

## مقایسه حساسیت آنتی بیوتیکی سویه های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه جدا شده از عفونتهای ادراری نسبت به پنج آنتی بیوتیک با روش های میکرودايلوشن و انتشار روی دیسک

فاطمه یکتا دوست<sup>۱</sup>، علی کاظمی<sup>۲\*</sup>، روزبه یلفانی<sup>۲</sup>

### چکیده

**زمینه و هدف:** میکروارگانيسم های مختلفی می توانند سبب عفونت ادراری شوند، اما خانواده باکتری های آنتروباکتریاسه نظیر اشریشیاکلی و کلبسیلا، بیشترین عامل مسبب عفونت ادراری باکتریایی می باشند. لذا، در این مطالعه به بررسی میزان مقاومت دارویی سویه های کلبسیلا پنومونیه و اشریشیاکلی نسبت به پنج آنتی بیوتیک رایج، پرداخته شد. **روش بررسی:** این مطالعه آزمایشگاهی روی ۱۰۰ سویه (۵۰ سویه کلبسیلا، ۵۰ سویه *E. coli*) جدا شده از بیماران سرپایی دارای عفونت ادراری (۸۱ زن، ۱۹ مرد) با میانگین سنی  $18/15 \pm 43/3$  که تست های تفریقی بیوشیمیایی و رنگ آمیزی گرم جهت شناسایی دقیق سویه ها انجام شد. تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی، از دو روش انتشار روی دیسک (کربی بائر) و میکرودايلوشن برات مطابق با دستور العمل CLSI M7 انجام شد. نتایج بدست آمده با نرم افزار SPSS 23 نسخه ۱۷ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقادیر  $P < 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

**یافته ها:** از ۵۰ نمونه *E. coli*، ۴۵ نمونه نسبت به ایمی پنم، ۳۸ نمونه نسبت به سفتریاکسون و سیپروفلوکساسین، 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 هر دو روش با هم انطباق داشت.

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

**واژه های کلیدی:** عفونت ادراری، اشریشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه، روش میکرودايلوشن برات، 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.

\* نویسنده مسؤل:

علی کاظمی؛ گروه پرستاری، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

تلفن: ۰۰۹۸۹۱۲۷۱۶۰۰۵۲

Email: alikazemi611@gmail.com

## مقدمه

صورت وجود)، عوامل خطر برای ایجاد مقاومت، با انتخاب آنتی بیوتیک مناسب انجام می شود. داروهای شایع مورد استفاده در درمان سیستمیت شامل نیتروفورانثوئین، کوتریموکسازول و یا فوسفومایسین است اما در درمان عفونت‌های سیستم ادراری فوقانی داروهای سیپروفلوکساسین، سفادروکسیل، سفتریاکسون و کوآموکسی کلاو استفاده می گردند که در صورت بروز مقاومت، پرخطر بودن بیماری و یا استفاده اخیر داروی مربوطه توسط بیمار از داروهای دیگری نظیر ایمی پنم استفاده می گردد.

میزان مقاومت باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه به خصوص /شریشیاکلی 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 بیوتیک‌های خاصی از همان بدو ورود به بدن از قیل مقاومت نشان می دهد (۶). اما مقاومت اکتسابی ثانویه با توجه به استفاده بی‌رویه و نامنظم از داروهای ضد باکتریایی می‌تواند بروز نماید. در مطالعه عباس زاده و همکاران با عنوان الگوی حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از نمونه های بالینی در تهران در سال ۹۰ عنوان کرد بیشترین میزان مقاومت دارویی نسبت به سیپروفلوکساسین، سفتریاکسون و جنتاماسین 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، در این مطالعه مقایسه حساسیت دارویی سویه های /شریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه جدا شده از عفونت‌های ادراری نسبت به داروهای سفتریاکسون، ایمی پنم،

