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


**چکیده :**

**سابقه وهدف :** عفونت مجاری ادراری یکی از شایعترین عفونتهای بیمارستانی است که توسط باکتری اشرشیا کلی ایجاد می شود . این باکتری در اپیتلیوم بافت مجاری ادراری مستقر شده و می تواند ایجاد التهاب مجاری ادراری و التهاب حالب و مثانه و کلیه نماید. این باکتری توانایی تشکیل بیوفیلم را دارد . به نسل سوم انتی بیوتیکها مقاوم است و این امر باعث شده تا این بیماری به یک مشکل پیچیده در جامعه پزشکی تبدیل گردد.

**مواد و روشها:** 100 نمونه ادراری از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری در سطح بیمارستانهای قم در طی ۳ماه بهمن ۱۳۹۵الی فروردین۱۳۹۶جمع آوری گردید و مقاومت آنتی بیوتیکی آنها توسط روش Kirby - Bauer مورد بررسی قرار گرفت . از روش دیسک ترکیبی برای تعیین جدایه های دارای بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) استفاده گردید.

**یافته ها :** از مجموع ۱۰۰ نمونه مورد بررسی با تستهای معمول بیوشیمیایی ، ۷۵ نمونه به عنوان اشریشیا کلی یوروپاتوژن شناسایی شد. نتایج نشان داد که *اشرشیا کلی* یوروپاتوژن دارای بیشترین مقاومت انتی بیوتیک به جنتامایسین بود ۹۳% و حدود۶۰ % نمونه ها ESBL بودند .

**نتیجه گیری:** با توجه به میزان مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های جداشده از دستگاه ادراری و همچنین وجود سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک های 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.



**واژگان کلیدی :** اشرشیا کلی یوروپاتوژن، ESBL ، عفونت مجاری ادراری

## مقدمه

*اشرشیا کلی*[1] 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 محیط های میکروسکوپی های بیشماری در میزبان های حیوانی، انسانی و محیط را دارد. بعضی از سویه های *اشرشیا کلی* می توانند از سویه های کامنسال خودشان متمایز شوند، بیماریزایی طبیعی بیشتر و توانایی ایجاد بیماریهای جدی تر در دستگاه گوارش، بافت ها و اندام های دیگر میزبان ایجاد کنند(۱). زنده ماندن و تکثیر باکتری ها پس از قرار گرفتن در معرض آنتی بیوتیک ها به عنوان مقاومت دارویی[2] شناخته شد است. این مقاومت در برخی مواقع به چندین دارو بروز می کند که مقاومت چند دارویی[3] نامیده می شود(۲). مقاومت باکتریها به آنتی بیوتیک ها جزء مهمترین خطرات تهدید کننده بهداشت جهانی توسط سازمان بهداشت جهانی [4]معرفی شده است که در صد فراوانی از مرگ ومیرهای سالانه بیمارستانی را به خود اختصاص می دهد(۳). امروزه با استفاده بی‌رویه آنتی‌بیوتیک در کشور ما باکتری‌ها مکانیسم‌های مقاومت را دریافت کرده‌اند و نسبت به داروها مقاومت نشان می‌دهند. این مکانیسم می تواند به صورت دریافت ژن های مقاومت از طریق پلاسمید،ترانسپوزون و یا موتاسیون باشد(٤). *اشرشیاکلی* شایعترین عامل عفونتهای ادراری است(٥). به طور معمول سویه های *اشرشیاکلی* در چهار گروه فیلوژنتیکی A,B1,B2, Dتقسیم بندی می شوند. *اشرشیاکلی* یوروپاتوژن بیشتر در گروه B2 تقسیم بندی شده و با جنسیت ارتباط دارند(٦). اکثر عفونتهای کسب شده از جامعه در افراد مونث کمتر از ۱۰ سال یا در زنان بین سنین ۲۰ تا ٤۰ سال رخ می دهد(۷و۸). *اشرشیا کلی* در مجاری ادراری می تواند در مثانه کلونیزه شود و ایجاد التهاب مثانه[5] کند و همچنین می تواند از طریق حالب به کلیه ها صعود کرده و باعث ایجاد پیلونفریت[6]شود. مولکول و ساختارهای مختلف سطح سلولی در تشکیل بیوفیلم در *یوروپاتوژن* دخیل هستند(۹). ۸۰٪ همه عفونت های دستگاه ادراری علامت دار و باکتریوریا[7] بدون علامت است تقریبا بیشتر از ۹۰ درصد افراد جامعه به آن مبتلا می شوند(۱۰). تحقیقات انجام شده در سال های اخیر چگونگی مقاومت آنتی بیوتیکی در افراد و بروز مشکلات در سطح اجتماع را نشان می دهد. تجویز آنتی بیوتیک ها جهت جلوگیری از عفونت باکتریایی ضروری است ولی مصرف بیش از اندازه آن موجب مقاومت این میکروب ها به داروها شده که درمان صورت نمی پذیرد. این مسئله می تواند موجب ظهور عفونت هایی با ابر میکروب ها از جمله *استافیلوک طلایی*مقاوم به متیسیلین[8] شود و مشکلات گسترده ای را به همراه داشته باشد. به گفته پژوهشگران

