(مقاله پژوهشی)

مقایسه حساسیت آنتی بیوتیکی سویه های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه جداشده از عفونتهای ادراری نسبت به پنج آنتی‌بیوتیک با روش های میکرودایلوشن و انتشار روی دیسک

فاطمه یکتا دوست[1]، علی کاظمی[2*]، روزبه یلفانی[2]

چکیده

زمینه و هدف: میکروارگانیسم‌های مختلفی می‌توانند سبب عفونت ادراری شوند، اما خانواده باکتری‌های آنتروباکتریاسه نظیر*اشریشیاکلی* و *کلبسیلا*، بیشترین عامل مسبب عفونت ادراری باکتریایی می‌باشند. لذا، در این مطالعه به بررسی میزان مقاومت دارویی سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* و *اشریشیا کلی* نسبت به پنج آنتی‌بیوتیک رایج، پرداخته شد.

روش بررسی: این مطالعه آزمایشگاهی روی۱۰۰ سویه (۵۰ سویه کلبسیلا، ۵۰ سویه *E.coli*) جدا شده از بیماران سرپایی دارای عفونت ادراری (۸۱ زن، ۱۹ مرد) با میانگین سنی ۱۸/۱۵ ± ۴۳/۳ که تست های تفریقی بیوشیمیایی ورنگ آمیزی گرم جهت شناسایی دقیق سویه ها انجام شد. تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ، از دو روش انتشار روی دیسک (کربی بائر) و میکرودایلوشن براث مطابق با دستور العملCLSI M7 انجام شد. نتایج بدست آمده با نرم‌افزار SPSS 23 نسخه ۱۷مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقادیر$P<0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: از ۵۰ نمونه *Ecoli*، ۴۵ نمونه نسبت به ایمی پنم، ۳۸ نمونه نسبت به سفتریاکسون وسیپروفلوکساسین، ۱۸ نمونه نسبت به کوآموکسی کلاو و ۱۹ نمونه نسبت به کوتریموکسازول حساس بودند. از ۵۰ نمونه کلبسیلا ، ۴۵ نمونه نسبت به ایمی پنم ، ۳۵ نمونه نسبت به سفتریاکسون،۳۷ نمونه نسبت به سیپروفلوکساسین، ۲۰ نمونه نسبت به کوآموکسی کلاو و ۲۱ نمونه نسبت به کوتریموکسازول حساس بودند که نتایج هردو روش با هم انطباق داشت.

نتیجه‌گیری: نوع روش استفاده شده در تست حساسیت آنتی بیوتیکی تاثیری در نتایج ندارد اما استفاده ب رویه و سرخود از آنتی بیوتیک ها باید کنترل گردد.

واژه‌های کلیدی: عفونت ادراری، اشریشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه، روش میکرودایلوشن براث، روش انتشار روی دیسک.

۱-کارشناس ارشد میکروبیولوژی.
۲- استادیار گروه پرستاری.

۱-گروه میکروبیولوژی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.
۲-گروه پرستاری، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

*نویسندهٔ مسؤول:
علی کاظمی؛ گروه پرستاری، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.
تلفن: ۰۰۹۸۹۱۲۷۱۶۰۰۵۲
Email: alikazemi611@gmail.com

دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۲/۲۷ **دریافت مقالهٔ اصلاح‌شده: ۱۳۹۶/۵/۱۸** **اعلام قبولی: ۱۳۹۶/۵/۲۱**

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

مقاومت آنتی‌بیوتیکی یک مشکل اساسی در روند درمان و کنترل عفونت‌ها محسوب می‌شود. عفونت‌های ادراری از شایع‌ترین عفونت‌های بیمارستانی ودومین عفونت شایع در انسان می باشد. حدودا ۸۰ تا ۹۰ درصد عفونتهای مجاری ادراری غیر بیمارستانی به وسیله *اشریشیاکلی* ایجاد می‌شود(۱). از دیگر عوامل مهم در عفونت‌های مجاری ادراری در گروه‌های سنی متفاوت، باکتری *کلبسیلا* می‌باشد (۲). *کلبسیلا* عامل بیماری‌زای فرصت طلب و در ۱۷-۶ درصد از عفونت‌های مجاری ادراری بیمارستانی نقش دارد. درنمونه گیری های معمول، عفونت دستگاه ادراری با رشد باکتری های پاتوژن بیش از 10^5 کلونی در هرمیلی لیتر ادرار با تست نواری مثبت یا آزمایش ادرار تشخیص داده می‌شود (۳). عفونت‌های ادراری در دو دسته‌ی عفونت‌های فوقانی و تحتانی دسته‌بندی که هرکدام به دو دسته complicated و non-complicated تقسیم می‌شوند. علائم بالینی در عفونت‌های ادراری تحتانی، معمولا با تکرر و سوزش ادرار، پیوری، درد رحمی در خانم‌ها، درد پشت و تب همراه است (۴).