مقاومت آنتی‌بیوتیکی یک مشکل اساسی در روند درمان و کنترل عفونت‌ها محسوب می‌شود. عفونت‌های ادراری از شایع‌ترین عفونت‌های بیمارستانی و دومین عفونت شایع در انسان می باشد. حدوداً ۸۰ تا ۹۰ درصد عفونت‌های مجاری ادراری غیر بیمارستانی به وسیله /شریشیاکلی 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 ۶-۱۷ درصد از عفونت‌های مجاری ادراری بیمارستانی نقش دارد. در نمونه گیری های معمول، عفونت دستگاه ادراری با رشد باکتری های پاتوژن بیش از  $10^5$  کلونی در هر میلی لیتر ادرار با تست نواری مثبت یا آزمایش ادرار تشخیص داده می‌شود (۳). عفونت‌های ادراری در دو دسته عفونت‌های فوقانی و تحتانی دسته‌بندی که هر کدام به دو دسته complicated و non-complicated تقسیم می‌شوند. علائم بالینی در عفونت‌های ادراری تحتانی، معمولاً 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 بیماری‌هایی که به دلیل اسکروز 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 عفونت‌های ادراری قرار دارند. دیگر عوامل مستعدکننده عفونت‌های ادراری شامل بارداری، دیابت شیرین و استفاده از سوندهای ادراری می باشد. درمان عفونت نیز با توجه به ویژگی های خاص بیمارمانند شدت علائم، داشتن آلرژی، نتایج آزمون‌های میکروبی (در

ادرار، به پلیت های حاوی محیط های مک کانکی آگار و بلادآگار جهت رشد باکتریها منتقل و در انکوباتور  $37^{\circ}\text{C}$  در شرایط هوایی، بمدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت قرارگرفتند. از محیط های کشت دارای کلونی های مخلوط، کلنی های خالص حاصل وبا رنگ آمیزی گرم و تست های بیوشیمیایی نوع باکتری جدا شده تعیین گردید.

#### جداسازی بر اساس خصوصیات بیوشیمیایی

با تست های بیوشیمیایی، کلنی های جدا شده ارزیابی و با استفاده از تست های بیوشیمیایی (TSI, MR-VP, SIM, سیمون سیترات) سویه های /شریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه بهترشناسایی و جداسازی شدند.

#### تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) با استفاده

##### از روش میکرودايلوشن

پس از خالص سازی نمونه ها، آزمایش MIC در پلیت های ۹۶ خانه ای مطابق با دستور العمل CLSI M7 به روش میکرودايلوشن انجام گرفت. برای این منظور ۱۰ رقت متوالی از هر دارو در یک 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  $1 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$  شد.

##### تست حساسیت آنتی بیوتیکی به روش

##### میکرودايلوشن

۱۰۰ میکرولیتر 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

سپروفلوکساسین، کوتریموکسازول، کواموکسی کلاو با دو روش میکرودايلوشن 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*)، جدا شده از بیماران 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 میان ۹۰ 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 جدا شده بود به طوریکه حداقل سن بیمار ۲، حداکثر سن ۷۵ سال و میانگین سنی بیماران  $18/15 \pm 43/3$  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 ۱۰ تا ۲۰ میلی لیتر از بخش میانی ادرار بیمارانی که توسط پزشک متخصص، مشکوک به داشتن عفونت ادراری تشخیص داده شدند، در ظروف پلاستیکی استریل جمع آوری 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، نیتريت، خون و پروتئین در ادرار بود. کشت ادرار نیزانجام گرفت. ابتدا یک لوپ کامل (۰/۰۰۱ میلی لیتر) از هر نمونه

استاندارد CLSI، در دو گروه حساس و مقاوم قرار گرفتند. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و ( $P < 0/05$ ) معنادار در نظر گرفته شد.

