Archive of SID

مجلـه‌ی علمـی، پژوهشـی دانشـگاه علـوم پزشـکی زنجـان
دوره‌ی ۲۲، شمـاره‌ی ۹۳، مهـر و آبان ۱۳۹۳، صفـحات ۲۸ تا ۳۷

بررسی مقایسه‌ای الگوی مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی بر باکتری‌های گروه کلبسیلا در عفونت‌های ادراری و تعیین MIC ایمی‌پنم در سویه‌های MDR

دکتر محمد مهدی سلطان دلال[۱]، دکتر محمد کاظم شریفی یزدی[۲]

نویسنده‌ی مسوول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده‌ی بهداشت، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی و گروه پاتوبیولوژی Soltanirad۳٤@yahoo.com

دریافت: ۹۲/۱۰/۳۰ پذیرش: ۹۲/۱۲/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: *بروز بیماری‌های شدید به‌وسیله باکتری‌هایی که قبلا از گروه فلورطبیعی بدن شمرده می‌شوند، انسان را در معرض تهدیدهای جـدی قرار داده است. باکتری‌های گروه کلبسیلا KES (کلبسیلا، انتروباکتر، سراشـیا) کـه همگـی VP^+ هـستند، از جملـه میکـروب‌هـای تـاثیر گـذار در عفونت‌های ادراری می‌باشند. وجود سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها از مشکلات درمانی ناشی از این گروه باکتری‌هاست. هـدف از ایـن بررسـی تعیین مقایسه‌ای الگوی مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی بر باکتری‌های گروه KES در عفونت‌هـای ادراری و تعیـین MIC ایمـی‌پـنم در سـویه‌هـای MDR است.*

روش بررسی: *در این مطالعه که از نوع تجربی می‌باشد، ٤۰۰ نمونه ادرار بیمار مبتلا به UTI به روش Midstream Clean Catch مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی جمع‌آوری و جهت شناسایی باکتری‌های گروه کلبسیلا مورد بررسی قرار گرفتند. برای تعیین مقاومت به آنتی‌بیوتیـک‌هـا از روش دیسک دیفیوژن استفاده گردید. به‌علاوه از روش تهیه‌ی رقت در لوله Macrodilution Broth Test استفاده شد.*

یافته‌ها: *از ٤۰۰ نمونه‌ی ادرار بیمار مبتلا به عفونت ادراری، ۹٦ نفر (۲٤ درصد) علت آلودگی ناشـی از بـاکتری‌هـای گـروه کلبـسیلا (KES) بـود. بیشترین و کمترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها به‌ترتیب نسبت به آموکسی‌سیلین و آمیکاسین بود. نتایج MIC و MBC به‌دست آمده با استفاده از رقت‌های متوالی، محدوده‌ی غلظت‌هایی از ایمی‌پنم که رشد ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه و سراشیا مرسه سنس را متوقف ساخته، به‌ترتیب برابر با بیشتر از ۰/۲۵ تا ۱٦ و ۰/۲۵ تا ۸ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده است.*

نتیجه‌گیری: *نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که ایمی‌پنم داروی مناسبی برای درمان عفونت‌های باکتری‌های گروه کلبسیلا می‌باشد.*

واژگان کلیدی: کلبسیلا، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، حداقل غلظت مهار کننده، عفونت ادراری، ایمی‌پنم

مقدمه

بروز بیماری‌های شدید به‌وسیله‌ی باکتری‌هایی که قبلا جز فلـورطبیعی بـدن شـمرده مـی‌شـوند انـسان را در معـرض تهدیدهای جدی قرار داده است. باکتری‌های گـروه کلـی فـرم قسمت اعظم فلور طبیعی باکتری‌های هوازی روده را تـشکیل می‌دهند ولی به محض ورود به سایر نقاط بدن ایجاد عفونـت مـی‌کننـد و یکـی از عفونـت‌هـای شـایع بـا ایـن بـاکتری‌هـا عفونت‌های ادراری است که از بیماری‌های عفونی معمـول در هر سن و به‌خـصوص در زنـان مـی‌باشـد (۱،۲). بـاکتریوری