عوامل تشدیدکننده خطر ابتلا به عفونت دستگاه ادراری شامل عوامل فیزیولوژیکی و آناتومیکی هستند. اختلالات دستگاه ادراری در جریان دفع ادرار و تخلیه مثانه از عوامل افزایش دهنده عفونت دستگاه ادراری می‌باشند. به عنوان مثال بیمارانی که به دلیل اسکلروز متعدد Multiple Sclerosis، سرطان و سنگ مثانه در دفع ادرار مشکل دارند، مستعد عفونت هستند(۵). زنان نیز بخاطر آناتومی خاص دستگاه ادراری و دسترسی سریع پاتوژنها به مثانه، بیشتر در معرض ابتلا به عفونت های ادراری قرار دارند. دیگر عوامل مستعدکننده عفونتهای ادراری شامل بارداری، دیابت شیرین و استفاده از سوندهای ادراری می باشند. درمان عفونت نیز با توجه به ویژگی های خاص بیمارمانند شدت علائم، داشتن آلرژی، نتایج آزمون‌های میکروبی (در صورت وجود)، عوامل خطر برای ایجاد مقاومت، با انتخاب آنتی بیوتیک مناسب انجام می شود. داروهای شایع مورد استفاده دردرمان سیستیت شامل نیتروفورانتوئین، کوتریموکسازول و یا فوسفومایسین است اما در درمان عفونت‌های سیستم ادراری فوقانی داروهای سیپروفلوکساسین، سفادروکسیل، سفتریاکسون و کوآموکسی کلاو استفاده می گردند که درصورت بروزمقاومت ، پرخطر بودن بیماری و یا استفاده اخیر داروی مربوطه توسط بیمار از داروهای دیگری نظیرایمی پنم استفاده می گردد.

میزان مقاومت باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه به خصوص *اشریشیاکلی* و *کلبسیلا* به داروهای ضد میکروبی مختلف، به علت مکانیسم‌های مقاومت اکتسابی، بسیار متغیر است. مکانیسم مقاومت اکتسابی اولیه می‌تواند به صورت دریافت ژن‌های مقاوم دارویی از طریق پلاسمید، ترانسپوزون و یا موتاسیون در باکتری باشد که نسبت به آنتی بیوتیک های خاصی از همان بدو ورود به بدن از قبل مقاومت نشان می دهد (۶). اما مقاومت اکتسابی ثانویه با توجه به استفاده بی‌رویه و نامنظم از داروهای ضد باکتریایی می‌تواند بروز نماید. درمطالعه عباس زاده و همکاران باعنوان الگوی حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی درسویه های *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده از نمونه های بالینی درتهران در سال ۹۰ عنوان کرد بیشترین میزان مقاومت دارویی نسبت به سیپروفلوکساسین، سفتریاکسون وجنتاماسین بود که افزایش چشمگیر در مقاومت دارویی نسبت به داروهای سیپروفلوکساسین و سفتریاکسون زنگ خطری جدی تلقی می‌گردد(۷). لذا، با توجه به افزایش روز افزون مقاومت دارویی و تاثیر ناهمگون آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بر روی آن‌ها، دراین مطالعه مقایسه حساسیت دارویی سویه های *اشریشیا کلی* و *کلبسیلاپنومونیه* جداشده از عفونتهای ادراری نسبت به داروهای سفتریاکسون، ایمی‌پنم،

Archive of SID

www.SID.ir

سیپروفلوکساسین، کوتریموکسازول، کوآموکسی کلاو با دو روش میکرودایلوشن و انتشار روی دیسک انجام شد.

روش بررسی

نمونه گیری:

این مطالعه آزمایشگاهی و مقطعی روی ۱۰۰ سویه (۵۰ سویه *کلبسیلا* ، ۵۰ سویه *E.coli*)، جداشده ازبیماران سرپایی مراجعه کننده به بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص) در بازه زمانی فروردین تا شهریور سال ۹۵ انجام شد. کل نمونه های ادراری مشکوک ۱۴۰ مورد که از این میان۹۰ نمونه *E.coli*، ۵۰ مورد نمونه *کلبسیلا پنومونیه* بود. جهت ارزیابی یکسان حساسیت آنتی بیوتیکی، ۵۰ نمونه با روش تصادفی ساده بدون جایگزینی از ۹۰ نمونه *E.coli* انتخاب و حساسیت آنتی بیوتیکی روی ۱۰۰ نمونه (۵۰ نمونه *E.coli* ، ۵۰ نمونه *کلبسیلا*) انجام شد. از ۱۰۰ نمونه مورد مطالعه، ۸۱ نمونه ازخانم ها و ۱۹ نمونه از مردان جداشده بود به طوریکه حداقل سن بیمار ۲، حداکثر سن ۷۵ سال و میانگین سنی بیماران ۱۸/۱۵ ± ۴۳/۳ سال بود.