### یافته ها

از لحاظ توزیع سنی نمونه های جدا شده در خانمها نتایج بدین قرار بود که در مورد *E. coli* و کلبسیلا، ۷ نمونه از سنین زیر ۱۸ سال، ۱۱ نمونه بین ۱۸-۲۹ سال، ۳۵ نمونه بین ۳۰-۴۵ سال، ۲۸ نمونه بیش از ۴۵ سال و در آقایان ۲ نمونه بین ۳۰-۴۵ سال و ۱۷ نمونه بیش از ۴۵ سال سن داشتند. تقسیم بندی گروه های سنی بر اساس توزیع سنی نمونه های مورد مطالعه بود. بین دو گروه از نظر تعداد نمونه، اختلاف آماری معنی داری مشاهده شد ( $P = 0/020$ ). (جدول ۱-۱).

### نوار ادراری :

از مجموع ۱۰۰ نمونه ادراری، ۹۸ درصد لکوسیت استراز مثبت و ۸۸ درصد نیتريت مثبت بودند. بر اساس بررسی های میکروسکوپی ادرار، ۹۰ درصد از نمونه های گرفته شده از بیماران برای پیوری و ۸۶ درصد برای باکتریوری مثبت بودند. از کل ۱۰۰ نمونه ادرار، ۸۰ درصد مثبت برای رشد پاتوژن های ادرار روی محیط آگار خونی و ۹۲ درصد مثبت برای رشد در محیط مک کانگی آگار مشاهده شدند.

### تست خصوصیات بیوشیمیایی:

با انجام تست های بیوشیمیایی تفریق بین دوباکتری انجام شد به طوریکه *E. coli*: سیترات-، اندول+، حرکت  $\pm$  و vp- در حالی که کلبسیلا، سیترات+، اندول  $\pm$  حرکت  $\pm$  و vp+ بود.

### نتایج تست حساسیت آنتی بیوتیکی :

کنترل مثبت حاوی ۲۰۰ میکرولیتر از استوک میکروبی مورد نظر 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 انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد 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. پایین ترین 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 آنتی بیوتیکی به روش انتشار روی

#### دیسک

این تست حساسیت به آنتی بیوتیک ها، توسط دیسک های تجاری استاندارد با روش کربی باثرا انجام شد. بدین ترتیب که ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتریایی (معادل ۰/۵ مک فارلند استاندارد) به کمک میکروپیت در شرایط استریل به سطح محیط مولر هیتون آگار منتقل و با چرخش ملایم بر روی تمام قسمت ها توزیع گردید. پس از خشک شدن محیط های کشت بمدت ۵ تا ۱۰ دقیقه، در شرایط استریل زیر هود، دیسک های آنتی بیوتیکی بصورت جداگانه و با کمک پنس استریل، در فاصله مساوی از یکدیگر بر روی سطح مولر هیتون آگار قرار داده شد. دیسکها شامل داروهای سفتریاکسون ( $30 \mu g$ )، ایمپنم ( $10 \mu g$ )، سیپروفلوکساسین ( $5 \mu g$ )، کوتریموکسازول ( $25 \mu g$ )، کواموکسی کلاو ( $20/10 \mu g$ )، که از شرکت پادتن طب تهیه گردیده بود. پلیت ها در دمای  $37^{\circ}C$  بمدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند تا پس از این مدت قطر هاله عدم رشد با کولیس های فلزی اندازه گیری شود. اندازه ها بر اساس جدول

حساسیت دارویی داروهای ایمی پنم، سیپروفلوکساسین و سفتریاکسون با کوآموکسی کلاو و کوتریموکسازول در هردو سویه اختلاف معناداری نشان داد ( $P < 0/05$ ). در روش میکرودايلوشن کمترین MIC<sub>50</sub> برای *E. coli* و کلبسیلا در مورد داروهای سفتریاکسون و سیپروفلوکساسین  $1/25 \mu\text{g/ml}$ ، ایمی پنم  $0/5 \mu\text{g/ml}$ ، کوتریموکسازول  $2/3 \mu\text{g/ml}$  و آنتی بیوتیک کوآموکسی کلاو  $8/4 \mu\text{g/ml}$  بود اما MBC ارزیابی نگردید. از نظر آماری کمترین غلظت بازدارندگی دو باکتری برای آنتی بیوتیک های سفتریاکسون و سیپروفلوکساسین اختلاف معنی داری را نشان ندادند (جدول ۳ و ۴).