۱- دکترای تخصصی میکروب شناسی، دانشکده‌ی بهداشت، گروه پاتوبیولوژی و مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲- دکترای میکروب شناسی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، گروه علوم آزمایشگاهی و مرکز تحقیقات بیماری‌های مشترک انسان ودام (زئونوز)، دانشگاه علوم پزشکی تهران

www.SID.ir

Archive of SID

وجود بیش از صد هزار باکتری در هر میلی‌لیتر از ادرار است که به‌طور مناسب جمع‌آوری و به‌خوبی به آزمایشگاه ارسال شده باشد. این اصطلاح اولین بار توسط Kass در سال ۱۹۵٦ جهت تمایز عفونت ادراری و آلودگی در افراد فاقد علایم نیز به‌کار رفت. آنچه مسلم است این معیار نمی‌تواند به‌تنهایی یک معیار قطعی در تشخیص عفونت دستگاه ادراری باشد، چون در بیماران دارای علایم که آنتی‌بیوتیک و یا داروهای مهارکننده‌ی ایمنی مصرف می‌کنند و یا در مواقعی که pH ادرار کمتر از ۵ باشد، ممکن است تعداد باکتری کمتر از ۱۰۰/۰۰۰ در هر میلی‌لیتر باشد (۳). باکتری‌ها بیشترین گروه از ارگانیسم‌هایی هستند که باعث عفونت دستگاه ادراری می‌شوند. ترکیب عوامل باکتریایی بیشتر به عللی از قبیل حاد یا مزمن بودن عفونت و عود نمودن آن و دیگر اینکه عفونت در بیمارستان و یا خارج از آن اتفاق افتاده باشد، بستگی دارد. عفونت‌های *کلبسیلا* در خارج از بیمارستان کمتر دیده می‌شود. راه سرایت معمولا توسط دست پرسنل بیمارستان و گاهی محلول‌های آنتی‌سپتیک آلوده و ظروف و وسایل کار می‌باشد (۵و ٤).

دلیل اصلی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، درمان بیماری و کوتاه نمودن دوره آن می‌باشد. در چنین مواردی استفاده از یک داروی مناسب و موثر می‌تواند در درمان بیماری مفید واقع شود. البته بهتر است قبل و بعد از شروع درمان، جهت اطمینان نمونه ادرار به آزمایشگاه ارسال شود (٦). همچنین عدم درمان صحیح و به‌موقع عفونت‌های ادراری منجر به ضایعات و اختلالات کلیوی و نیز پیلونفریت و سپتی سمی می‌گردد. باتوجه به اینکه باکتری‌های گروه KES (*کلبسیلا، انتروباکتر، سراشیا*) که همگی VP^+ هستند، از جمله میکروب‌های موثر در عفونت‌های ادراری می‌باشند، لذا تعیین الگوی مقاومت دارویی آن‌ها، می‌تواند در پیشگیری و کاهش مقاومت آنتی‌بیوتیکی موثر باشد (۷). باکتری‌های گروه KES یعنی *کلبسیلا، انتروباکتر و سراشیا* جز فلور طبیعی بدن بوده، ولی در عفونت‌های ادراری جایگاه نسبتا مهمی را در میان سایر باکتری‌های گرم منفی دارند. به لحاظ افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی و وجود آنزیم بتالاکتاماز و در نتیجه مقاومت آنزیمی بتالاکتاماز با محدوده‌ی اثر وسیع در این‌گونه باکتری‌ها، مشکلاتی در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها ایجاد شده است (۸و۳).

شیوع سویه‌های فوق العاده مقاوم کلبسیلا پنومونیه مولد بتالاکتاماز برای اولین بار در بیماران بخش ICU مشاهده شد. از پانزده سال پیش اپیدمی‌های متعددی از عفونت با ارگانیسم‌های مولد بتالاکتاماز در سراسردنیا مشاهده شده است (۱۰و ۹). این پدیده تهدید بزرگی در استفاده از سفالوسپورین‌ها محسوب می‌شود (۱۱). با اینکه گزارشات زیادی در مورد عفونت قسمت‌های مختلف بدن و همچنین عفونت‌های بیمارستانی، توسط بعضی از این گونه‌ها، ارایه گردیده ولی با این وجود هنوز ارتباط بین گونه‌های مختلف کلبسیلا، انتروباکتر و سراشیا و خواص کلینیک وپاتولوژیک آن‌ها مشخص نشده است (۱۳، ۱۲).

مقاومت آنزیمی بتالاکتاماز یکی از انواع شایع مقاومت آنزیمی در باکتری‌های عامل عفونت‌های بیمارستانی است. تشخیص این نوع مقاومت در شرایط آزمایشگاهی مشکل بوده و از اهمیت خاصی برخوردار است، زیرا تعدادی از سویه‌های مقاوم علی رغم نشان دادن فنوتیپ حساس در شرایط آزمایشگاهی، تحت شرایط in vivo از خود مقاومت نشان می‌دهند. این مساله سبب عدم تشخیص مقاومت و درمان نامناسب و در نتیجه افزایش مرگ و میر در بیماران می‌گردد (۱٤،۱۵). لذا هدف از این مطالعه، بررسی مقایسه‌ای الگوی مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی بر باکتری‌های گروه KES درعفونت‌های ادراری و تعیین MIC ایمی‌پنم در سویه‌هایی با مقاومت چندگانه Multiple Drug Resistance (MDR) بود.

