

بررسی فراوانی اشرشیا کلی یوروپاتوژن مقاوم به درمان در بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری در بیمارستان‌های شهر قم

زینب عدنان*

دانشجوی کارشناسی ارشد، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۶/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۰۵)

چکیده

عفونت مجاری ادراری یکی از شایعترین عفونتهای بیمارستانی است که توسط باکتری اشرشیا کلی ایجاد می‌شود. این باکتری در اپیتلیوم بافت مجاری ادراری مستقر شده و می‌تواند ایجاد التهاب مجاری ادراری و التهاب حالب و مثانه و کلیه نماید. این باکتری توانایی تشکیل بیوفیلم را دارد. به نسل سوم آنتی بیوتیکها مقاوم است و این امر باعث شده تا این بیماری به یک مشکل پیچیده در جامعه پزشکی تبدیل گردد. 100 نمونه ادراری از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری در سطح بیمارستانهای قم در طی ۳ ماه بهمن ۱۳۹۵ الی فروردین ۱۳۹۶ جمع آوری گردید و مقاومت آنتی بیوتیکی آنها توسط روش Kirby - Bauer مورد بررسی قرار گرفت. از روش دیسک ترکیبی برای تعیین جدایه‌های دارای بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) استفاده گردید. از مجموع ۱۰۰ نمونه مورد بررسی با تستهای معمول بیوشیمیایی، ۷۵ نمونه به عنوان اشرشیا کلی یوروپاتوژن شناسایی شد. نتایج نشان داد که اشرشیا کلی یوروپاتوژن دارای بیشترین مقاومت آنتی بیوتیک به جنتامایسین بود ۹۳٪ و حدود ۶۰٪ نمونه‌ها ESBL بودند. با توجه به میزان مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری‌های جدا شده از دستگاه ادراری و همچنین وجود سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌های دراری بتالاکتامازهای وسیع الطیف، لازم است تا همزمان با افزایش سطح اطلاعات افراد جامعه، نسبت به جلوگیری از انتشار این قبیل باکتریها اقداماتی انجام داد.

کلیدواژگان

اشرشیا کلی یوروپاتوژن، ESBL، عفونت مجاری ادراری.

* رایانامه نویسنده: zeynab_adnan@yahoo.com



مقدمه

اشرشیا کلی^۱ بیشترین گونه باسیل گرم منفی شایع در فلور مدفوعی است. این باکتری یک گونه فوق العاده متنوع است که توانایی کلونیزه شدن و پایداری در محیط‌های میکروسکوپی‌های بیشماری در میزبان‌های حیوانی، انسانی و محیط را دارد. بعضی از سویه‌های اشرشیا کلی می‌توانند از سویه‌های کامنسال خودشان متمایز شوند، بیماری‌زایی طبیعی بیشتر و توانایی ایجاد بیماری‌های جدی تر در دستگاه گوارش، بافت‌ها و اندام‌های دیگر میزبان ایجاد کنند (۱). زنده ماندن و تکثیر باکتری‌ها پس از قرار گرفتن در معرض آنتی بیوتیک‌ها به عنوان مقاومت دارویی^۲ شناخته شد است. این مقاومت در برخی مواقع به چندین دارو بروز می‌کند که مقاومت چند دارویی^۳ نامیده می‌شود (۲). مقاومت باکتری‌ها به آنتی بیوتیک‌ها جزء مهمترین خطرات تهدید کننده بهداشت جهانی توسط سازمان بهداشت جهانی^۴ معرفی شده است که در صد فراوانی از مرگ و میرهای سالانه بیمارستانی را به خود اختصاص می‌دهد (۳). امروزه با استفاده بی‌رویه آنتی‌بیوتیک در کشور ما باکتری‌ها مکانیسم‌های مقاومت را دریافت کرده‌اند و نسبت به داروها مقاومت نشان می‌دهند. این مکانیسم می‌تواند به صورت دریافت ژن‌های مقاومت از طریق پلاسمید، ترانسپوزون و یا موتاسیون باشد (۴). اشرشیا کلی شایعترین عامل عفونتهای ادراری است (۵). به طور معمول سویه‌های اشرشیا کلی در چهار گروه فیلوژنتیکی A, B1, B2, D تقسیم بندی می‌شوند. اشرشیا کلی یوروپاتوژن بیشتر در گروه B2 تقسیم بندی شده و با جنسیت ارتباط دارند (۶). اکثر عفونتهای کسب شده از جامعه در افراد

