

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 مسول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده‌ی بهداشت، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی و گروه پاتوبیولوژی Soltanirad34@yahoo.com
دریافت: ۹۲/۱۰/۳۰ پذیرش: ۹۲/۱۲/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: بروز بیماری‌های شدید به‌وسیله باکتری‌هایی که قبلاً از گروه فلور طبیعی بدن شمرده می‌شوند، انسان را در معرض تهدیدهای جدی قرار داده است. باکتری‌های گروه کلبسیلا KES (کلبسیلا، انتروباکتر، سراسیا) که همگی VP^+ هستند، از جمله میکروب‌های تاثیرگذار در عفونت‌های ادراری می‌باشند. وجود سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها از مشکلات درمانی ناشی از این گروه باکتری‌هاست. هدف از این بررسی تعیین مقایسه‌ای الگوی مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی بر باکتری‌های گروه KES در عفونت‌های ادراری و تعیین MIC ایمی‌پنم در سویه‌های MDR است.

روش بررسی: در این مطالعه که از نوع تجربی می‌باشد، ۴۰۰ 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 آنتی‌بیوتیک‌ها از روش دیسک دیفیوژن استفاده گردید. به‌علاوه از روش تهیه‌ی رقت در لوله Macrodilution Broth Test استفاده شد. یافته‌ها: از ۴۰۰ نمونه‌ی ادرار بیمار مبتلا به عفونت ادراری، ۹۶ نفر (۲۴ درصد) علت آلودگی ناشی از باکتری‌های گروه کلبسیلا (KES) بود. 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 سراسیا مرسه سنس را متوقف ساخته، به‌ترتیب برابر با بیشتر از ۰/۲۵ تا ۱۶ 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 مهارکننده، عفونت ادراری، ایمی‌پنم

مقدمه

می‌دهند ولی به محض ورود به سایر نقاط بدن ایجاد عفونت می‌کنند و یکی از عفونت‌های شایع با این باکتری‌ها عفونت‌های ادراری است که از بیماری‌های عفونی معمول در هر سن و به‌خصوص در زنان می‌باشد (۱،۲). باکتریوری

بروز بیماری‌های شدید به‌وسیله باکتری‌هایی که قبلاً جز فلور طبیعی بدن شمرده می‌شوند انسان را در معرض تهدیدهای جدی قرار داده است. باکتری‌های گروه کلی فرم قسمت اعظم فلور طبیعی باکتری‌های هوازی روده را تشکیل

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 و دام (ژئونوز)، دانشگاه علوم پزشکی تهران

ولی در عفونت‌های ادراری جایگاه نسبتاً 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 (۳۸).

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 ارگانسیم‌های مولد بتالاکتاماز در سراسر دنیا مشاهده شده است (۱۰ و 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 سراسیا و خواص کلینیک و پاتولوژیک آن‌ها مشخص نشده است (۱۲، ۱۳).

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 علی‌رغم 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 (۱۴، ۱۵). لذا هدف از این مطالعه، بررسی مقایسه‌ای الگوی مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی بر باکتری‌های گروه KES در عفونت‌های ادراری و تعیین MIC ایمی‌پنم در سویه‌هایی با مقاومت چندگانه Multiple Drug Resistance (MDR) بود.

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 ۱۹۵۶ جهت تمایز عفونت ادراری و آلودگی در افراد فاقد علائم نیز به‌کار رفت. آنچه مسلم است این معیار نمی‌تواند به‌تنهایی یک معیار قطعی در تشخیص عفونت دستگاه ادراری باشد، چون در بیماران دارای علائم 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 ارگانسیم‌هایی 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 معمولاً توسط دست پرسنل بیمارستان و گاهی محلول‌های آنتی‌سپتیک آلوده و ظروف و وسایل کار می‌باشد (۵ و ۴).

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 (۶). 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، سراسیا) 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 سراسیا جز فلور طبیعی بدن بوده،

روش بررسی

این مطالعه از نوع تجربی بود، و در سال‌های ۱۳۹۲-۱۳۹۱ بر روی ۴۰۰ 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 بلاه آگار، ائوزین متیلن بلو (EMB) (مرک) استفاده شد. پس از تلقیح نمونه‌ها بر روی محیط کشت مربوطه قرار داده، در آخر پلیت‌ها به مدت ۱۲ تا ۲۴ 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 سترات، متیل رد، ایندول، ورپرورسکویر استفاده و در نهایت از پلاک API-20E جهت شناسایی نهایی استفاده شد.