معیار ورود نمونه کلیه بیماران مشکوک به عفونت ادراری بدون محدودیت سنی، جنسیتی و معیار خروج نمونه انصراف آنان از انجام آزمایش، استفاده از آنتی بیوتیک قبل از نمونه گیری، بیماران دارای سنگ کلیه بود. نحوه نمونه گیری بدین صورت بود که حدود ۱۰تا۲۰ میلی‌لیتر از بخش میانی ادرار بیمارانی که توسط پزشک متخصص، مشکوک به داشتن عفونت ادراری تشخیص داده شدند، در ظروف پلاستیکی استریل جمع‌آوری و درکنار کیسه یخ به آزمایشگاه منتقل گردید. آزمون نواری ادرار برای تشخیص اولیه عفونت ادراری انجام شد. رنگهای مختلف ظاهر شده بر روی نوار ادرار نشان دهنده حضور لکوسیت استراز، نیتریت، خون و پروتئین در ادرار بود. کشت ادرار نیزانجام گرفت. ابتدا یک لوپ کامل (۰/۰۰۱ میلی لیتر) از هر نمونه ادرار، به پلیت های حاوی محیط‌های مک کانکی آگار و بلادآگار جهت رشد باکتریها منتقل و در انکوباتور ۳۷ °C در شرایط هوازی، بمدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت قرارگرفتند. از محیط‌های کشت دارای کلونی‌های مخلوط، کلنی‌های خالص حاصل وبا رنگ‌آمیزی گرم و تست‌های بیوشیمیایی نوع باکتری جدا شده تعیین گردید.

جداسازی بر اساس خصوصیات بیوشیمیایی

با تست‌های بیوشیمیایی، کلنی‌های جدا شده ارزیابی و با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی (MR-VP، TSI، SIM، سیمون سیترات) سویه‌های *اشریشیاکلی* و *کلبسیلا* پنومونیه بهترشناسایی و جداسازی‌شدند.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی(MIC) با استفاده از روش میکرودایلوشن

پس از خالص سازی نمونه ها، آزمایش MIC در پلیت های ۹۶ خانه‌ای مطابق با دستور العملCLSI M7 به روش میکرودایلوشن انجام گرفت. برای این منظور ۱۰ رقت متوالی از هردارو دریک سری ۱۰ تایی لوله های استریل تهیه شد بطوریکه رقت هر لوله ، نصف رقت دارو در لوله قبلی بود.

تهیه استوک باکتری

۹۹۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هینتون براث با ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی (معادل نیم مک فارلند) مخلوط ، به طوریکه غلظت نهایی باکتری در آن به ۱×۱۰^{۶} CFU/ml شد.

تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش میکرودایلوشن

۱۰۰میکرولیتر از استوک باکتری به همراه ۱۰۰ میکرولیتر از رقت های دارویی از میزان ۰/۱۲۵ تا ۶۴ میکروگرم در میلی لیتر در هرچاهک ریخته شد. (حجم نهایی هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر). ۲ چاهک آخر که به عنوان کنترل منفی و مثبت در نظر گرفته شدند. چاهک

Archive of SID

www.SID.ir

کنترل مثبت حاوی ۲۰۰ میکرولیتر از استوک میکروبی موردنظر و چاهک کنترل منفی حاوی ۲۰۰ میکرولیتر از استوک اولیه دارو بود. سپس میکروپلیت را به مدت ۳۰ ثانیه روی شیکر قرار داده شد تا کاملا مخلوط شود، سپس میکروپلیت ها را به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتوردر دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. آزمایشات برای هر باکتری ۲ بار تکرار شد و تمام مراحل زیر هود و در کنار شعله انجام گرفت. بعد از ۲۴ ساعت، وجود کدورت (در مقایسه با ردیف کنترل) حاکی از رشد باکتری و شفافیت نشان دهنده عدم رشد باکتری بود. پایین‌ترین غلظتی که در آن هیچ گونه رشد باکتری مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC_{50}) در نظر گرفته شد. از سویه استاندارد PTCC ۱۳۹۹ به عنوان کنترل کیفی نحوه انجام کار استفاده شد.

تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش انتشار روی دیسک

این تست حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌ها، توسط دیسک‌های تجاری استاندارد با روش کربی بائرانجام شد. بدین ترتیب که ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی(معادل ۰/۵ مک فارلند استاندارد) به کمک میکروپیپت در شرایط استریل به سطح محیط مولر هینتون آگار منتقل و با چرخش ملایم بر روی تمام قسمت‌ها توزیع گردید. پس ازخشک شدن محیط‌های کشت بمدت ۵ تا ۱۰ دقیقه، در شرایط استریل زیر هود، دیسک‌های آنتی بیوتیکی بصورت جداگانه و با کمک پنس استریل، در فاصله مساوی از یکدیگر بر روی سطح مولر هینتون آگار قرار داده شد. دیسکها شامل داروهای سفتریاکسون (۳۰µg)، ایمی‌پنم (µg ۱۰)، سیپروفلوکساسین(µg ۵)، کوتریموکسازول (µg ۲۵)، کواموکسی کلاو (µg ۲۰/۱۰)، که از شرکت پادتن طب تهیه گردیده بود. پلیت‌ها دردمای ۳۷ °C بمدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند تا پس از این مدت قطر هاله عدم رشد با کولیس‌های فلزی اندازه‌گیری شود. اندازه‌ها بر اساس جدول استاندارد CLSI، در دو گروه حساس و مقاوم قرار گرفتند. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرارگرفت و ($P<۰/۰۵$) معنادار در نظرگرفته شد.