مونث کمتر از ۱۰ سال یا در زنان بین سنین ۲۰ تا ۴۰ سال رخ می‌دهد (۷ و ۸). اشرشیا کلی در مجاری ادراری می‌تواند در مثانه کلونیزه شود و ایجاد التهاب مثانه^۵ کند و همچنین می‌تواند از طریق حالب به کلیه‌ها صعود کرده و باعث ایجاد پیلونفریت^۶ شود. مولکول و ساختارهای مختلف سطح سلولی در تشکیل بیوفیلم در یوروپاتوژن دخیل هستند (۹). ۸۰٪ همه عفونتهای دستگاه ادراری علامت دار و باکتریوری^۷ بدون علامت است تقریباً بیشتر از ۹۰ درصد افراد جامعه به آن مبتلا می‌شوند (۱۰). تحقیقات انجام شده در سال‌های اخیر چگونگی مقاومت آنتی بیوتیکی در افراد و بروز مشکلات در سطح اجتماع را نشان می‌دهد. تجویز آنتی بیوتیک‌ها جهت جلوگیری از عفونت باکتریایی ضروری است ولی مصرف بیش از اندازه آن موجب مقاومت این میکروب‌ها به داروها شده که درمان صورت نمی‌پذیرد. این مسئله می‌تواند موجب ظهور عفونتهایی با ابر میکروب‌ها از جمله استافیلوک طلایی مقاوم به متیسیلین^۸ شود و مشکلات گسترده ای را به همراه داشته باشد. به گفته پژوهشگران مصرف خودسرانه آنتی بیوتیک حتی به میزان کم هم می‌تواند باعث مقاومت دارویی شود که در صورت ابتلای مجدد، آنتی بیوتیک تجویز شده برای بیمار کارایی نداشته باشد (۱۱). آنتی بیوتیک‌ها موادی هستند که توسط میکروارگانیسم‌های تولید شده و موجب مرگ و یا توقف رشد میکرو ارگانیسم‌های اثرگذاری دیگر می‌شوند (۱۲).

توانایی UPEC برای متصل شدن به بافتهای میزبان، یکی از فاکتورهای برتری است که کلونیزاسیون UPEC را در دستگاه ادراری تسهیل می‌کند. چندین فاکتور سطحی مانند تاژک، پیلی یا

5 Cystitis

6 Pyelonephritis

7 Asymptomatic Bacteriuria; ABU

8 MRSA

1 E.coli

2 Drug resistance

3 Multiple Drug Resistance(MDR)

4 World Health Organization



سفیبینم، جنتامایسین، نالیدیکسیک اسید، کلرامفنیکل، امیکاسین، سیفتریاکسون، سولباکتام، افلاکساسین، سولفامتوکسازول، سیپروفلاکساسین و سفتازیدیم بود که همگی از شرکت MAST انگلستان تهیه گردید.

تعداد ۱۰۰ نمونه ادراری از افراد مبتلا به عفونت مجاری ادراری از بیماران بیمارستان‌های گلپایگانی، حضرت معصومه، نکویی جدا گردید. سپس به منظور جداسازی اشرشیاکلی و اطمینان از خالص بودن نمونه‌ها، هر کدام از نمونه‌ها به طور مجزا ابتدا بر روی محیط کشت EMB و مکانکی و بلاد اگر کشت داده شد و جهت انجام تستهای بیوشیمیایی بر روی محیط BHI اگر کشت داده شدند و با آزمایشهای روتین بیوشیمیایی نظیر سیمون سترات و تست حرکت و اندول و IMVIC و TSI کاتالاز و اکسیداز و اوره از، اشرشیا کلی تایید شد. سویه‌های تایید شده با روش گلیسرول ۲۰٪ به صورت استوک در -۲۰ درجه ذخیره گردید تا در آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار بگیرند.