در نمونه‌گیری به روش Mid Stream حضور بیش از صد هزار باکتری در هر میلی‌لیتر در ادرار به عنوان باکتریوری مهم و تعداد بیش از ده هزار تا صد هزار در هر میلی‌لیتر ادرار به عنوان مورد مشکوک و تعداد بین ۱۰۰۰-۱۰۰۰۰ به عنوان آلودگی مشکوک و کمتر از ۱۰۰۰ منفی قلمداد گردید. پس از تایید گونه‌های گروه کلبسیلا، با استفاده از استانداردهای CLSI به منظور تعیین الگوی حساسیت از روش انتشار از دیسک (کربی بویر) استفاده گردید (۱۶). 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 سواب پنبه‌ای استریل بر روی پلیتی حاوی محیط مولر هیتون آگار، و سپس قرار دادن ۱۲ دیسک آنتی‌بیوتیک آموکسی سیلین، سفالوتین، جنتامایسین، کلیستین، نالیدیکسیک اسید، کلرامفنیکل، کانامایسین، ایمپی‌پنم، تتراسایکلین، نیترو فورانتوئین، آمیکاسین و سفنازیدیم (شرکت مست) از قرار ۶ 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، ایمپی‌پنم 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. نحوه‌ی عمل بدین صورت بود که ابتدا میزان پودر مورد نظر را با یک ترازوی حساس و دقیق وزن، و سپس در یک میلی‌لیتر دی متیل سولفو اکساید (DMSO) حل گردید. دامنه‌ی دارویی برای ایمپی‌پنم از غلظت اولین لوله از ۰/۲۵ تا آخرین لوله ۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر ادامه یافت.

تهیه‌ی اینوکولوم باکتریایی: جهت تهیه‌ی سوسپانسیون میکروبی با آنس نوک تیز مقدار باکتری از ۴-۵ کلنی مشابه برداشته و در یک لوله حاوی ۱۰ سی سی میلی‌لیتر مولر هیتون براث وارد گردید. سپس این سوسپانسیون را در گرمخانه در حرارت ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده تا کدورت ظاهر گردید و سپس با لوله‌ی استاندارد ۱ مک فارلند که به نسبت ۵۰۰/۱ رقیق شده بود، مقایسه گردید (۱۷).

روش انجام آزمایش: برای هر سوش مورد آزمایش یک سری 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. بدین ترتیب که به لوله‌ی شماره ۱ حداقل غلظت دارو و به لوله‌ی شماره ۷ حداکثر غلظت دارو را وارد کرده لوله‌ی شماره ۸ به عنوان 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. بدین ترتیب 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

۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. روز بعد کمترین غلظت آنتی‌بیوتیک که در کشت مجدد از آن (سر روی محیط جامد مولر هیتون 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 ۴۰۰ نمونه ادرار مبتلا به عفونت ادراری، پس از انجام تست‌های افتراقی، ۹۶ نفر (۲۴ درصد) به انواع کلبسیلا (کلبسیلا، انتروباکتر، سراسیا) آلوده بودند. بیشترین گونه جدا شده، کلبسیلا پنومونیه با ۳۲ یا ۳۳/۳۴ درصد بود (جدول ۱).

کدورت معین است، به لوله‌های ۱ تا ۸ اضافه شد. به این ترتیب آنتی‌بیوتیک‌ها با هم حجم خود از اینوکولوم باکتریای رقیق شده و غلظت مورد نظر به دست 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 به مدت ۱۸ تا ۲۴ 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 هیتون آگار فاقد آنتی‌بیوتیک کشت داده شد. سپس پلیت‌ها ۲۴ ساعت در دمای

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	۳۳/۳۴	۲۱	۶۵/۶۳
کلبسیلا اکسی توکا	۱۲	۱۲/۵۰	۶	۵۰
کلبسیلا ازونه	۳	۳/۱۳	۱	۳۳/۳۴
کلبسیلا ریتوس کلروماتیس	۳	۳/۱۳	-	۰
انتروباکتر اگلومران	۱۸	۱۸/۷۵	۱۱	۶۱/۱۲
سراسیا مرسه سنس	۲۱	۲۱/۸۸	۱۸	۸۵/۷۲
هافنیا آلوهای	۷	۷/۳۰	-	۰

بیماران زیر ۱۰ سال ۲۶ مورد (۲۷/۰۹ درصد)، زیر ۵۰ سال ۳۳ مورد (۴۳/۳۸ درصد) و بالای ۵۰ سال ۳۷ مورد (۳۸/۵۵ درصد) را به خود اختصاص می‌دادند. بیشترین کمترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها به ترتیب نسبت به آموکسی سیلین و آمیکاسین بود (جدول ۲).

