

## مقایسه دوروش دیسک دیفیوژن آگار با دیسک های ایرانی و خارجی در تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی سویه های اشرشیا کلی جدا شده از کودکان مبتلا به عفونت ادراری

دکتر ایرج صدیقی\*، دکتر عباس سلگی\*\*، دکتر محمدیوسف علیخانی\*\*\*، دکتر حسین عماد ممتاز\*  
فاطمه میهنی\*\*\*\*

دریافت: ۸۸/۱۲/۴، پذیرش: ۸۹/۲/۲۰

### چکیده:

**مقدمه و هدف:** عفونت ادراری یکی از شایع ترین عفونت های دوران کودکی است و اشرشیاکلی مهمترین علت ایجاد عفونتهای ادراری می باشد. از آنجا که روش دیسک دیفیوژن آگار یک روش رایج و کم هزینه در اندازه گیری حساسیت ضد میکروبی می باشد و همچنین با توجه به افزایش موارد مقاومت گزارش شده به آنتی بیوتیک های مختلف در درمان عفونت ادراری کودکان، در این مطالعه بر آن شدیم تا مقایسه ای بین دو روش دیسک دیفیوژن آگار با دیسک های ایرانی (پادتن طب) و انگلیسی (Mast) در تعیین حساسیت سویه های اشرشیاکلی جدا شده از عفونت ادراری کودکان داشته باشیم.

**روش کار:** این مطالعه توصیفی-مقطعی طی سال های ۱۳۸۸-۱۳۸۷ در بیمارستان بعثت همدان بر روی ۱۰۰ کودک مبتلا به عفونت ادراری که دارای کشت مثبت ادرار با باکتری اشرشیاکلی بودند انجام گرفت. آنتی بیوگرام با دیسکهای ایرانی و انگلیسی با آنتی بیوتیکهای کوتریموکسازول، آمیکاسین، سفتریاکسون، نالیدیکسیک اسید، سفیکسیم و نیتروفورانتوئین با روش کربی باثرا انجام شد. اطلاعات بدست آمده با استفاده از آزمون آماری مک نمار تجزیه و تحلیل گردید.

**نتایج:** کمترین حساسیت آنتی بیوتیکی در هر دو روش دیسک دیفیوژن مربوط به کوتریموکسازول (دیسک ایرانی ۲۳٪/دیسک انگلیسی ۲۶٪) و بیشترین حساسیت آنتی بیوتیکی مربوط به نیتروفورانتوئین می باشد. (دیسک ایرانی ۸۶٪ و دیسک انگلیسی ۹۷٪). اختلاف حساسیت آنتی بیوتیکی دو نوع دیسک در مورد آنتی بیوتیکهای سفتریاکسون، آمیکاسین، سفیکسیم و نیتروفورانتوئین معنی دار می باشد اما این تفاوت در مورد کوتریموکسازول و نالیدیکسیک اسید معنی دار نیست.

**نتیجه نهایی:** با توجه به همخوانی بیشتر نتایج حاصل از تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی دیسکهای خارجی مطالعه حاضر با مطالعات قبلی توصیه می گردد که کیفیت دیسکهای ایرانی در تولید افزایش یابد.

**کلید واژه ها:** آزمونهای حساسیت میکروبی / اشرشیاکلی / دیسک دیفیوژن / عفونت مجاری ادرار

### مقدمه:

ادراری در شیرخواران و کودکان از اهمیت بخصوصی برخوردار است. زیرا در این گروه سنی عدم تشخیص و درمان به موقع و موثر می تواند باعث آسیب نسجی و ایجاد اسکار و اختلال کارکرد کلیه ها شود (۱). با توجه به اهمیت تشخیص به موقع و درمان موثر آنتی بیوتیکی در عفونت های ادراری کودکان، استفاده از یک روش حساس و دقیق برای تعیین حساسیت

عفونت ادراری یکی از شایع ترین عفونت های دوران کودکی است. شیوع این عفونت در دوران کودکی ۳٪-۵٪ می باشد (۱). باکتریهای گرم منفی و در راس آنها اشرشیاکلی مهمترین علت ایجاد عفونت های ادراری می باشند بطوری که ۹۰٪ - ۷۵٪ علت عفونت ادراری در دختران را اشرشیاکلی تشکیل می دهد (۲،۳). عفونت

\* استادیار گروه کودکان دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان (sedighi@umsha.ac.ir)

\*\* دستیار گروه کودکان دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

\*\*\* استادیار گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

\*\*\*\* کارشناس ارشد میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی همدان

به طریق دیسک دیفیوژن با دیسکهای ایرانی و انگلیسی و به روش کربی بائر انجام شد. در این روش پس از تهیه سوسپانسیون باکتریایی مطابق با لوله نیم مک فارلند در سرم فیزیولوژی آن را بر روی پلیت مولر هینتون آگار منتقل نموده و سپس دیسک های آنتی بیوتیکی را به ترتیب به وسیله پنس استریل بر سطح پلیت قرار دادیم و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی گراد، مناطق عدم رشد در اطراف دیسک با خط کش مخصوص اندازه گیری شد و سپس نتایج بدست آمده برای هر آنتی بیوتیک را با استفاده از استانداردهای National Committee Clinical Laboratory Standards (NCCLS) به سه گروه حساس، مقاوم و مقاومت نسبی تقسیم بندی نمودیم.