www.SID.ir

Archive of SID

روش بررسی

این مطالعه از نوع تجربی بود، و در سال‌های ۱۳۹۲-۱۳۹۱ برروی ٤۰۰ نمونه‌ی ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری که از بیماران بستری و سرپایی مراجعه کننده به بیمارستان آموزشی امام خمینی صورت پذیرفت. جهت کشت باکتری از محیط‌های کشت بلاد آگار، ائوزین متیلن بلو (EMB) (مرک) استفاده شد. پس از تلقیح نمونه‌ها بر روی محیط کشت مربوطه قرار داده، در آخر پلیت‌ها به‌مدت ۱۲ تا ۲٤ ساعت در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه و جهت تشخیص انواع کلبسیلا و سایر باکتری‌های این گروه KES از آزمایشات بعدی مانند اوره، TSI، SIM، سیمون سیترات، متیل رد، ایندول، وژرپروسکویر استفاده و در نهایت از پلاک API-۲۰E جهت شناسایی نهایی استفاده شد.

در نمونه‌گیری به روش Mid Stream حضور بیش از صدهزار باکتری در هر میلی‌لیتر در ادرار به عنوان باکتریوری مهم و تعداد بیش از ده هزار تا صد هزار در هر میلی‌لیتر ادرار به‌عنوان مورد مشکوک و تعداد بین ۱۰۰۰-۱۰۰۰۰ به‌عنوان آلودگی مشکوک و کمتر از ۱۰۰۰ منفی قلمداد گردید. پس از تایید گونه‌های گروه *کلبسیلا*، با استفاده از استانداردهای CLSI به‌منظور تعیین الگوی حساسیت از روش انتشار از دیسک (کربی بویر) استفاده گردید (۱٦). سپس تهیه‌ی سوسپانسیون میکروبی با کدورت معادل ۰/۵ مک فارلند (۰/۵ ml کلروباریم ۱٪ + ۹۹/۵ ml اسید سولفوریک ۱٪) و تلقیح با سوآب پنبه‌ای استریل بر روی پلیتی حاوی محیط مولر هینتون آگار، و سپس قرار دادن ۱۲ دیسک آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین، سفالوتین، جنتامایسین، کلیستین، نالیدیکسیک اسید، کلرامفنیکل، کانامایسین، ایمی‌پنم، تتراسایکلین، نیتروفورانتوئین، آمیکاسین و سفتازیدیم (شرکت مست) از قرار ٦ دیسک در هر پلیت انجام گردید.

تعیین MIC: روش مورد استفاده در این آزمایش (۱۷) روش تهیه‌ی رقت در لوله یا Macrodilution Broth Test و آنتی‌بیوتیک مورد بررسی، ایمی‌پنم بود.

تهیه‌ی محلول ذخیره (Stock): برای تهیه‌ی استوک، نیاز به پودر دارویی و حلال رقیق کننده آن می‌باشد. پودرهای آنتی‌بیوتیک مورد استفاده باید از لحاظ قدرت (Potency) دقیق بوده، تاریخ انقضای آن نرسیده باشد. نحوه ی عمل بدین صورت بود که ابتدا میزان پودر موردنظر را با یک ترازوی حساس و دقیق وزن، و سپس در یک میلی‌لیتر دی متیل سولفو اکساید (DMSO) حل گردید. دامنه‌ی دارویی برای ایمی‌پنم از غلظت اولین لوله از ۰/۲۵ تا آخرین لوله ۱٦ میکروگرم در میلی‌لیتر ادامه یافت.

تهیه‌ی اینوکولوم باکتریایی: جهت تهیه‌ی سوسپانسیون میکروبی با آنس نوک تیز مقدار باکتری از ٤-۵ کلنی مشابه برداشته و در یک لوله حاوی ۱۰ سی‌سی میلی‌لیتر مولر هینتون براث وارد گردید. سپس این سوسپانسیون را در گرمخانه در حرارت ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده تا کدورت ظاهر گردید و سپس با لوله ی استاندارد ۱ مک فارلند که به نسبت ۵۰۰/۱ رقیق شده بود، مقایسه گردید (۱۷).

روش انجام آزمایش: برای هر سوش مورد آزمایش یک‌سری ۸ تایی لوله همولیز استریل در جا لوله‌ای قرار داده و ۱ میلی‌لیتر از هریک از رقت‌های سریال تهیه شده از آنتی‌بیوتیک در آن‌ها ریخته شد. بدین‌ترتیب که به لوله‌ی شماره ۱ حداقل غلظت دارو و به لوله ی شماره ۷ حداکثر غلظت دارو را وارد کرده لوله ی شماره ۸ به‌عنوان شاهد مثبت استفاده شد که در آن آنتی‌بیوتیک ریخته نشد و فقط حاوی ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون میکروبی و ۱ میلی‌لیتر آبگوشت استریل بود. در این آزمایش لوله کنترل منفی نیز تهیه گردید. بدین‌ترتیب که از هر غلظت آنتی‌بیوتیک ۱ میلی‌لیتر در یک لوله آزمایش ریخته و به آن ۱ سی سی آبگوشت استریل افزوده گردید.