---

[1] *E.coli*
[2] Drug resistance
[3] Multiple Drug Resistance(MDR)
[4] World Health Organization
[5] Cystitis
[6] Pyelonephritis
[7] Asymptomatic Bacteriuria; ABU
[8] MRSA

مصرف خودسرانه آنتی بیوتیک حتی به میزان کم هم می تواند باعث مقاومت دارویی شود که در صورت ابتلای مجدد، آنتی بیوتیک تجویز شده برای بیمار کارایی نداشته باشد(۱۱). آنتی بیوتیک ها موادی هستند که توسط میکروارگانیسم های تولید شده و موجب مرگ و یا توقف رشد میکرو ارگانیسم های اثرگذاری دیگر می شوند(۱۲).

توانایی UPEC برای متصل شدن به بافتهای میزبان، یکی از فاکتورهای برتری است که کلونیزاسیون UPEC را در دستگاه ادراری تسهیل می کند. چندین فاکتور سطحی مانند تاژک، پیلی یا فیمبریه، پروتیین های اتوترانسپورتر، کورلی، تولید اگزوپلی ساکارید و پیلی F جنسی ، در تشکیل بیوفیلم دخیل هستند(۱۳).
بتالاکتامازها گروه وسیعی از آنزیم ها هستند که حلقه بتالاکتام را در تعدادی از آنتی بیوتیک ها می شکنند(۱٤). بتالاکتاماز ها از خانواده آنزیمهای هیدرولیتیک می باشند که با هیدرولیز آنتی بیوتیک های بتالاکتامی باعث تبدیل آنها به مشتقاتی می شوندکه فعالیت ضد باکتریائی دارند(۱٥). آنزیم های ESBL [۹] آنزیم هایی وابسته به پلاسمید هستند که میتوانند از یک ارگانیسم به دیگری منتقل گردند . اکثریت این پلاسمید ها حاوی DNA میباشند که حاوی مقاومت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام و غیر بتالاکتام می باشد. آنتی بیوتیک هایی که در گروه مورد مقاومت قرار دارند شامل آمینوگلیکوزیدها ، فلوروکینولون ها ، تتراسیکین ، کلرامفنیکل و تری متوپریم سولفامتوکسازول می باشد(۱٦).
هدف از این مطالعه بررسی مقاومت انتی بیوتیکی و ESBL بودن در بین جدایه های بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری در شهر قم می باشد .

