه ریزی از ما بهتر عمل کرده‌اند مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها کمتر از ایران است، به طوری که در چین سال ۲۰۰۵ در بیماران بستری به ترتیب برای سفوتاکسیم و سفتازیدیم ۱۴/۶و ۲/۷ درصد مقاومت گزارش شده است (۳۶). از طرفی در یونان سال ۲۰۰۸ در بیماران بستری حتی مقاومت کمتر بوده است، به‌طوری‌که مقاومت نسبت به سفوتاکسیم ۳/۷ و سفتازیدیم ۴ درصد گزارش شده است (۲۹). این گروه دارویی با توجه به کارایی بالا و طیف گسترده اثر رایج‌ترین داروها در درمان عفونت هستند، اما نتایج این مطالعه و سایر مطالعات مشابه روند افزایشی مقاومت به این داروها در کشور ما را نشان می‌دهند و به نظر می‌رسد باید تمهیدات لازم برای جلوگیری از افزایش مقاومت انجام شود. بر اساس نمودار ۲ مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها در مطالعه ما پایین بود اما چون این داروها به صورت تزریقی هستند کمتر در درمان بیماران سرپایی بکار می‌روند، از طرفی مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین نیز نسبتاً بالا بود.

بر اساس نمودار ۲ در نهایت بیشترین حساسیت نسبت به ایمی پنم مشاهده شد که با نتایج سایر مطالعات در ایران و دیگر نقاط جهان تطابق داشت. بطوریکه در ایران و سایر نقاط جهان تحقیقات انجام شده بر روی جدایه‌های E.coli ادراری، تهران سال ۱۳۸۷در بیماران سرپایی و بستری (۳۵)، کرمانشاه سال ۱۳۸۸ در بیماران سرپایی و بستری (۲۳)، زنجان سال ۱۳۸۷۸ در بیماران سرپایی و بستری (۳۷)، و کرمان سال ۱۳۸۷۸ در بیماران بستری (۳۲)، همانند مطالعه ما ۱۰۰ درصد حساسیت را برای ایمی پنم گزارش کردند. در کشورهای دیگر هم حساسیت بالا نسبت به ایمی پنم مشاهده شده است بطوریکه در دو مطالعه در بیماران بستری یونان سال ۲۰۰۸ و هندوستان بیماران سرپایی سال ۲۰۰۵ حساسیت نسبت به ایمی پنم ۱۰۰ درصد گزارش شد (۲۹، ۲۷). در مطالعه‌ای در بیماران سرپایی و بستری آمریکای لاتین سال ۲۰۰۶ روی ۶۱۱ نمونه ادراری انجام شد، اشریشیاکلی از ۶۶ درصد نمونه‌ها جدا شد و کمترین مقاومت نسبت به ایمی پنم(صفر درصد) مشاهده شد (۳۸)، که به نظر می‌رسد ایمی پنم داروی انتخابی در درمان عفونت مجاری ادراری باشد. از طرفی بیمارانی که مبتلا عفونت با عوامل عفونت‌زای تولید کننده ESBL هستند علاوه بر مقاومت نسبت به بتالاکتام‌های برخوردار از طیف اثر گسترده غالباً نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نیز مقاومت نشان می‌دهند(۱۱).

در این مطالعه درصد بالایی از جدایه‌های مولد ESBL (۸۸ %) CTX-M مثبت بودند. مطالعات مختلفی در ایران و سایر نقاط جهان بر روی جدایه‌های E.coli اداری بیماران سرپایی و بستری انجام شده بود، بطوریکه مطالعه‌ای در بیماران سرپایی و بستری تهران(۲۰۰۹) ۳۷/۸ درصد از جدایه‌هایESBL مثبت دارای ژن CTX-Mبودند (۳۹)، و در بیماران بستری مازندران سال ۱۳۸۹ شیوع ۷۰ درصدی ژن CTX-M گزارش شد (۴۰)، که به نظر می‌رسد میزان شیوع این ژن سیر افزایشی دارد. در بیماران بستری هندوستان سال ۲۰۰۸ CTX-M با شیوع ۸۵/۴ درصدی رایج‌ترین ژن ESBL بوده است (۴۱). مطالعه‌ای در بیماران سرپایی ترکیه