پس از اضافه کردن محلول‌های آنتی‌بیوتیک به لوله‌های هر سری، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون سوش مورد نظر که دارای

www.SID.ir

Archive of SID

کدورت معین است، به لوله‌های ۱ تا ۸ اضافه شد. به این‌ترتیب آنتی‌بیوتیک‌ها با هم حجم خود از اینوکولوم باکتریای رقیق شده و غلظت مورد نظر به‌دست آید. لازم به ذکر است که برای کنترل کیفی آزمایش، عینا این مراحل برای سوش استاندارد کلبسیلا (PTCC = ۱۲۹۰) تهیه شده از مرکز تحقیقات مقاومت‌های میکروبی انجام شد. پس از انجام مراحل فوق، درب لوله‌ها بسته و به‌مدت ۱۸ تا ۲٤ ساعت در حرارت ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، انکوبه شدند.

تعیین MBC: برای این کار، از لوله‌های شفاف MIC که در ظاهر کدورتی نداشتند، استفاده گردید. پس از تکان دادن آن‌ها، با لوپ استاندارد استریل ۰/۱ میلی‌لیتر از هریک بر روی پلیت مولر هینتون آگار فاقد آنتی‌بیوتیک کشت داده شد. سپس پلیت‌ها ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. روز بعد کمترین غلظت آنتی‌بیوتیک که در کشت مجدد از آن (بر روی محیط جامد مولر هینتون آگار) هیچ رشدی مشاهده نشود، به‌عنوان MBC آنتی‌بیوتیک برای سوش موردنظر، تعیین گردید. این غلظت از آنتی‌بیوتیک قادر به کشتن باکتری بوده و در کشت مجدد، در این غلظت (MBC)، رشدی دیده نشد (۱۷).

نتایج

از ٤۰۰ نمونه ادرار مبتلا به‌عفونت ادراری، پس از انجام تست‌های افتراقی، ۹٦ نفر (۲٤ درصد) به انواع کلبسیلا (*کلبسیلا، انتروباکتر، سراشیا*) آلوده بودند. بیشترین گونه جدا شده، *کلبسیلا پنومونیه* با۳۲ یا ۳۳/۳٤ درصد بود (جدول۱).

جدول ۱: توزیع فراوانی مطلق و نسبی ایزوله‌های با مقاومت چند گانه گونه‌های مختلف کلبسیلا

نام گونه	تعداد ایزوله	درصد	تعداد MDR	درصد
کلبسیلا پنومونیه	۳۲	۳۳/۳٤	۲۱	٦۵/٦۳
کلبسیلا اکسی توکا	۱۲	۱۲/۵۰	٦	۵۰
کلبسیلا ازونه	۳	۳/۱۳	۱	۳۳/۳٤
کلبسیلا رینوس کلروماتیس	۳	۳/۱۳	–	۰
انتروبانتر اگلومران	۱۸	۱۸/۷۵	۱۱	٦۱/۱۲
سراشیا مرسه سنس	۲۱	۲۱/۸۸	۱۸	۸۵/۷۲
هافنیا آلوه‌ای	۷	۷/۳۰	–	۰

همانطور که مشاهده می‌شود، بیشترین گونه جدا شده، کلبسیلا پنومونیه و پس از آن کلبسیلا اکسی توکا می‌باشد. همچنین مشاهده می‌شود که بیشترین مقاومت چندگانه به ترتیب ناشی از ایزوله‌ای سراشیا مرسه سنس و کلبسیلا پنومونیه بوده است. از نظر جنسیت، ٥٤ درصد بیماران را خانم‌ها و ٤٦ درصد را آقایان تشکیل می‌دادند. از نظر سنی، بیماران زیر ۱۰ سال ۲٦ مورد (۲۷/۰۹ درصد)، زیر ۵۰ سال ۳۳ مورد (٤۳/۳۸ درصد) و بالای ۵۰ سال ۳۷ مورد (۳۸/۵۵ درصد) را به‌خود اختصاص می‌دادند. بیشترین و کمترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها به‌ترتیب نسبت به آموکسی‌سیلین و آمیکاسین بود (جدول ۲).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲: تعداد و درصد مقاومت کل نمونه‌های جدا شده نسبت به آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در آنتی بیوگرام