یافته ها

از لحاظ توزیع سنی نمونه های جداشده درخانمها نتایج بدین قرار بود که در مورد *E.coli* و *کلبسیلا*، ۷ نمونه از سنین زیر ۱۸ سال، ۱۱ نمونه بین ۲۹-۱۸ سال ، ۳۵ نمونه بین ۴۵- ۳۰ سال، ۲۸ نمونه بیش از ۴۵ سال و در آقایان ۲ نمونه بین ۴۵-۳۰ سال و ۱۷ نمونه بیش از ۴۵ سال سن داشتند. تقسیم‌بندی گروه‌های سنی بر اساس توزیع سنی نمونه‌های مورد مطالعه بود. بین دو گروه از نظر تعدادنمونه، اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده شد($P=۰/۰۲۰$). (جدول ۱-۱).

نوار ادراری :

از مجموع ۱۰۰ نمونه ادرای، ۹۸ درصد لکوسیت استراز مثبت و ۸۸ درصد نیتریت مثبت بودند. بر اساس بررسی‌های میکروسکوپی ادرار، ۹۰ درصد از نمونه‌های گرفته شده از بیماران برای پیوری و ۸۶ درصد برای باکتریوری مثبت بودند. از کل ۱۰۰ نمونه ادرار، ۸۰ درصد مثبت برای رشد پاتوژن‌های ادرار روی محیط آگار خونی و ۹۲ درصدمثبت برای رشد در محیط مک کانگی آگار مشاهده شدند.

تست **خصوصیات بیوشیمیایی:**

با انجام تست های بیوشیمیایی تفریق بین دوباکتری انجام شدبه طوریکه *E.coli* : سیترات- ، اندول+ ، حرکت ± و vp - در حالی که *کلبسیلا*، سیترات +، اندول± حرکت ± ، vp + بود.

نتایج تست حساسیت آنتی بیوتیکی :

Archive of SID
www.SID.ir

از ۵۰ نمونه *Ecoli* ، ۴۵ نمونه (۹۰ درصد) نسبت به ایمی پنم، ۳۸ نمونه (۷۶ درصد) نسبت به سفتریاکسون وسیپروفلوکساسین، ۱۸ نمونه(۳۶ درصد) نسبت به کوآموکسی کلاو و ۱۹ نمونه (۳۸ درصد) نسبت به کوتریموکسازول حساس بودند. از ۵۰ نمونه *کلبسیلا* ، ۴۵ نمونه(۹۰ درصد) نسبت به ایمی پنم، ۳۵ نمونه (۷۰ درصد) نسبت به سفتریاکسون،۳۷ نمونه (۷۴ درصد) نسبت به سیپروفلوکساسین،۲۰ نمونه(۴۰ درصد) نسبت به کوآموکسی کلاو و ۲۱ نمونه(۴۲ درصد) نسبت به کوتریموکسازول حساس بودند(جدول۲). نتایج هر دوروش در ارزیابی حساسیت دارویی کاملاباهم مطابقت داشت. نتایج میزان حساسیت دارویی داروهای ایمی‌پنم، سیپروفلوکساسین وسفتریاکسون با کوآموکسی کلاو وکوتریموکسازول در هردو سویه اختلاف معناداری نشان داد (P<۰/۰۵). درروش میکرودایلوشن کمترین MIC_{50} برای *Ecoli* و *کلبسیلا* در مورد داروهای سفتریاکسون و سیپروفلوکساسین$^{\mu g}/_{ml}$ ۰/۲۵، ایمی‌پنم $^{\mu g}/_{ml}$ ۰/۵، کوتریموکسازول $^{\mu g}/_{ml}$ ۲/۳ و آنتی‌بیوتیک کوآموکسی کلاو $^{\mu g}/_{ml}$ ۸/۴ بود اما MBC ارزیابی نگردید. از نظر آماری کمترین غلظت بازدارندگی دو باکتری برای آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون و سیپروفلوکساسین اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند (جداول ۳و۴).