از ۵۰ نمونه *E. coli*، ۴۵ نمونه (۹۰ درصد) نسبت به ایمی پنم، ۳۸ نمونه (۷۶ درصد) نسبت به سفتریاکسون و سیپروفلوکساسین، 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 (جدول ۲). نتایج هر دوروش در ارزیابی حساسیت دارویی کاملاً باهم مطابقت داشت. نتایج میزان

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

توزیع سنی و برخی خصوصیات دموگرافیک	زیر ۱۸ سال	۱۸ - ۲۹ سال	۳۰ - ۴۵ سال	بیش از ۴۵ سال	تا هل	سابقه عفونت ادراری
جنس						
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 در هردو سویه *E. coli* و کلبسیلا در دوروش میکرودايلوشن و انتشار روی دیسک

سویه دارو	<i>E. coli</i> 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)

جدول ۳: مقایسه تاثیر داروهای ایمی پنم، سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین، کوآموکسی کلاو و کوتریموکسازول روی سویه های *E. coli* به روش میکرودايلوشن برات و انتشار روی دیسک

دارو	میکرودايلوشن برات میانگین MIC ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	نتایج استاندارد CLSI در روش میکرودايلوشن حساس و وابسته به دوز	دیسکهای دارویی	انتشار روی دیسک ( میانگین هاله عدم رشد، میلی متر)	نتایج استاندارد CLSI روشی انتشار روی دیسک حساس و وابسته به دوز
ایمی پنم	۰/۵-۱۶	<۴	(۱۰ $\mu\text{g}$ )	۶-۲۷	$\geq 16$ ۴-۱۶
سفتریاکسون	۰/۲۵-۶۴	<۸	(۳۰ $\mu\text{g}$ )	۶-۲۴	$\geq 64$ ۸-۶۴
سیپروفلوکساسین	۰/۲۵-۸	<۱	(۵ $\mu\text{g}$ )	۶-۲۶	$\geq 4$ ۱-۴
کوآموکسی کلاو	۸/۴-۳۲/۱	<۸/۴	(۲۰/۱۰ $\mu\text{g}$ )	۶-۱۹	$\geq 32/1$ ۸/۴-۳۲
کوتریموکسازول	۲/۳-۸/۱	<۲/۳	(۲۵ $\mu\text{g}$ )	۶-۱۸	$\geq 8/1$ ۱-۲

جدول ۴: مقایسه تاثیر داروهای ایمی پنم، سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین، کوآموکسی کلاو و کوتریموکسازول روی سویه های

کلپسیلاپنومونیه به روش میکرودايلوشن برات و انتشار روی دیسک

دارو	میانگین MIC در روش میکرودايلوشن ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	نتایج استاندارد CLSI در روش میکرودايلوشن حساس و وابسته به دوز	دیسکهای دارویی (میکروگرم)	( میانگین هاله عدم رشد، میلی متر)	نتایج استاندارد CLSI در روش انتشار روی دیسک حساس و وابسته به دوز
ایمی پنم	۰/۵-۱۶	<۴	(۱۰ $\mu\text{g}$ )	۶-۲۸	$\geq 16$ ۴-۱۶
سفتریاکسون	۰/۲۵-۶۴	<۸	(۳۰ $\mu\text{g}$ )	۶-۲۶	$\geq 64$ ۸-۶۴
سیپروفلوکساسین	۰/۲۵-۸	<۱	(۵ $\mu\text{g}$ )	۶-۲۵	$\geq 4$ ۱-۴
کوآموکسی کلاو	۸/۴-۳۲/۱	<۸/۴	(۲۰/۱۰ $\mu\text{g}$ )	۶-۲۰	$\geq 32/1$ ۸/۴-۳۲
کوتریموکسازول	۲/۳-۸/۱	<۲/۳	(۲۵ $\mu\text{g}$ )	۶-۱۹	$\geq 8/1$ ۱-۲

## بحث

از ویژگی‌های عفونتهای دستگاه ادراری این است که طیف گسترده‌ای از عوامل، مسبب عفونت می‌باشد 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 با گسترش سیستمیک تهدید آمیز باشند (۸). در این مطالعه میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی 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 رشد به باکتری‌های گرم منفی به عنوان پاتوژنهای ادراری می‌دهد.