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

سال ۲۰۱۰، ۲۲ درصد دارای ژن CTX-M بودند (۴۲). در بیماران سرپایی و بستری اسپانیا سال ۲۰۰۳ در جدایه‌های مولد ESBL فراوانی ژن CTX-M، ۲۴ درصد بود (۴۳). در یک مطالعه در بیماران سرپایی و بستری ۹ کشور اروپائی بین سال‌های ۲۰۰۳ تا ۲۰۰۶ انجام شد، که در میان جدایه‌های مولد ESBL، فراوانی CTX-M، ۷۲ درصد بود (۴۴). نتیجه مطالعه ما و مطالعات فوق نشان می‌دهد باکتری‌های اشریشیاکلی مولد ESBL شیوع روزافزون دارند و ژن بتالاکتاماز CTX-M با سرعت بیشتری در حال ازدیاد است. به نظر می‌رسد انتشار کلونال سویه‌های حامل ژن بتالاکتاماز CTX-M الگوی مصرف سفالوسپورین‌ها در درمان عفونت‌ها و از طرف دیگر انتقال پلاسمیدها بین سویه‌های مختلف، نقش مهمی را در شیوع بالای منطقه‌ای ژن‌های بتالاکتاماز CTX-M در سویه‌های انتروباکتریاسه بازی می‌کند، از طرفی قابلیت انتقال این ژن از مخازن حیوانی(ماکیان(به انسان‌ها به عنوان دیگر عوامل شیوع این ژن حائز اهمیت است (۴۵).

بر اساس نتایج این مطالعه، مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف به خصوص مقاومت به بتالاکتام‌ها و سفالوسپورین‌های نسل سوم یک معضل جدی رو به پیشرفت است. تولید ESBL تهدیدی بزرگ برای مصرف سفالوسپورین طیف گسترده به شمار می‌رود. بنابراین برای درمان عفونت‌هایی که عوامل ایجاد کننده آن احتمالاً تولید کننده ESBL اند، باید آنتی‌بیوتیک مناسب به دقت انتخاب شود. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، ژن‌های مولد بتالاکتاماز CTX-M که تنها جزیی از خانواده بزرگ ESBL ها می‌باشد در سویه‌های اشرشیاکلی این منطقه شیوع بالایی دارند که ضرورت کنترل و پایش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها را نشان می‌دهد. بنابراین جهت شناخت بیشتر اپیدمیولوژی و میزان شیوع دیگر ژن‌های مولد ESBL در این منطقه به مطالعات بیشتری نیاز است.

سپاس و قدر دانی

تمام افرادی ما را در انجام این طرح یاری نمودند به خصوص پرسنل آزمایشگاه میکروب‌شناسی، آقای صفریان و آقای فروغی سپاسگزاری می‌نماییم.

References:

1. Barratt M, Avner ED, Harmon WE. Pediatric nephrology. 4th ed. Pensylvania: Lippincott, Williams& Wilkinas; 2000. P. 158-67.
2. Talan DA, Naber KG, Paulo J, Elkharrat D. Extended-release Ciprofloxacin for treatment of urinary tract infections. Actas Urol ESP 2004; 23: 54-66.
3. Sobel J, Kaye D. Urinary treat infections. In: Mandell G, Bennet J, Dolin R. principles & practice of infectious diseases. 5th ed. Churchil-Livingstone; 2000.P.777-800.
4. Murray PR, Drew WL, Kobayashi GS,Thompson JH. Medical Microbiology (International Student Edition).Pub. USA: Wolfe Publishing; 2010. P.103-7.
5. Wiener J, Quinn JP, Bradford PA, Goering RV, Nathan C, Bush K, et al. Multiple antibiotic–resistant Klebsiella and E.coli in nursing homes. JAMA 1999; 281: 517-23.
6. Gupta K, Scholes D, Stamm WE. Increasing prevalence of antimicrobial resistance among uropathogens causing acute uncomplicated cystitis in women. JAMA 1999; 281: 736-8.
7. Kerrn MB, Klemmensen T, FridmodtMoller N, Skirrow MB. Susceptibility of Danish Escherichia coli strains isolated from urinary tract infections and bacteraemia, and distribution of sul genes conferring sulphanamide resistance. JAC 2002; 50: 513-6.
8. Li Q, Lee JY, Castillo R, Hixon MS, Pujol C, Doppalapudi VR, et al. A novel antibacterial agent with broad-spectrum activity and enhanced potency against beta-lactamase-producing strains. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46(5): 1262-8.
9. Tenover FC, Raney PM, Williams PP, Rasheed JK, Biddle JW,Oliver A, et al. Evaluation of the NCCLS extended-spectrum beta-lactamase confirmation methods for Escherichia coli with isolates collected during Project ICARE. J Clin Microbiol 2003; 41(7): 3142.
10. Rodriguez-Bano J, Alcala JC, Cisneros JM, Grill F, Oliver A, Horcajada JP, et al. Community

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

infections caused by extended spectrum beta lactamase producing Escherichia coli. Arch Intern Med 2008; 168: 1897-902.

11. Rodriguez-Bano J, Navarro MD, Romero L. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta lactamase producing Escherichia coli in non hospitalized patients. J Clin Microbiol 2004; 42: 1089-94.
12. Mugnaioli C, Luzzaro F, De Luca F, Brigante G, Perilli M, Amicosante G, et al. CTX-M type extended-spectrum beta-lactamases in Italy: molecular epidemiology of an emerging countrywide problem. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50(8): 2700-6.
13. Bush K. Classification of beta-lactamase. Antimicrob Agents Chemother 1989; 33(3): 264–70.
14. Hanna E, David L, Jennifer M, Ewan L, Anthony W, Carlene A, et al. Molecular epidemiology of CTX-M-producing Escherichia coli isolates at a tertiary medical center in western Pennsylvania. Antimicrob Agents Chemother 2009; 53: 4733-39.
15. Arpin C, Coulange L, Dubois V, Andre C, Fischer I, Fourmaux S, et al. Extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae strains in various types of private health care centers. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 3440-4
16. Fauci S, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al. Harrison's Principles of Internal Medicine. 17th ed. USA: McGraw-Hill; 2008.
17. Washington C, Stephen A, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Lippincott, wiiliams&wilkins; 2006.P.775-79.
18. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 21th informational supplement(M100-S21). National Committee For Clinical Laboratory Standards wayne, pa. 2011.
19. Edelstein M, Pimkin M, Edelstein I, Stratchounski L. Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in Russian hospitals. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47(12): 3724-32.
20. Marrs CF, Zhang L, Foxman B. Escherichia coli mediated urinary tract infection: are there distinct uropathogene E. coli (UPEC) pathotypes culture media. FEMS Microbiol Lett 2005; 252(2): 183-19.
21. Zilevica A. Hospital Acquired and community Acquired uropathologens modeling of infection. Bioautomation 2005; 3: 63-67.
22. Mahon CR, Lehman D C, Manuselis G. Textbook of Diagnostic microbiology, 3th ed, China: Sunders & Elsevier; 2011: 1011.
23. 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 2012; 11(1): 86-94. (Persian)
24. Mirsalehian A, Jabalameli F, Mirafshar SM, Bazarjani F, Gorjipor A, Goli HR. Determination of antimicrobial resistance patterns and extended spectrum β lactamases in clinical isolates of E. coli. Tehran Univ Med J 2008; 66(6): 373-8. (Persian)
25. Farshad Sh, Anvarinejad M, Mehrabi Tavana A, Japoni A, Hoseini M, Shahidi M. Molecular epidemiology of E.coli strains isolated from urinary tract infection in children. J Jahrom Univ Med Sci 2009; 7: 1. (Persian)
26. Mokhtarian H, Ghahramani M, Nourzad H. A study of antibiotic resistance of Escherichia coli isolated from urinary tract infection. Ofogh