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 سراسیا مرسه سنس و کلبسیلا پنومونیه بوده است. از نظر جنسیت، ۵۴ درصد بیماران را خانم‌ها و ۴۶ درصد را آقایان تشکیل می‌دادند. از نظر سنی،

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	۸/۳۴
آموکسی سیلین	۳	۶	۸۷	۹۰/۶۳
سفالوتین	۶۳	۵	۲۸	۲۹/۱۷
جنتامایسین	۶۴	۲	۳۰	۳۱/۲۵
کلیستین	۵۰	۰	۴۶	۴۷/۹۲
نالیدیکسیک اسید	۸۴	۶	۶	۶/۲۵
کلرامفنیکل	۶۸	۳	۲۵	۲۶/۰۵
کانامایسین	۷۶	۶	۱۴	۱۴/۵۹
تتراسایکلین	۶۶	۰	۳۰	۳۱/۲۵
نیترو فورانتوئین	۴۶	۵	۴۵	۴۶/۸۸
آمیکاسین	۹۳	۳	۰	۰
سفتازیدیم	۹۰	۴	۲	۲/۰۹
S: حساس	I: بینابینی			R: مقاوم

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

غلظت‌های مختلف آنتی بیوتیک ایمی پنم $\mu\text{g/ml}$		پنومونی		اکسی توکا		اوزنه		رینواسکلروماتیس		جمع کل	
MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
۲	۹/۵۳	-	-	۲	۳۳/۳۳	۱	۱۶/۶۷	۱	۱۰۰	-	-
۳	۱۴/۲۸	۱	۴/۷۶	۲	۳۳/۳۳	-	-	-	-	۳	۱۷/۸۵
۴	۱۴/۲۸	۴	۱۹/۰۵	۱	۱۶/۶۷	-	-	-	-	۶	۲۱/۴۲
۵	۲۳/۸۱	۶	۲۸/۵۷	۱	۱۶/۶۷	۲	۳۳/۳۳	-	-	۸	۲۸/۵۵
۶	۹/۵۳	۳	۱۴/۲۸	-	-	-	-	-	-	۳	۷/۱۵
۸	۱۴/۲۸	۴	۱۹/۰۵	-	-	-	-	-	-	۴	۱۴/۲۸
۱۶	۹/۵۳	۲	۹/۵۳	-	-	-	-	-	-	۲	۷/۱۵
۱۶ >	۴/۷۶	۱	۴/۷۶	-	-	-	-	-	-	۱	۲/۵۸
۲۱	۱۰۰	۲۱	۱۰۰	۶	۱۰۰	۱	۱۰۰	۰	-	۲۸	۱۰۰

ایزوله‌های سرشیا مرسه سنس الگوی مقاومت چندگانه داشتند. پس از تعیین گونه باکتری، مقاومت دارویی

۵۷ ایزوله باکتری‌های گروه کلبسیلا (۵۹/۳۸ درصد)، الگوی مقاومت چندگانه داشتند. بیش از ۸۵ درصد

آن‌ها به دو روش انتشار دیسک در آگار (متد کربی باثر) 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 ۴ و ۳).

آن‌ها به دو روش انتشار دیسک در آگار (متد کربی باثر) و تعیین حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) با متد

جدول ۴: نتایج MIC و MBC گونه‌های دیگر KES با مقاومت چند گانه نسبت به ایمی پنم

غلظت‌های مختلف		آنتی‌بیوتیک ایمی پنم		انتروباتر اگلوگران		سراشیا مرسه سنس		هافنیا آلوه ای		جمع کل	
تعداد	درصد	MIC	MBC	تعداد	درصد	MIC	MBC	تعداد	درصد	MIC	MBC
۲	۱۸/۱۸	۱۸/۱۸	۱۸/۱۸	۲	۱۱/۱۲	۱۱/۱۲	۱۱/۱۲	-	-	۶/۹۰	-
۲	۱۸/۱۸	۱۸/۱۸	۱۸/۱۸	۲	۱۱/۱۲	۱۱/۱۲	۱۱/۱۲	-	-	۱۳/۸۰	۴
۳	۲۷/۲۸	۲۷/۲۸	۲۷/۲۸	۴	۲۲/۲۱	۲۲/۲۱	۲۲/۲۱	-	-	۳۱/۰۳	۷
۴	۳۶/۳۶	۳۶/۳۶	۳۶/۳۶	۶	۳۳/۳۴	۳۳/۳۴	۳۳/۳۴	-	-	۳۷/۹۳	۱۰
-	-	-	-	۱	۵/۵۴	۵/۵۴	۵/۵۴	-	-	۳/۴۴	۵
-	-	-	-	۲	۱۱/۱۲	۱۱/۱۲	۱۱/۱۲	-	-	۶/۹۰	۳
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۱۱	۱۰۰	۱۱	۱۰۰	۱۸	۱۰۰	۱۸	۱۰۰	۰	-	۲۹	۱۰۰