جهت تعیین مقاومت انتی بیوتیکی از روش دیسک پلیت Bauer-Kirby استفاده شد ابتدا یک کشت ۲۴ ساعته از استوک بر روی محیط نوترین اگر تهیه گردید سپس از کلنی‌های ایجاد شده در محیط نوترین اگر سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند با سرم فیزیولوژی تهیه گردید و سپس به کمک سوپ استریل از هر سوسپانسیون بر روی محیط کشت مولر هینتون اگر به صورت متراکم کشت داده شد و پس از ۵ دقیقه که رطوبت سوسپانسیون جذب گردید دیسکهای انتی بیوتیک مورد نظر با پنس استریل و با رعایت فاصله مناسب از هم در محیط قرارداده شدند. پلیت حاوی دیسکها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه قرارداده شد و پس از این مدت قطر حاله‌ها طبق جدول CLSI مورد بررسی قرار گرفت (۱۷).

فیمبریه، پروتیین‌های اتوترانسپورتر، کورلی، تولید اگزوپلی ساکارید و پیلی F جنسی، در تشکیل بیوفیلیم دخیل هستند (۱۳).

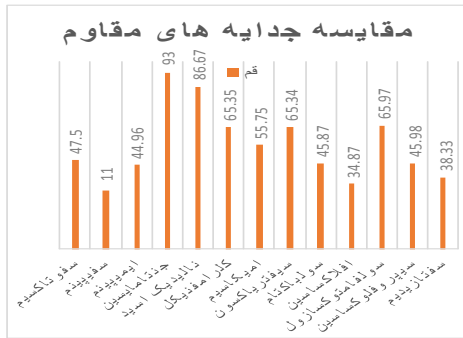
بتالاکتامازها گروه وسیعی از آنزیم‌ها هستند که حلقه بتالاکتام را در تعدادی از انتی بیوتیک‌ها می‌شکنند (۱۴). بتالاکتامازها از خانواده آنزیمهای هیدرولیتیک می‌باشند که با هیدرولیز انتی بیوتیک‌های بتالاکتامی باعث تبدیل آنها به مشتقاتی می‌شوند که فعالیت ضد باکتریایی دارند (۱۵). آنزیم‌های ESBL^۱ آنزیم‌هایی وابسته به پلاسمید هستند که میتوانند از یک ارگانیزم به دیگری منتقل گردند. اکثریت این پلاسمیدها حاوی DNA میباشند که حاوی مقاومت به انتی بیوتیک‌های بتالاکتام و غیر بتالاکتام می‌باشد. انتی بیوتیک‌هایی که در گروه مورد مقاومت قرار دارند شامل آمینوگلیکوزیدها، فلوروکینولون‌ها، تتراسایکین، کلرامفنیکل و تری متوپریم سولفامتوکسازول می‌باشد (۱۶).

هدف از این مطالعه بررسی مقاومت انتی بیوتیکی و ESBL بودن در بین جدایه‌های بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری در شهر قم می‌باشد.

مواد و روش‌ها

باکتری استفاده شده در این بررسی از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری در سطح استان قم از بیمارستانهای گلپایگانی و نکویی و خرمی در بازه زمانی سه ماهه از بهمن ۱۳۹۵ تا فروردین ۱۳۹۶ جمع اوری گردید. محیط‌های کشت استفاده شده شامل ائوزین متیلن بلو و مکانکی آگار و بلاد آگار و BHI آگار و محیط‌های تست IMVIC و TSI آگار و اوره از و کاتالاز و اکسیداز و مولر هینتون بود که همگی محصول شرکت مرک المان بودند. دیسکهای انتی بیوتیک استفاده شده شامل سفوتاکسیم، امپینیم،





شکل ۲- نمودار مقایسه مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه ها

بحث

در مطالعه حاضر که بر روی نمونه های شهر قم انجام گرفت. بیشترین مقاومت مربوط به جنتامایسین با ۹۳٪ و بیشترین حساسیت مربوط به وافلاکسازین با ۳۴/۸۷٪ بود و ۴۷٪ ایزوله ها ESBL بودند. این بررسی نشان داد که در حال حاضر ارتباط معنا داری بین مقاومت دارویی و ESBL وجود دارد و عوامل دیگری نیز در مقاومت به درمان در باکتری نقش دارد.