جدول ۱: تفکیک نمونه های بدست آمده به تفکیک جنسیت و برخی خصوصیات دموگرافیگ

توزیع سنی وبرخی خصوصیات دموگرافیگ / جنس	زیر ۱۸ سال	۲۹ – ۱۸ سال	۴۵ –۳۰ سال	بیش از ۴۵ سال	تاهل	سابقه عفونت ادراری
زن	۷	۱۱	۳۵	۲۸	۷۰	۵۴
مرد	۰	۰	۲	۱۷	۱۹	۷
مجموع	۷	۱۱	۳۷	۴۵	۸۹	۶۱

جدول ۲: میزان حساس یا مقاوم بودن نمونه درهردو سویه *E.coli* و کلبسیلا دردوروش میکرودایلوشن و انتشار روی دیسک

سویه / دارو	*E.coli* تعداد نمونه حساس (درصد)	تعداد نمونه مقاوم (درصد)	کلبسیلا تعداد نمونه حساس (درصد)	تعداد نمونه مقاوم (درصد)
ایمی پنم	۴۵ (۹۰ درصد)	۵ (۱۰ درصد)	۴۵(۹۰ درصد)	۵ (۱۰ درصد)
سفتریاکسون	۳۸ (۷۶ درصد)	۱۲ (۲۴ درصد)	۳۵ (۷۰ درصد)	۱۵ (۳۰ درصد)
سیپروفلوکساسین	۳۸ (۷۶ درصد)	۱۲ (۲۴ درصد)	۳۷ (۷۴ درصد)	۱۳ (۲۶ درصد)
کوآموکسی کلاو	۱۸ (۳۶ درصد)	۳۲ (۶۴ درصد)	۲۰ (۴۰ درصد)	۳۰ (۶۰ درصد)
کوتریموکسازول	۱۹ (۳۸ درصد)	۳۱ (۶۲ درصد)	۲۱(۴۲ درصد)	۲۹ (۵۸ درصد)

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۳: مقایسه تاثیرداروهای ایمی پنم، سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین، کوآموکسی کلاو وکوتریموکسازول روی سویه های *E.coli* به روش میکرودایلوشن براث و انتشار روی دیسک

دارو	میکرودایلوشن براث میانگین MIC ($\mu g.ml^{-1}$)	نتایج استاندارد CLSI در روش میکرودایلوشن			دیسکهای دارویی	انتشار روی دیسک (میانگین هاله عدم رشد، میلی متر)	نتایج استانداردCLSI روش انتشار روی دیسک		
		حساس	وابسته به دوز	مقاوم			حساس	وابسته به دوز	مقاوم
ایمی پنم	۰/۵–۱۶	<۴	۴–۱۶	≥۱۶	(۱۰µg)	۶–۲۷	≥۱۶	۱۴–۱۵	≤۱۳
سفتریاکسون	۰/۲۵–۶۴	<۸	۸–۶۴	≥۶۴	(۳۰ µg)	۶–۲۴	≥۲۱	۱۴–۲۰	≤۱۳
سیپروفلوکساسین	۰/۲۵–۸	<۱	۱–۴	≥۴	(۵ µg)	۶–۲۶	≥۲۱	۱۶–۲۰	≤۱۵
کوآموکسی کلاو	۸/۴–۳۲/۱	<۸/۴	۸/۴–۳۲	≥۳۲/۱	(۲۰/۱۰ µg)	۶–۱۹	≥۱۸	۱۴–۱۷	≤۱۳
کوتریموکسازول	۲/۳–۸/۱	<۲/۳	۱–۲	≥۸/۱	(۲۵ µg)	۶–۱۸	≥۱۶	۱۱–۱۵	≤۱۰

جدول ۴: مقایسه تاثیرداروهای ایمی پنم، سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین، کوآموکسی کلاو وکوتریموکسازول روی سویه های کلبسیلاپنومونیه به روش میکرودایلوشن براث و انتشار روی دیسک

دارو	میانگین MIC در روش میکرودایلوشن ($\mu g.ml^{-1}$)	نتایج استاندارد CLSI در روش میکرودایلوشن			دیسکهای دارویی (میکروگرم)	(میانگین هاله عدم رشد، میلی متر)	نتایج استانداردCLSI درروش انتشار روی دیسک		
		حساس	وابسته به دوز	مقاوم			حساس	وابسته به دوز	مقاوم
ایمی پنم	۰ /۵–۱۶	<۴	۴–۱۶	≥۱۶	(۱۰µg)	۶–۲۸	≥۱۶	۱۴–۱۵	≤۱۳
سفتریاکسون	۰/۲۵–۶۴	<۸	۸–۶۴	≥۶۴	(۳۰ µg)	۶–۲۶	≥۲۱	۱۴–۲۰	≤۱۳
سیپروفلوکساسین	۰/۲۵–۸	<۱	۱–۴	≥۴	(۵ µg)	۶–۲۵	≥۲۱	۱۶–۲۰	≤۱۵
کوآموکسی کلاو	۸/۴–۳۲/۱	<۸/۴	۸/۴–۳۲	≥۳۲/۱	(۲۰/۱۰ µg)	۶–۲۰	≥۱۸	۱۴–۱۷	≤۱۳
کوتریموکسازول	۲/۳–۸/۱	<۲/۳	۱–۲	≥۸/۱	(۲۵ µg)	۶–۱۹	≥۱۶	۱۱–۱۵	≤۱۰