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

Danesh J Gonabad Uni Med Sci 2006; 12: 3. (Persian)

27. Akram M, Shahid M, Khan AU. Etiology and antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in J N M C Hospital Aligarh, India. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2007;6:4.
28. Lee SJ, Lee DS, Choe HS, Suk SB, Eui KM, Cho YH. Antimicrobial resistance in community-acquired urinary tract infections: results from the Korean Antimicrobial Resistance Monitoring System. J Infect Chemother 2011; 17: 440-6.
29. Mantadakis E, Tsalkidis A, Panopoulou M, Pagkalis S, Tripsianis G, Falagas M, et al. Antimicrobial susceptibility of pediatric uropathogens in Thrace, Greece. Int Urol Nephrol 2011; 43: 549-55.
30. Wolff O, Maclennan C. Evidence behind the WHO guidelines: hospital care for children: what is the appropriate empiric antibiotic therapy in uncomplicated urinary tract infections in children in developing countries? J Trop Pediatr 2007 Jun;53(3):150–2.
31. Nakhaee Moghaddam M, Moshrefi S. Determining the antibiotic resistance patterns of urinary isolates of Escherichia coli and prevalence of extended spectrum beta lactamases (ESBL) among them. J Sabzevar Univ Med Sci 2010; 16(4): 228-33. (Persian)
32. Tashakori M, Farokhnia M, Zia Sheikhaleslami N, Mirzaei T, Yosefi H, Mokhtari F. Evaluation of producing extended spectrum beta lactamases among isolated Escherichia coli from patients suffering from urinary tract infections. J Rafsanjan Univ Med Sci 2011; 10(1): 62-8. (Persian)
33. Jalalpour S, Mobasherizadeh S. Frequency of ESBLs in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae strains isolated from hospitalized and out-patients with urinary tract infection in selective centers in Esfahan (2009-2010). Razi J Med Sci 2011; 18(85): 7-16. (Persian)
34. Guidoni EMB, Berezin EN, Nigro S. Antibiotic resistance patterns of pediatric community Acquired urinary infection. Brazillian J Infec Disease 2008; 12(4): 321-3.
35. Shahcheraghi F, Nasiri S , Naviri H. Evaluation of presence the bla-SHV and bla-TEM ß-Lactamase genes in clinical isolates resistant Escherichia coli to antibiotics from Tehran hospital. Iran J Med Microbiol 2005; 1: 1-8. (Persian)
36. Kiffer C, Hsiung A, Oplustil C, Sampaio J, Sakagami E, Turner P, et al. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative bacteria in Brazilian hospitals. Braz J Infect Dis 2005; 9: 216-24.
37. Pornour M, Nahaei M, Mobayen H, Mobasher A. Molecular Study of TEM Type extended spectrum beta Lactamase Genes in Escherichia Coli and Klebseilla Pneumoniae Isolates. J Tabriz Univ Med Sci 2010; 32: 2. (Persian)
38. Andrade SS, Sader SH, Jones RN, Pereira AS, Pignatari AC, Gales AC. Increased resistance to first-line agents among bacterial pathogens isolated from urinary tract infections in Latin America. Men Inst Oswaldo Cruze 2006; 101(7): 741-48.
39. Mirzaee M, Pourmand MR, Chitsaz M, Mansouri S. Antibiotic resistance to third generation cephalosporins due to CTX-M-Type extended spectrum beta Lactamase in clinical isolates of Escherichia coli. Iranian J PublHealth 2009; 1: 17. (Persian)
40. Yazdi M, Nazemi A, Gaemi E, Babaei Kochaksaraei M, Ghayomi M. Prevalence of SHV/CTX-M/TEM (ESBL) Beta lactamase Resistance Genes in Escherichia Coli isolated from urinary tract infections in Tehran, Iran. J Golestan Univ Med Sci 2010; 4 (1): 48-54. (Persian)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