در مطالعه /مینی و همکاران (۱۳۹۲) بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی را نسبت به آمپی سیلین، کوتریموکسازول و سیپروفلوکسازین گزارش دادند. ۷۲٪ از ایزوله ها مقاوم به آمپی سیلین، ۴۲٪ از ایزوله ها مقاوم به کوتریموکسازول و ۲۲٪ از آنها مقاوم به سیپروفلوکسازین بود (۱۷).

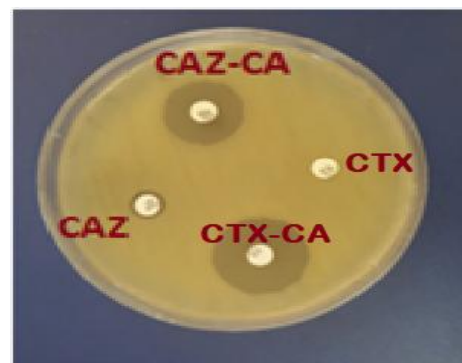
خیرآبادی و همکارانش در سال ۲۰۱۱، حساسیت /اشرشیا کلی های جدا شده از نمونه های ادراری را نسبت به آمیکاسین (۹۸٪) گزارش کردند (۱۸).

همچنین، در تحقیقی میلانی و همکاران که در تبریز طی سال های ۱۹۹۸ - ۲۰۰۵ بر روی حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری های جدا شده از افراد مبتلا به UTI انجام دادند (۹۵/۳٪) از ایزوله ها بیشترین مقاومت را نسبت به آمپی سیلین و کمترین مقاومت را به آمیکاسین (۶/۶٪) و سیپروفلوکسازین (۱۰/۲٪) نشان دادند (۱۹).

جهت بررسی ESBL بودن از دیسکهای ترکیبی سفتازیدیم به همراه کلاوولانیک اسید و سفوتاکسیم به همراه کلاوولانیک اسید استفاده شد که برای این کار ابتدا از کلنی های تازه یک سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند با سرم فیزیولوژی تهیه گردید و سپس با سوپ استریل بر روی محیط کشت مولر هینتون کشت داده شد و دیسکهای ترکیبی با فاصله بر روی محیط قرار داده شد و در ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد سپس قطر هاله ها مقایسه شد افزایش بیش از ۵ میلی متر دیسک ترکیبی نسبت به دیسک اصلی به عنوان ESBL در نظر گرفته شد.

یافته ها

پس از تستهای انجام شده بر روی ۱۰۰ نمونه ادراری جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری ۷۵ نمونه دارای اشرشیا کلی بودند. در بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی که به روش Bauer-Kirby انجام شد بیشترین مقاومت به جنتامایسین با ۹۳٪ و کمترین مقاومت به سفیپنیم با ۱۱٪ بود (شکل ۲) و از نظر ESBL بودن ۴۷٪ ایزوله ها، ESBL بودند (شکل ۱).



شکل ۱- افزایش ۵ میلی متری برای دیسک ترکیبی نسبت به دیسک اصلی) سفتازیدیم = CAZ، سفتازیدیم کلاوولانیک اسید CAZ-CA، سفوتاکسیم CTX، سفوتاکسیم کلاوولانیک اسید CTX-CA)



ژنتیکی و بررسی ارتباط بین مقاومت دارویی و بیوفیلم پرداخته شود و جهت پیشگیری از مقاومت آنتی‌بیوتیکی بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی بین آزمایشات قراردادده شود تا از مصرف بی‌جهت آنتی‌بیوتیک جلوگیری شود.