**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 ۱۳۹٥ تا فروردین ۱۳۹٦ جمع اوری گردید .محیط های کشت استفاده شده شامل ائوزین متیلن بلو و مکانکی آگار و بلاد اگار و BHI اگارو محیط های تست IMVIC و TSI اگار و اوره از وکاتالاز و اکسیداز و مولر هینتون بود که همگی محصول شرکت مرک المان بودند. دیسکهای انتی بیوتیک استفاده شده شامل سفوتاکسیم ، امیپینم ، سفیپینم ، جنتامایسین ، نالیدیکسیک اسید، کلرامفنیکل، امیکاسین، سیفترياکسون، سولباکتام، افلاکساسین، سولفامتوکسازول، سیپروفلاکساسین و سفتازیدیم بود که همگی از شرکت MAST انگلستان تهیه گردید.

تعداد ۱۰۰ نمونه ادراری از افرادمبتلا به عفونت مجاری ادراری از بیماران بیمارستان های گلپایگانی ، حضرت معصومه ، نکویی جدا گردید. سپس به منظور جداسازی اشرشیاکلی و اطمینان از خالص بودن نمونه ها ، هر کدام از نمونه ها به طور مجزا ابتدا بر روی محیط کشت EMB و مکانکی و بلاد اگار کشت داده شد و جهت انجام تستهای بیوشیمیای برروی محیط BHI اگار کشت داده شدند و با ازمایشهای روتین بیوشیمیایی نظیر سیمون سیترات و تست حرکت و اندول و IMVIC و TSI کاتالاز و اکسیداز و اوره از ، اشرشیا کلی تایید شد . سویه های

[9] Extended Spectrum Beta- Lactamasea

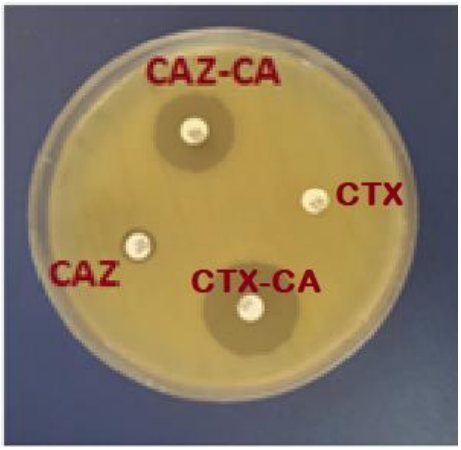
تایید شده با روش گلیسرول ۲۰% به صورت استوک در -۲۰ درجه ذخیره گردید تا در ازمایشات بعدی مورد استفاده قرار بگیرند .

جهت تعیین مقاومت انتی بیوتیکی از روش دیسک پلیت Bauer-Kirby استفاده شد ابتدا یک کشت ۲٤ ساعته از استوک برروی محیط نوترین اگارتهیه گردید سپس ازکلنی های ایجاد شده در محیط نوترین اگار سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند با سرم فیزیولوژی تهیه گردید و سپس به کمک سواپ استریل از هر سوسپانسیون برروی محیط کشت مولر هینتون اگار به صورت متراکم کشت داده شد و پس از ٥ 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 ۲٤ ساعت در ۳۷ درجه قرارداده شد و پس از این مدت قطر حاله ها طبق جدول CLSI مورد بررسی قرارگرفت (۱۷).

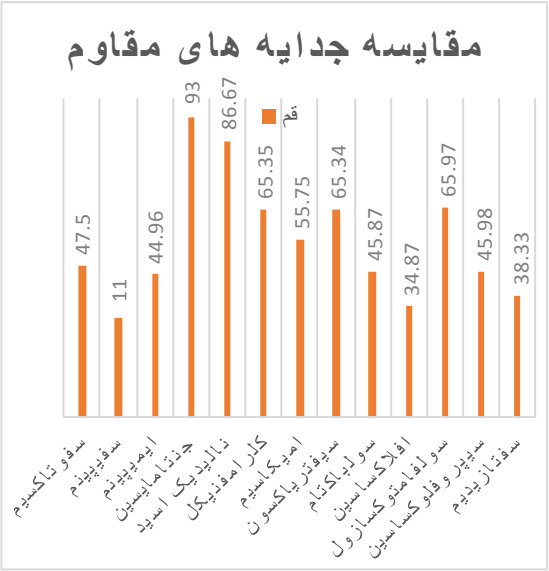
جهت بررسی ESBL بودن از دیسکهای ترکیبی سفتازیدم به همراه کلاوولانیک اسید و سفوتاکسیم به همراه کلاوولانیک اسید استفاده شد که برای این کار ابتدا از کلنی های تازه یک سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند با سرم فیزیولوژی تهیه گردید و سپس با سواپ استریل برروی محیط کشت مولر هینتون کشت داده شد و دیسکهای ترکیبی با فاصله برروی محیط قرارداده 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 برروی ۱۰۰ نمونه ادراری جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری ۷۵ نمونه دارای اشرشیا کلی بودند٠ در بررسی مقاومت انتی بیوتیکی که به روش Bauer-Kirby انجام شد بیشترین مقاومت به جنتامایسین با ۹۳% و کمترین مقاومت به سفیپینم با ۱۱% بود. (نمودار۱) 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)