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

از ویژگی‌های عفونتهای دستگاه ادراری این است که طیف گسترده‌ای از عوامل، مسبب عفونت می باشد و ممکن است درمان با آنتی‌بیوتیکها اثری بر آن نداشته باشد(۵). عفونت دستگاه ادراری ممکن است توسط قارچ‌ها و ویروس‌ها نیز ایجاد شود. قارچهایی، مانند کاندیدا بعنوان دومین علت بیمارستانی در عفونتهای ادراری کودکان شناخته شده اند و می‌توانند باگسترش سیستمیک تهدید آمیز باشند(۸). در این مطالعه میزان مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *E.coli* و *کلبسیلا* مسبب عفونت ادراری مورد بررسی قرار گرفت که شیوع کلی عفونت ادراری از تمام نمونه های مورد مطالعه بر حسب جنسیت بدین ترتیب بود که ۸۱٪ نمونه ها از زنان و ۱۹٪ نمونه ها از مردان جدا شده بود که این از لحاظ آماری معنادار بود($P<0/05$). در مجموع، بیشترین بیماران مبتلا به عفونت ادراری در هر دو جنس در گروه سنی بالای ۴۵ سال بودند و به دنبال آن، گروه سنی بزرگسال قرار داشتند. این مسئله نشان دهنده این است که سن، احتمالا یکی از عوامل مرتبط با عفونت‌های ادراری و شیوع بالای آن است، زیرا آتروفی دستگاه ادراری-تناسلی، تغییر در سطح استروژن و پروژسترون، پرولاپس واژن پس از یائسگی در زنان، سبب افزایش خطر ابتلا به عفونت می‌شود همچنین افزایش pH واژن و کاهش لاکتوباسیلوس واژن نیز اجازه رشدبه باکتری‌های گرم منفی به عنوان پاتوژنهای ادراری می دهد.

در مطالعه Hryniewicz و همکاراش در سال ۱۹۹۹ نمونه‌های جدا شده از ادرار بیماران مبتلا به عفونتهای ادراری شامل ۷۳٪ *E.coli* ، ۸/۹٪ پروتئوس، ۹/۶٪ سایر انتروباکتریاسه و در حدود ۲/۲ ٪ از نمونه ها هم گرم مثبت بودند. نتایج آنها نشان داد که باکتری *E.coli* نسبت به سفتریاکسون۱۰۰٪، سیپروفلوکساسین۹۵٪، کوتریموکسازول ۷۵٪ و کوآموکسی کلاو ۵۲٪ حساسیت داشتندکه با نتایج این مطالعه متفاوت بود زیرا مطالعه مذکور از لحاظ زمانی قدیمی است (۹). در مطالعه Abdelhalim و همکارانش در سال ۲۰۱۳، حساسیت آنتی بیوتیکی سویه های *E.coli* از نمونه‌های ادراری نسبت به آنتی‌بیوتیکهای سیپروفلوکساسین ۶۲٪، کوآموکسی‌کلاو ۶۴٪، سفتریاکسون ۴۴٪، کوتریموکسازول ۶۶٪، ایمی‌پنم ۲۴٪ مشاهده شد که با نتایج این مطالعه تفاوت داشت . شاید علت این تفاوت استفاده مکرر از دسته داروهای فلروکینولون ها مسبب مقاومت ۳۸ درصدی در کشور سودان باشد (۱۰).

در تحقیق Farhan و همکارانش در سال ۲۰۱۳، حساسیت آنتی‌بیوتیکی *کلبسیلا پنومونیه* مسبب عفونت ادراری مورد بررسی قرار گرفتو نتایج آنها نشان داد که حساسیت نسبت به کوآموکسی کلاو ۱۸/۲٪، کوتریموکسازول ۴۳/۱٪، سیپروفلوکساسین ۶۲/۵٪، سفتریاکسون ۶۶/۲٪ و ایمی‌پنم ۹۷/۷٪ مشاهده شد (۱۱). در تحقیق Noor-ul-Ain و همکارانش در سال ۲۰۱۴ مقاومت آنتی‌بیوتیکی *E.coli* های تولید کننده بتالاکتاماز، نسبت به آنتی‌بیوتیکهای سیپروفلوکساسین ۳۴/۱٪، کوآموکسی‌کلاو ۸۵٪ و کوتریموکسازول ۹۱/۸٪ بودکه با تحقیق حاضر درمورد سیپروفلوکساسین تاحدودی هم خوانی داشت (۱۲).