آنتی بیوتیک	S	I	R	درصد مقاومت
ایمی پنم	۸۸	۰	۸	۸/۳٤
آموکسی سیلین	۳	٦	۸۷	۹۰/٦۳
سفالوتین	٦۳	۵	۲۸	۲۹/۱۷
جنتامایسین	٦٤	۲	۳۰	۳۱/۲۵
کلیستین	۵۰	۰	٤٦	٤۷/۹۲
نالیدیکسیک اسید	۸٤	٦	٦	٦/۲۵
کلرامفنیکل	٦۸	۳	۲۵	۲٦/۰۵
کاناماسین	۷٦	٦	۱٤	۱٤/۵۹
تتراسایکلین	٦٦	۰	۳۰	۳۱/۲۵
نیتروفورانتوئین	٤٦	۵	٤۵	٤٦/۸۸
آمیکاسین	۹۳	۳	۰	۰
سفتازیدیم	۹۰	٤	۲	۲/۰۹

S: حساس Sensitive *I: بینابینی Intermediate* *R: مقاوم Resistance*

جدول ۳: نتایج MIC و MBC گونه‌های کلبسیلا با مقاومت چند گانه نسبت به ایمی پنم

غلظت‌های مختلف آنتی بیوتیک ایمی پنم µg/ml	پنومونیه				اکسی توکا				اوزنه				رینواسکلروماتیس				جمع کل			
	MIC		MBC		MIC		MBC		MIC		MBC		MIC		MBC		MIC		MBC	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
/۲۵.	۲	۹/۵۳	–	–	۲	۳۳/۳۳	۱	۱٦/٦۷	۱	۱۰۰	–	–	–	–	–	–	۵	۱۷/۸۵	۱	۳/۵۸
/۵.	۳	۱٤/۲۸	۱	٤/۷٦	۲	۳۳/۳۳	۲	۳۳/۳۳	–	–	–	–	–	–	–	–	۵	۱۷/۸۵	۳	۱۰/۷۲
۱	۳	۱٤/۲۸	٤	۱۹/۰۵	۱	۱٦/٦۷	۱	۱٦/٦۷	–	–	۱	۱۰۰	–	–	–	–	٤	۱٤/۲۸	٦	۲۱/٤۲
۲	۵	۲۳/۸۱	٦	۲۸/۵۷	۱	۱٦/٦۷	۲	۳۳/۳۳	–	–	–	–	–	–	–	–	٦	۲۱/٤۲	۸	۲۸/۵۵
٤	۲	۹/۵۳	۳	۱٤/۲۸	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	۲	۷/۱۵	۳	۱۰/۷۲
۸	۳	۱٤/۲۸	٤	۱۹/۰۵	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	۳	۱۰/۷۲	٤	۱٤/۲۸
۱٦	۲	۹/۵۳	۲	۹/۵۳	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	۲	۷/۱۵	۲	۷/۱۵
۱٦>	۱	٤/۷٦	۱	٤/۷٦	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	۱	۳/۵۸	۱	۳/۵۸
جمع کل	۲۱	۱۰۰	۲۱	۱۰۰	٦	۱۰۰	٦	۱۰۰	۱	۱۰۰	۱	۱۰۰	۰	–	۰	–	۲۸	۱۰۰	۲۸	۱۰۰

۵۷ ایزوله باکتری‌های گروه کلبسیلا (۵۹/۳۸ درصد)، الگوی مقاومت چندگانه داشتند. بیش از ۸۵ درصد ایزوله‌های *سراشیا مرسه سنس* الگوی مقاومت چندگانه داشتند. پس از تعیین گونه باکتری، مقاومت دارویی

www.SID.ir

Archive of SID

آن‌ها به دو روش انتشار دیسک در آگار (متد کربی بائر) و تعیین حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) با متد Macrodilution-Broth در ایزوله‌های MDR با استفاده از پودر آنتی‌بیوتیک ایمی پنم مورد بررسی قرار گرفت (جداول ٤ و ٣).

جدول ٤: نتایج MIC و MBC گونه‌های دیگر KES با مقاومت چند گانه نسبت به ایمی پنم

غلظت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک ایمی پنم µg/ml	انتروبانتر اگلومران				سراشیا مرسه سنس				هافنیا آلوه ای				جمع کل			
	MIC		MBC		MIC		MBC		MIC		MBC		MIC		MBC	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
/٢٥	٢	١٨/١٨	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	٢	٦/٩٠	–	–
/٥	٢	١٨/١٨	٢	١٨/١٨	٢	١١/١٢	٢	١١/١٢	–	–	–	–	٤	١٣/٨٠	٤	١٣/٨٠
١	٣	٢٧/٢٨	٣	٢٧/٢٨	٦	٣٣/٣٤	٤	٢٢/٢١	–	–	–	–	٩	٣١/٠٣	٧	٢٤/١٣
٢	٤	٣٦/٣٦	٤	٣٦/٣٦	٧	٣٨/٨٨	٦	٣٣/٣٤	–	–	–	–	١١	٣٧/٩٣	١٠	٣٤/٤٨
٤	–	–	١	٩/٠٩	١	٥/٥٤	٤	٢٢/٢١	–	–	–	–	١	٣/٤٤	٥	١٧/٢٥
٨	–	–	١	٩/٠٩	٢	١١/١٢	٢	١١/١٢	–	–	–	–	٢	٦/٩٠	٣	١٠/٣٤
١٦	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
١٦>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
جمع کل	١١	١٠٠	١١	١٠٠	١٨	١٠٠	١٨	١٠٠	٠	–	٠	–	٢٩	١٠٠	٢٩	١٠٠