نمودار۱. مقایسه مقاومت انتی بیوتیکی جدایه ها

## بحث

در مطالعه حاضر که برروی نمونه های شهر قم انجام گرفت .بیشترین مقاومت مربوط به جنتامایسین با ۹۳% وبیشترین حساسیت مربوط به وافلاکساسین با۳٤/۸۷%بود و٤۷% ایزوله ها ESBL بودند. نتایج به دست امده از این بررسی نشان داد که در حال حاضر ارتباط معنا داری بین مقاوت دارویی وESBLوجود دارد و عوامل دیگری نیزدر مقاومت به درمان در باکتری نقش دارد .

در مطالعه ای که در سال ۱۳۹۲ توسط *امینی* و همکاران انجام گرفت بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی را نسبت به آمپی سیلین، کوتریموکسازول و سیپروفلوکسازین گزارش دادند . ۷۲% از ایزوله ها مقاوم به آمپی سیلین، ٤۲% 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 %) گزاش کردند (۱۸).

همچنین در تحقیقی که توسط *میلانی و همکاران* در تبریز در طی سال های ۱۹۹۸ تا ۲۰۰۵ بر روی حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری های جدا شده از افراد مبتلا به UTI انجام شد،( ۹۵/۳%) از ایزوله ها بیشترین مقاومت را نسبت به آمپی سیلین و کمترین مقاومت را به آمیکاسین( ٦/٦ % ) و سیپروفلوکسازین (۱۰/۲ %) نشان دادند. (۱۹).

در مطالعه ای که در سال ۱۳۹۵ توسط شمس و همکاران در شهر قم بر روی نمونه های ارسالی به بیمارستان علی بن ابی طالب انجام گرفت . ۱٦۰

ایزوله *اشرشیا کلی* جدا گردید ۱۹ % از ایزو له ها مقاوم به سفوتاکسیم بودند .
برا ی دستیابی به نتایج بهتر پیشنهاد میشود که بررسی ژنهای مقاومت دارویی وامکان وجود جهش ژنتیکی و بررسی ارتباط بین مقاومت دارویی و بیوفیلم پرداخته شود و همچنین جهت پیشگیری از مقاومت انتی بیوتیکی بررسی حساسیت انتی بوتیکی در بین ازمایشات قرارداده شود تا از مصرف بی جهت انتی بیوتیکی جلوگیری شود .

## فهرست منابع


1. *Johnson DE, Lockatell CV, Russell RG, Hebel JR, Island MD, Stapleton A*, et al. Comparison of *Escherichia coli* strain recovered from human cystitis and pyelonephritis infections in transurethrally 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. Eurjclin microbial 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 infectionassociated 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-3extendedspectrum 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 Ofmultidrug-Resistant Mutants Ofpseudomonasaeruginosa Overexpressing The Active Efflux System Mexa Mexboprm.»Antimicrobial Agents And Chemotherapy291-287:)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 Clinic 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-

blactamase- 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 Eurpathogen E. coli and pap and sfa genes encoding P and S filaments. Damghan Islamic Azad University .3 & 41-52-34. [In Persian]