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 ۴۰ 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 (۱۸). 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 مازامور در سال ۲۰۱۴ در بنگلادش، از ۵۵۱ بیمار مبتلا به عونت ادراری، ۱۳۱ مورد پاتوژن باکتریایی

جدا گردید. اشریشیاکلی با ۹۸ مورد (۷۴/۸ درصد) بیشترین و کلبسیلا پنومونیه با ۱۴ مورد (۱۰/۷ درصد) و آنتروکوک با ۸ مورد (۶/۱ درصد) در مراحل بعدی قرار داشتند (۱۹). در بررسی که در سال ۲۰۰۶ توسط یوکسل در ترکیه انجام گرفت، از ۱۳۱ نفر بیمار مبتلا به UTI، اشریشیاکلی با ۸۷ درصد و کلبسیلا پنومونیه ۱۰ درصد موارد عفونت ادراری را در بر می‌گرفتند (۲۰). طی یک بررسی در اسپانیا در سال ۲۰۰۵ توسط آندرو از ۲۷۲۴ بیمار مورد مطالعه به عفونت ادراری، ۷۳ درصد به اشریشیاکلی، ۷/۴ درصد به پروتئوس، ۶/۶ درصد کلبسیلا و ۴/۸ درصد به آنتروکوک آلوده بودند (۲۱). در این بررسی، از ۹۶ ایزوله باکتری‌های گروه کلبسیلا مورد مطالعه قرارگرفت، که ۳۲ ایزوله کلبسیلا پنومونیه جدا گردید. جدا کردن ۱۲ مورد اکسی توکا، ۳ مورد اوزنه و ۳ مورد رینواسکلروماتیس، نشان دهنده‌ی قدرت بیماریزایی سایر گونه‌های کلبسیلا می‌باشد. نتایج به‌دست آمده برای

آنتی‌بیوتیک‌های سفنازیدیم، آمیکاسین، نالیدیکسیک اسید و ایمپنم حساسیت بالایی نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها نشان دادند، به‌طوری که این حساسیت برای سفنازیدیم حدود ۹۷/۹ درصد و برای آمیکاسین، نالیدیکسیک اسید و ایمپنم 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 ایمپنم به‌دست آمده توسط روش دایلوژن 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 ۲۰۰۳-۲۰۰۴ که بر روی ۶ نمونه از سویه‌های کلبسیلا پنومونیه انجام شد، پس از تعیین MIC سویه‌های مذکور برای ایمپنم، 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 ایمپنم برای ایزوله‌های با مقاومت چندگانه (MDR) کلبسیلا پنومونیه، ۰/۲۵ تا ۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. در حالی که این MIC برای گونه‌های دیگر کلبسیلا و حتی سایر جنس‌های این گروه حداکثر تا ۸ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. همین وضعیت برای MBC ایمپنم کلبسیلا پنومونیه تا ۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر مشاهده شده است، اگرچه بعضی از گونه‌ها مانند کلبسیلا رینوس کلروماتیس و هافنیا الوئه‌ای اصولاً فاقد ایزوله‌هایی با مقاومت چندگانه 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 ایمپنم داروی مناسب جهت درمان ایزوله‌های باکتری‌های گروه کلبسیلا می‌باشد (۲۴). 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 اصولاً عمق ۴ میلی‌متری برای این منظور توصیه شده است (۱۷ و ۱۶).

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که ایمپنم داروی مناسبی برای ایزوله‌های گروه کلبسیلا بوده، کلبسیلا پنومونیه و سریشیا مرسه سنس مقاوم‌ترین گونه‌ها در میان سایر گونه‌های گروه کلبسیلا با MIC به ترتیب ۱۶ > 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 ۱۷۲۱۱ مورخ 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

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 ME¹, 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? *Clin Microbiol Rev.* 2005; 18: 306-25.

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

9- Rebeck JA, Olsen KM, Fey PD, Langnas AN, Rupp ME. Characterization of an outbreak due to extended-spectrum 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,

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.

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

Soltan Dallal MM¹, Sharifi Yazdi MK²

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

²Zoonosis Research Center 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 sensitivity 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, respectively. 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