در مطالعه Hryniewicz و همکارانش 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 نمونه‌ها هم گرم مثبت بودند. نتایج آنها نشان داد که باکتری *E. coli* نسبت به سفتریاکسون ۱۰۰٪، سیپروفلوکسازین ۹۵٪، کوتریموکسازول ۷۵٪ و کوآموکسی کلاو ۵۲٪ حساسیت داشتند که با نتایج

این مطالعه متفاوت بود زیرا مطالعه مذکور از لحاظ زمانی قدیمی است (۹). در مطالعه Abdelhalim و همکارانش در سال ۲۰۱۳، حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه های *E. coli* از نمونه‌های ادراری نسبت به آنتی‌بیوتیکهای سیپروفلوکسازین ۶۲٪، کوآموکسی کلاو ۶۴٪، سفتریاکسون ۴۴٪، کوتریموکسازول ۶۶٪، ایمپنم ۲۴٪ مشاهده شد که با نتایج این مطالعه تفاوت داشت. شاید علت این تفاوت استفاده مکرر از دسته داروهای فلروکینولون‌ها 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 گرفت و نتایج آنها نشان داد که حساسیت نسبت به کوآموکسی کلاو ۱۸/۲٪، کوتریموکسازول ۴۳/۱٪، سیپروفلوکسازین ۶۲/۵٪، سفتریاکسون ۶۶/۲٪ و ایمپنم 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 سیپروفلوکسازین ۳۴/۱٪، کوآموکسی کلاو ۸۵٪ و کوتریموکسازول ۹۱/۸٪ بود که با تحقیق حاضر درمورد سیپروفلوکسازین 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 آمپی‌سیلین 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 آنتی‌بیوتیک های ایمپنم و سیپروفلوکسازین به روش دیسک دیفیوژن و E-test در باکتری‌های عامل عفونت ادراری در سال ۹۲ در کاشان عنوان شد میزان حساسیت نسبت به

عوامل است ولی در مجموع نتایج نشان می‌دهد که میزان مقاومت نسبت به داروهای کوآموکسی کلاو 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 و نامنظم داروها به خصوص آنتی‌بیوتیکها 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.

ایمی پنم و سیپروفلوکساسین در باکتری *E.coli* به ترتیب صفر و ۶۳ درصد گزارش شد که در مورد سیپروفلوکساسین تقریبا با مطالعه حاضر هم خوانی داشت (۱۴). در مطالعه 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 Jimenez-Guerra و همکاران در سال ۲۰۱۷ در ارزیابی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های *E.coli* و کلبسیلا عنوان کردند مقاومت دارویی دو سویه مذکور نسبت به سیپروفلوکساسین و کوآموکسی کلاو در حال 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 و سفوتاکسیم بوده است که با مطالعه حاضر همخوانی نداشت (۷). تحقیق‌های متفاوت در مناطق مختلف کشور و دنیا نشان از وجود تفاوت در حساسیت‌های آنتی‌بیوتیکی دارد و این امر احتمالا به دلیل فرهنگ و نحوه استفاده مردم آن مناطق از آنتی بیوتیکهای رایج، ماده موثره دارو و سایر

### 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.



- 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 Escherichia 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  $\beta$ -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.

## 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<sup>1</sup>, Ali Kazemi<sup>2\*</sup>, Rozbeh Yalfani<sup>2</sup>

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  $43.3 \pm 18.15$  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-amoxiclav 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- amoxiclav 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