بحث

عفونت‌های ادراری یکی از بیماری‌های شایع است که از نظر فراوانی بعد از بیماری‌های تنفسی قرار دارد و یکی از عمده‌ترین عفونت‌های باکتریایی در کشورهای صنعتی محسوب می‌شود. به‌طوری‌که ٤٠ درصد بیماری‌های عفونی بیمارستانی را عفونت ادراری تشکیل می‌دهد. اطلاعات موجود نشان می‌دهد که عفونت‌های مجاری ادراری کسب شده از بیمارستان‌ها و عوارض خطرناک حاصله از آن رو به افزایش است (١٨). از نظر میکروب شناسی، عفونت دستگاه ادراری زمانی وجود دارد که باکتری‌های بیماری‌زا در ادرار پیشابراه، پروستات و یا کلیه دیده شود. تعداد زیادی از میکروارگانیسم‌ها می‌توانند عفونت دستگاه ادراری را به‌وجود آورند، ولی باسیل‌های گرم منفی از سایر عوامل شایع‌تر هستند. طبق مطالعات ماجامور در سال ٢٠١٤ در بنگلادش، از ٥٥١ بیمار مبتلا به عونت ادراری، ١٣١ مورد پاتوژن باکتریایی جدا گردید. اشریشیاکلی با ٩٨ مورد (٧٤/٨ درصد) بیشترین و کلبسیلا پنومونیه با ١٤ مورد (١٠/٧ درصد) و آنتروکوک با ٨ مورد (٦/١ درصد) در مراحل بعدی قرار داشتند (١٩). در بررسی که در سال ٢٠٠٦ توسط یوکسل در ترکیه انجام گرفت، از ١٣١ نفر بیمار مبتلا به UTI، اشریشیاکلی با ٨٧ درصد و کلبسیلا پنومونیه ١٠ درصد موارد عفونت ادراری را در بر می‌گرفتند (٢٠). طی یک بررسی در اسپانیا در سال ٢٠٠٥ توسط آندرو از ٢٧٢٤ بیمار مورد مطالعه به عفونت ادراری، ٧٣ درصد به اشریشیاکلی، ٧/٤ درصد به پروتئوس، ٦/٦ درصد کلبسیلا و ٤/٨ درصد به آنتروک آلوده بودند (٢١). در این بررسی، از ٩٦ ایزوله باکتری‌های گروه کلبسیلا مورد مطالعه قرارگرفت، که ٣٢ ایزوله کلبسیلا پنومونیه جدا گردید. جدا کردن ١٢ مورد اکسی توکا، ٣ مورد اوزنه و ٣ مورد رینواسکلروماتیس، نشان دهنده‌ی قدرت بیماریزایی سایر گونه‌های کلبسیلا می‌باشد. نتایج به‌دست آمده برای

www.SID.ir

Archive of SID

آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم، آمیکاسین، نالیدیکسیک اسید و ایمی‌پنم حساسیت بالایی نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها نشان دادند، به‌طوری که این حساسیت برای سفتازیدیم حدود ۹۷/۹ درصد و برای آمیکاسین، نالیدیکسیک اسید و ایمی‌پنم به‌ترتیب حدود ۹۶/۸، ۹۳/۷ و ۹۱/۷ درصد بوده است.

در مطالعه‌ی کیم و همکاران که در سال ۲۰۰۶ بر روی ۲۳۰ ایزوله‌ی کلینیکی کلبسیلا پنومونیه انجام گردید، مقدار MIC مربوط به ایمی‌پنم به‌دست آمده توسط روش دایلوشن آگار، بیشتر از ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که مشابه نتایج روش E-Test به‌دست آمده در این مطالعه بود، هر چند که از دو روش متفاوت در این دو مطالعه استفاده شده بود (۲۲). در مطالعه‌ی صورت گرفته توسط شیناکو و همکاران طی سال‌های ۲۰۰۴-۲۰۰۳ که بر روی ٦ نمونه از سویه‌های کلبیسلا پنومونیه انجام شد، پس از تعیین MIC سویه‌های مذکور برای ایمی‌پنم، تشخیص آنزیم متالوبتا لاکتاماز توسط روش DDST با چلاتور دی پیکولینیک اسید انجام گرفت. با این حال در مطالعه‌ی حاضر از چلاتور EDTA استفاده گردید که نتایج مشابهی با روش فوق داشت (۲۳).