در مطالعه زمان زاد و همکاران در سال ۸۳ در شهرکرد عنوان شد میزان حساسیت *E.coli* نسبت به داروهای آمپی سیلین و کوتریموکسازول به ترتیب صفر و ۲۳/۸ درصد بود که درمورد کوتریموکسازول تقریبا با مطالعه ما هم‌خوانی داشت(۱۳). در مطالعه هروی و همکاران تحت عنوان بررسی مقاومت دارویی به آنتی بیوتیک های ایمی پنم وسیپروفلوکساسین به روش دیسک دیفیوژن و E-test در باکتری‌های عامل عفونت ادراری در سال ۹۲ در کاشان عنوان شد میزان حساسیت نسبت به

Archive of SID

www.SID.ir

ایمی‌پنم وسیپروفلوکساسین در باکتری *E.coli* به ترتیب صفر و۶۳ درصد گزارش شد که در مورد سیپروفلوکساسین تقریبا با مطالعه حاضر هم خوانی داشت (۱۴). درمطالعه پورعلی و همکاران در سال ۹۵ میزان مقاومت دارویی *کلبسیلا پنومونیه* نسبت به ایمی پنم ۳/۸ درصد عنوان شد که کمتر از مطالعه حاضر بود(۱۵). در مطالعه Jiménez-Guerraو همکاران در سال ۲۰۱۷ در ارزیابی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های *E.coli* و *کلبسیلا* عنوان کردند مقاومت دارویی دو سویه مذکور نسبت به سیپرو فلوکساسین و کوآموکسی کلاو درحال افزایش است اما خوشبختانه تغییری در میزان مقاومت دارویی نسبت به ایمی پنم حاصل نشده است(۱۶). در مطالعه عباس زاده و همکاران در طی سه سال متوالی ارزیابی الگوی مقاومت و حساسیت سویه‌های *کلبسیلا* عنوان شد بیشترین مقاومت دارویی نسبت به داروهای سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین و جنتامایسین و بیشترین حساسیت دارویی نسبت به ایمی پنم وسفوتاکسیم بوده است که با مطالعه حاضر همخوانی نداشت(۷). تحقیق‌های متفاوت در مناطق مختلف کشور و دنیا نشان ازوجود تفاوت در حساسیت‌های آنتی‌بیوتیکی دارد و این امر احتمالا به دلیل فرهنگ ونحوه استفاده مردم آن مناطق از آنتی بیوتیکهای رایج، ماده موثره دارو و سایر عوامل است ولی در مجموع نتایج نشان می‌دهد که میزان مقاومت نسبت به داروهای کوآموکسی‌کلاو و کوتریموکسازول نسبت به سایر آنتی‌بیوتیکها بالاتر است.

نتیجه گیری

با مقایسه هر دو روش برای تمامی نمونه‌ها مشخص شد که باکتریهای مورد مطالعه در مجموع نسبت به سفتریاکسون و سیپروفلوکساسین، ایمی پنم حساس و نسبت به کوتریموکسازول و کوآموکسی کلاو مقاومت بالایی را نشان دادند. استفاده ناقص از داروها جهت درمان عفونت ادراری، احتمالا احتمال انتقال افقی ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک، بین باکتریها می‌گردد و مقاومت آنتی‌بیوتیکی افزایش یابد، لذا باید از استفاده سرخود ونامنظم داروها به خصوص آنتی‌بیوتیک ها خودداری و با مراجعه به متخصص مربوطه و انجام تست های آزمایشگاهی درمان مناسب انجام شود.

قدردانی

با تقدیر و تشکر از همکاران محترم در آزمایشگاه بیمارستان رسول اکرم (ص) که در انجام این تحقیق یاری نمودند.

منابع

1-Gastmeier P, Schwab F, Bärwolff S, Rüden H, Grundmann H. Correlation between the genetic diversity of nosocomial pathogens and their survival time in intensive care units. Journal of Hospital Infection. 2006; 62(2):181-6.
2-Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. The American journal of medicine. 2002; 113(1):5-13.
3-Khalili M, MK SY, Ebadi M, Sadeh M. Correlation between urine analysis and urine culture in the diagnosis of urinary tract infection in Yazd central laboratory. Tehran University Medical Journal TUMS Publications. 2007; 65(9):53-8.
4-Ullah F, Malik SA, Ahmed J. Antimicrobial susceptibility pattern and ESBL prevalence in Klebsiella pneumoniae from urinary tract infections in the North-West of Pakistan. African Journal of Microbiology Research. 2009; 3(11):676-80.
5-Smith DR, Tanagho EA, McAninch JW. Smith's general urology: Lange Medical Books/McGraw-Hill; 2008.
6-Zorc JJ, Levine DA, Platt SL, Dayan PS, Macias CG, Krief W, et al. Clinical and demographic factors associated with urinary tract infection in young febrile infants. Pediatrics. 2005; 116(3):644-8.