41. Goyal A, Prasad KN, Prasad A, Gupta S, Ghoshal U, Ayyagari A. Extended spectrum beta Lactamase in Escherichia coli & Klebsiella pneumoniae & associated risk factors. Indian J Med Res 2009; 129: 695-700.
42. Burcu B, 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. African J Microbio 2010; 4(8): 650-4.
43. Calbo E, Romaní V, Xercavins M, Gómez L, Vidal CG, Quintana S, et al. Risk factors for community-onset urinary tract infections due to Escherichia coli harbouring extended-spectrum beta-lactamases. J Antimicrob Chemother 2006;57(4):780–3.
44. Schito GC, Naber KG, Botto H, Palou J, Mazzei T, Gualco L, et al. The ARESC study: an international survey on the antimicrobial resistance of pathogens involved in uncomplicated urinary tract infections. Int J Antimicrob Agents 2009;34(5):407–13.
45. Bertrand S, Weill FX, Cloeckaert A, Vrints M, Mairiaux E, Praud K, et al. Clonal emergence of extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-2)-producing Salmonella enterica serovar Virchow isolates with reduced susceptibilities to ciprofloxacin among poultry and humans in Belgium and France (2000 to 2003). J Clin Microbiol 2006; 44(8): 2897-903.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

Original Article

THE FREQUENCY OF ANTIBIOTIC RESISTANCE AND CTX-M GENE IN ESCHERICHIA COLI ISOLATED FROM URINARY TRACT INFECTIONS OF OUT-PATIENTS IN KERMANSHAH

Mehrdad Khodadoost[1], Alisha Akya[2], Seyed Mansour Ale Taha[3], Shirrin Adabagher[4]*

Received: 19 Feb, 2013; Accepted: 25 Apr, 2013

Abstract

Background & Aims: One of the most prevalent bacterial infections is urinary tract infection (UTI); and *Escherichia coli* has been isolated from 75-90 percent of UTI cases. On the other hand, the rate of community acquired UTI caused by extended spectrum beta-lactamase producing *E. coli*, in particular *bla*CTX-M is increasing worldwide. Therefore, this study aimed to assess the pattern of antibiotic resistance, ESBL frequency, and *bla*CTX-M gene in *E. coli* isolated from UTI of out-patients.

Materials & Methods: This study was carried out on the urinary samples of out-patients and 140 *E. coli* strains isolated. Then the susceptibility of isolates to 10 selected antibiotics was tested using disc diffusion method. Later, the ESBL producer strains were confirmed using combined discs method. Finally, the *bla*CTX-M gene was determined in ESBL producer isolates using PCR.

Results: Of 140 isolates, 81.43 % and 62.13% showed resistance to ampicillin and Co-trimoxazole, respectively, but 100% were sensitive to imipenem. Moreover, 34 (24.28%) isolates were ESBL producers. PCR showed that 30(88%) of ESBL producer isolates contained CTX-M gene.

Conclusion: Resistance to various beta-lactam antibiotics in particular the third generation of cephalosporins is a serious concern. The production of ESBL, in particular in isolates of out-patients, is a big threat for use of the broad spectrum cephalosporins. Given the presence of CTX-M gene in the high proportion of the isolates, more molecular and epidemiological studies on pathogenic bacteria in this region is required.

Keywords: Urinary tract infection, Escherichia coli, CTX-M

Address: Microbiology Department, Medical School, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran ***Tel***:+98831 4274618
Email: aakya@kums.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2013: 24(5): 328 ISSN: 1027-3727

[1] *MSc of Medical Microbiology, Islamic Azad University, Sciences and Research Group, Arak, Iran*
[2] *Assistant professor of Medical Microbiology, Nosocomial Infection Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran (Corresponding Author)*
[3] *MSc of Medical Microbiology, Medical School, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran*
[4] *BSc of Medical Microbiology, Medical School, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]