MIC ایمی‌پنم برای ایزوله‌های با مقاومت چند گانه (MDR) کلبسیلا پنومونیه، ۰/۲۵ تا ١٦ < میکروگرم در میلی‌لیتر بود. در حالی‌که این MIC برای گونه‌های دیگر کلبسیلا و حتی سایر جنس‌های این گروه حداکثر تا ۸ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. همین وضعیت برای MBC ایمی‌پنم کلبسیلا پنومونیه تا ١٦ < میکروگرم در میلی‌لیتر مشاهده شده است، اگرچه بعضی از گونه‌ها مانند کلبسیلا رینوس کلروماتیس و هافنیا الوئه‌ای اصولا فاقد ایزوله‌هایی با مقاومت چند گانه بودند و از حساسیت نسبی بیشتری در مقایسه با سایر گونه‌های این گروه برخوردار بودند. نتایج ما مشابه با نتایج برد فورد در امریکا می‌باشد و نشان می‌دهد ایمی‌پنم داروی مناسب جهت درمان ایزوله‌های باکتری‌های گروه کلبسیلا می‌باشد (۲٤). در بررسی نتایج حاصل از این پژوهش و مقایسه با سایر گزارشات، اختلافاتی در بعضی موارد نیز به چشم می‌خورد که می‌توان علت آن را امکان خطا در حین انجام آزمایش دانست. زیرا در تاثیر صحیح آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی باکتری و تعیین فرم‌های حساس و مقاوم باکتری‌ها به‌صورت in vitro نکاتی مانند عمق و ترکیبات محیط کشت نقش عمده‌ای داشته و قادرند آمار مقاومت را دستخوش تغییرات کاذب نمایند. به‌عنوان مثال نازک بودن محیط کشت، حساسیت آنتی‌بیوتیک را به‌طور کاذب افزایش می‌دهد و اصولا عمق ٤ میلی‌متری برای این منظور توصیه شده است (۱۷ و ١٦).

نتیجه گیری

نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که ایمی‌پنم داروی مناسبی برای ایزوله‌های گروه کلبسیلا بوده، کلبسیلا پنومونیه و سراشیا مرسه سنس مقاوم‌ترین گونه‌ها در میان سایر گونه‌های گروه کلبسیلا با MIC به ترتیب ١٦< میکروگرم و ۸ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله نتیجه‌ی طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد ۱۷۲۱۱مورخ ۹۱/۳/۲۰ می‌باشد. نویسندگان مقاله بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه جهت تقبل هزینه‌های طرح، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

1- Banson RR. Urosepsis: *Urologic Clinics of North American*. 1986; 13: 627-35.

2- Cartelle M, Tomas MD, Pertega S, et al. Risk

www.SID.ir

Archive of SID

factors for colonization and infection in a hospital outbreak caused by a strain of *Klebsiella pneumoniae* with reduced susceptibility to expanded- spectrum cephalosporins. *J Clin Microbiol.* 2004; 42: 4242-49.

3- Westwood ME[1], Whiting PF, Cooper J, Watt IS, Kleijnen J. Further investigation of confirmed urinary tract infection (UTI) in children under five years: a systematic review. *BMC Pediatr*. 2005; 15; 5: 2.

4- Alós JI. Epidemiology and etiology of urinary tract infections in the community. Antimicrobial susceptibility of the main pathogens and clinical significance of resistance. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005; 23 Suppl 4: 3-8.

5- Ronald A. The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. *Dis Mon*. 2003; 49: 71-82.

6- Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new betalactamases. *N Engl J Med*. 2005; 352: 380-91.

7- Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo lactamases:the quiet before the storm? *ClinMicrobiol Rev*. 2005; 18: 306-25.

8- Nordmann P, Poirel L. Emerging carbapenemases in gram-negative aerobes. *Clin Microbiol Infect*. 2002; 8: 321-31.

9- Rebuck JA, Olsen KM, Fey PD, Langnas AN, Rupp ME. Characterization of an outbreak due to extended-spectum beta-lactamase-producing *klebsiella pneumoniae* in a pediatric intensive care unite transplant population. *Clin Infect Dis*. 2000; 31: 1368-72.

10- Soltan Dallal MM, Sharifi Yazdi MK, Rajabi Z. Antimicrobial resistance patterns among *Klebsiella* spp. isolated from nosocomial infection. *Payavarde Salamat*. 2012; 6: 275-28.