Archive of SID
www.SID.ir

7-Molaabaszadeh H, Eslami K, Hamidi MD, Abadi RB. Antibiotics Profile of Klebsiella pneumonia, Araad Hospital. Tehran. 2008-2010. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2013; 18(62):37-41.
8-Gangoue-Pieboji J, Koulla-Shiro S, Ngassam P, Adiogo D, Ndumbe P. Antimicrobial activity against gram negative bacilli from Yaounde Central Hospital, Cameroon. African health sciences. 2006; 6(4):232-5.
9-Hryniewicz K, Szczypa K, Sulikowska A, Jankowski K, Betlejewska K, Hryniewicz W. Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from urinary tract infections in Poland. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2001; 47(6):773-80.
10-Abdelhalim KA, Ibrahim AM. Evaluation of antimicrobial resistance of urinary tract isolated Esherichia coli from Omdurman Teaching Hospital in Sudan. African Journal of Bacteriology Research. 2013; 5(6):76-7.
11-Abdullah FE, Mushtaq A, Irshad M, Rauf H, Afzal N, Rasheed A. Current efficacy of antibiotics against Klebsiella isolates from urine samples–a multi-centric experience in Karachi. Pak J Pharm Sci. 2013; 26(1):11-5.
12-Noor-ul-Ain Jameel HE, Zafar A, Amin H. Multidrug resistant AmpC β-lactamase producing Escherichia coli isolated from a paediatric hospital. Pakistan journal of medical sciences. 2014; 30(1):181.
13-Zamanzad B, Shirzad H, Naseri F. Comparison of the causative bacteria and antibacterial susceptibility pattern of nosocomial and community-acquired urinary tract pathogens in 13-35 years old women, Shahrekord, 2004 . Arak Medical University Journal. 2005; 8 (4) :23-30.
14-Afzali H, Momen-Heravi M. Evaluation of ciprofloxacin and imipenem resistance among uropathogenic bacterial strains using the disk diffusion and E-test methods in Shahid-Beheshti Hospital in Kashan during 2012-2013. Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences. 2015; 19 (4) :349-355.
15-Pourali SG, Mardaneh J. Characterization of BlackTX Gene and cross-resistance in klebsiella pneumonia isolated from hospitalized patients. Journal of Fasa University OF Medical Sciences 2016; 6 (1): 52 -59.
16-Jiménez-Guerra G, Heras-Cañas V, Béjar ML, Sorlózano-Puerto A, Navarro-Marí J, Gutiérrez-Fernández J. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae from urinary tract infections: Evolution of antimicrobial resistance and treatment options. Medicina clinica. 2017; S0025-7753(17)30651-6.

Archive of SID

www.SID.ir

Comparison of Antibiotic Susceptibility Testing of *Escherichia Coli* and Klebsiella *Pneumonia* Isolated from Urinary Tract infections against Five Antibiotics by Disc Diffusion and Microdilution Methods

Fatemeh Yektadoust [1], Ali Kazemi [2*], Rozbeh Yalfani[2]

1-M.sc of Microbiology.
2-Assistant Professor of Nursing.

1-Department of Microbiology (M.sc), Varamin- Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
2-Department of Nursing, College of Nursing, Varamin- Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

**Corresponding author:*
Ali Kazemi; Department of Nursing, College of Nursing and Midwifery, Varamin- Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
Tel: +989127160052
Email: alikazemi611@gmail.com

Abstract

Background and Objective: Different microorganisms can cause urinary tract infections, but Enterobacteriaceae family, like *Escherichia coli* and Klebsiella, are the most causative agents of urinary tract infections. So, in this study drug susceptibility testing of *Klebsiella pneumonia* and *Escherichia coli (E.coli)* was done to five common antibiotics.

Subjects and Method: This cross – sectional study was done on 100 samples (50 samples of Klebsiella, 50 samples of E.coli) isolated from patients with urinary infections (81 female, 19 male) with mean range 43.3±18.15 y on which biochemical separating tests and Gram staining was done for accurate identification of these strains. Antibiotic susceptibility test was done by disk diffusion (Kirby Bauer) and microdilution method in accordance with CLSI M7 guideline. Obtained data were analyzed by SPSS software 17 and values of $P<0.05$ were considered significant.

Results: From 50 strains of *E.coli*, 45 strains to imipenem, 38 strains to ceftriaxone and ciprofloxacin, 18 strains to co-amoxiclauv and 19 strains to co-trimoxazole were susceptible but from 50 strains of Klebsiella, 45 strains were susceptible to imipenem, 35 strains to ceftriaxone, 37 strains to ciprofloxacin, 20 strains to co- amoxiclauv and 21 strains to co-trimoxazole.

Conclusion: The type of method used in antibiotic susceptibility testing has no effect on results but spontaneous and irregular use of antibiotics should be controlled.

Keywords: Urinary infection, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Broth microdilution method, Disk diffusion method.

►*Please cite this paper as:*
Yektadoust F, Kazemi A, Yalfani R. Antibiotic Susceptibility Testing of Escherichia Coli and Klebsiella Pneumonia Isolated from Urinary Tract infections against Five Antibiotics by Disc Diffusion and Microdilution Methods. Jundishapur Sci Med J 2017; 16(5):525-534.

Received: May 16, 2016 **Revised: Aug 9, 2017** **Accepted: Aug 12, 2017**

Archive of SID
www.SID.ir