در مطالعه‌ای شمس و همکاران (۱۳۹۵) در شهر قم بر روی نمونه‌های ارسالی به بیمارستان علی بن ابی طالب انجام گرفت. ۱۶۰ ایزوله /شرشیا کلی جدا گردید ۱۹٪ از ایزوله‌ها مقاوم به سفوتاکسیم بودند. برای دستیابی به نتایج بهتر پیشنهاد می‌شود بررسی ژنهای مقاومت دارویی و امکان وجود جهش



منابع و مأخذ

1. Johnson DE, Lockett CV, Russell RG, Hebel JR, Island MD, Stapleton A, et al. Comparison of *Escherichia coli* strain recovered from human cystitis and pyelonephritis infections in transurethral challenged mice. *Infect Immun* 1998;66:3059-65.
2. Panama - Marina - Antibiotic resistance of bacteria-New Millennium Challenge. 2012.ncbi.nlm.nih.gov/books.
3. Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L, The Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of multidrug-resistant organisms in healthcare settings. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention; 2006.
4. Philippon A, Arlet G, Lagrange PH (1994) Origin and import of plasmid-mediated extended-spectrum B-lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, V(13):S17-29.
5. Toval F, Schiller R, Meisen I, Putze J, Kouzel IU, Zhang W, et al. Characterization of urinary tract infection-associated Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 2014;82(11):4631-42. 2.
6. Arbeloa A, Oates CV, Marches O, Hartland EL, Frankel G. Enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* type III secretion effector EspV induces radical morphological changes in eukaryotic cells. *Infect Immun*. 2011;79(3):1067-76.
7. Baraniak A, Fiett J, Sulikowska A, Hryniewicz W, Gniadkowski M. Countrywide spread of CTX-M-3 extended-spectrum beta-lactamase-producing microorganisms of the family Enterobacteriaceae in Poland. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(1):151-9.
8. Marrs CF. *Escherichia coli* mediated urinary tract infections: are there distinct uropathogenic *E. coli* (UPEC) pathotypes? *FEMS Microbiol Lett* 2005;252:183-90.
9. Ronald, A. (2002) The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens.
10. Høiby, N., T. Bjarnsholt, M. Givskov, S. Molin and O. Ciofu (2010). "Antibiotic resistance of bacterial biofilms." *International journal of antimicrobial agents*, 35(4): 322-332.
11. ZIHA-ZARIFI, Isabelle, Et Al. «In Vivo Emergence Of multidrug-Resistant Mutants Of *Pseudomonas aeruginosa* Overexpressing The Active Efflux System MexA MexBoprM.» *Antimicrobial Agents And Chemotherapy* 291-287:1999(43.2.)
12. Soto SM, Smithson A, Martinez JA, Horcajada JP, Mensa J, Vila J. Biofilm formation in uropathogenic *Escherichia coli* strains: relationship with urovirulence factors and antimicrobial resistance. *J Urol* 2007;177:365-8
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 15th (M100-s15). National Committee for Clinical Informational Supplement Laboratory Standards Wayne. 2005.
14. Peymani A- Yeylagh Beigi M- Mohammadi Ghanbarlou M- Najafipour R- Samimi R. Multidrug resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter cloacae* isolated from intensive care units of Qazvin and Tehran hospitals. *J Clin Res*. 2014; 3(1): 16-24. [In Persian]
15. Stepanovic S, Vukovic D, Dakic I, Savic B, Svabić-Vlahovic M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J Microbiol Meth* 2000;40:175-9.
16. Lagace P. R. S. - Nichol W. K. A. - Nicolle L. E- DeCorby M. - McCracken M. - Mulvey M. R. - Zhanel G. G Treatment of lower urinary tract infection caused by multidrug-resistant extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* with amoxicillin/clavulanate: case report and characterization of the isolate *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2006 doi:10.1093/jac/dkl102;1252
17. Amini-Zahra-1392- Study on the relationship between biofilm formation of uropathogen *E. coli* and *pap* and *sfa* genes encoding P and S filaments. *Damghan Islamic Azad University*. 3 & 41-52-34. [In Persian]