11- Jeong SH, Bae I, Lee JH, et al. Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamases produced by clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* from a Korean nationwide survey. *J Clin Microbiol.* 2004; 42: 2902-06.

12- Wang ll, Chen M. Surveillance for antimicrobial resistance among clinical isolates of gram-negative bacteria from intensive care unit patients in China 1996-2002. *Diagnostic Microbiol Infect Disease.* 2005; 51: 201-08.

13- Amin A, Ghumro PB, Hussain S, Hameed A. Prevalence of antibiotic resistance among clinical isolates of *Klebsiella pneumonia* isolated from a tertiary care hospital in pakistan. *Malaysian J Microbiol*. 2009, 5: 81-86.

14- Martínez-Martínez L. Extended-spectrum beta-lactamases and the permeability barrier. *Clin Microbiol Infect*. 2008; 14 Suppl 1: 82-9.

15- Jeong SH, Bae I, Lee JH, et al. Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamases produced by clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* from a Korean nationwide survey. *J Clin Microbiol.* 2004; 42: 2902-06.

16- Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility testing for bacteria that grew aerobically. Approved Standard M7-A10. Wayne,

www.SID.ir

Archive of SID

PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.

17- Parker MT. Hospital acquired infections: guidelines to laboratory methods, WHO Regional publication European series No. 4 P.35, 1978, WHO, Copenhagen

18- Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev*. 1998; 11: 589-03.

19- Majumder MI, Ahmed T, Hossain D, Begum SA. Bacteriology and antibiotic sensitivity patterns of urinary tract infections in a tertiary hospital in bangladesh. *Mymensingh Med J*. 2014; 23: 99-104.

20- Yüksel S, Oztürk B, Kavaz A, et al. Antibiotic resistance of urinary tract pathogens and evaluation of empirical treatment in Turkish children with urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2006; 28: 413-6.

21- Andreu A, Alós JI, Gobernado M, et al. Etiology and antimicrobial susceptibility among uropathogens causing community-acquired lower urinary tract infections: a nationwide surveillance study. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2005; 23: 4-9.

22- Soo-Young Kim, Yeon-Joon Park, Jin-Kyung Yu, et al. Prevalence and mechanisms of decreased susceptibility to carbapenems in *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2007; 57: 85-91.

23- Fukigai S, Alba J, Kimura S,et al. Nosocomial outbreak of genetically related IMP-1Beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a general hospital in Japan. *Int J Antimicrob Agents*. 2007; 29: 306-10.

24- Bradford PA, Urban C, Mariano N, Projan SJ, Rahal JJ, Bushi K. Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC b-lactamase, and the loss of an outer membrane protein. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997; 41: 563-69.

www.SID.ir

Archive of SID

Comparison of Multiple Antibiotic Resistance Patterns of Klebsiella Bacteria Groups Causing Urinary Infections and Determination of Imipenem MIC in MDR Strains

Soltan Dallal MM[1], Sharifi Yazdi MK[2]

[1]Food Microbiology Research Center and Dept. of pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[2]Zoonosis Research Centre and Dept. of Medical Laboratory Sciences, School of Para Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Corresponding Author: Soltan Dallal MM, Food Microbiology Research Center and Dept. of pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

E-mail: Soltanirad34@yahoo.com

Received: 20 Jan 2014 **Accepted:** 16 Mar 2014

Background and Objective: Occurance of severe diseases by bacteria that are considered as normal flora poses a threat to human life. Bacteria such as *Klebsiella*, *Enterobacter*, and *Serratia*, which are all VP +, cause the urinary tract infection. The antibiotic-resistant strains of these bacteria create problems in the process of treatment. The aim of this research was to compare the multiple antibiotic resistance patterns of *Klebsiella, Enterobacter*, and *Serratia* causing urinary infections and determine the imipenem MIC in MDR strains.

Materials and Methods: In this experimental study 400 urinary specimens from UTI patients who had referred to Imam Khomeini Hospital (Tehran) were collected using the midstream clean catch method. The klebsiella groups were identified by conventional methods. The antibiotic sensivity test was carried out by disk diffusion and macrodilution broth test methods.

Results: Of 400 patients with urinary tract infections, 96 (24%) were caused by Klebsiella groups (KES. Maximum and minimum resistances were to amoxicillin and amikacin, respectivey. MIC and MBC determined using serial dilution method and showed that the concentration range of imipenem that stopped growth of *Klebsiella pneumoniae* and Serratia marcescens were in the range of 0. 25- 16 and 8-0.25 µg / ml, respectively.

Conclusion: The results of this study suggest that imipenem is an appropriate medication for the treatment of Klebsiella group infections.

Keywords: Klebsiella, Antibiotic resistance, Minimum inhibitory concentration, Urinary tract infections, Imipenem

www.SID.ir