نتایج با هم مقایسه و توسط آزمون آماری MC- Nemar تجزیه و تحلیل نهایی انجام شد و به منظور کنترل کیفی مطالعه از سوش آمریکایی اشرشیا کلی (E.coli ATCC 25922) استفاده گردید.

### نتایج:

در این مطالعه ۷۴ نفر (۷۴٪) بیماران دختر و ۲۶ نفر (۲۶٪) پسر بودند. کمترین سن بیماران ۱۵ روز و بالاترین آنها ۱۳ سال سن داشت. در روش دیسک دیفیوژن با دیسکهای انگلیسی ۲۶٪ از اشرشیا کلی های رشد کرده به کوتریموکسازول حساس بودند، حساسیت به آمیکاسین ۹۴٪، سفتریاکسون ۶۶٪، نیتروفورانئوتین ۹۷٪، نالیدیکسیک اسید ۵۲٪ و سفیکسیم ۶۲٪ بود (جدول ۱، نمودار ۱).

جدول ۱: مقایسه حساسیت آنتی بیوتیکی به دو روش دیسک دیفیوژن با دیسکهای ایرانی (پادتن طب) و انگلیسی (Mast)

ارزش P	حساسیت به روش دیسک دیفیوژن		
	دیسک ایرانی تعداد (درصد)	دیسک انگلیسی تعداد (درصد)	
۰/۲۵۰	۲۳ (۲۳)	۲۶ (۲۶)	کوتریموکسازول
۱/۰۰۰	۴۶ (۴۶)	۵۲ (۵۲)	نالیدیکسیک اسید
۰/۰۳۱	۶۰ (۶۰)	۶۶ (۶۶)	سفتریاکسون
۰/۰۰۰	۷۷ (۷۷)	۹۴ (۹۴)	آمیکاسین
۰/۰۰۰	۴۷ (۴۷)	۶۲ (۶۲)	سفیکسیم
۰/۰۰۱	۸۶ (۸۶)	۹۷ (۹۷)	نیتروفورانئوتین

آنتی بیوتیکی بخوبی احساس می شود تا با انتخاب داروی موثر و مناسب درمان صحیح بیماری صورت گیرد و از عوارض خطرناک کلیوی خصوصاً در کودکان جلوگیری شود.

از آنجا که روش دیسک دیفیوژن آگار یک روش رایج و کم هزینه در اندازه گیری حساسیت ضد میکروبی میباشد، در صورتی که از دیسک های آنتی بیوتیکی معتبر استفاده شود میتوان از آن در تعیین حساسیت ارگانیزم ها جهت غربالگری اولیه و تعیین درمان مناسب استفاده نمود. با توجه به این موضوع و همچنین افزایش درصد مقاومت های گزارش شده به آنتی بیوتیک های مختلف در درمان عفونت ادراری کودکان در این مطالعه بر آن شدیم تا مقایسه ای بین دو روش دیسک دیفیوژن آگار با دیسک های ایرانی (متعلق به شرکت پادتن طب) و انگلیسی (متعلق به شرکت Mast) جهت تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی سوبه های اشرشیا کلی (E.coli) جدا شده از کودکان مبتلا به عفونت ادراری داشته باشیم.

### روش کار:

این مطالعه بصورت مقطعی و از نوع توصیفی - تحلیلی می باشد که در طی سال های ۱۳۸۸-۱۳۸۷ در بیمارستان بعثت همدان انجام گرفت. جمعیت مورد مطالعه ۱۰۰ کودک مبتلا به عفونت ادراری بود که دارای کشت مثبت ادرار با باکتری اشرشیاکلی بودند. روش انجام کار بدین صورت بود که پس از جمع آوری ادرار به روش نمونه میانی ادرار (Clean catch specimen) در کودکانی که قادر به کنترل ادرار و همکاری در تهیه نمونه بودند و نمونه ادراری تهیه شده از طریق اسپیراسیون مثانه و یا سوند ادراری (Suprapubic aspiration or Catheter) در کودکانی که قادر به تهیه نمونه میانی ادرار نبودند. سوبه های اشرشیا کولی از این نمونه ها جداسازی و این سوبه ها به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پزشکی منتقل شدند. در این آزمایشگاه جهت تشخیص افتراقی از سایر باکتریهای گرم منفی، رفع آلودگی احتمالی نمونه ها و حصول اطمینان از جنس و گونه باکتری تست های بیوشیمیایی مختلف بر روی آنها انجام گرفت و هویت باکتری های E.coli با استفاده از روشهای استاندارد تأیید شد. سپس برای آنتی بیوتیکهای تری متوپریم - سولفامتوکسازول، آمیکاسین، سفتریاکسون، نالیدیکسیک اسید، سفیکسیم و نیتروفورانئوتین آنتی بیوگرام

بیشترین درصد توافقی (overall agreement) درمقایسه دیسک دیفیوژن با دیسکهای ایرانی و دیسکهای انگلیسی مربوط به کوتریموکسازول (۹۶٪) با اختلاف بدست آمده (۴٪) و کمترین درصد توافقی مربوط به آمیکاسین (۸۳٪) با اختلاف بدست آمده (۱۷٪) می باشد (جدول ۲).

جدول ۲: مقایسه نتایج دوروش دیسک دیفیوژن با دیسک های ایرانی و انگلیسی و محاسبه درصد توافقی

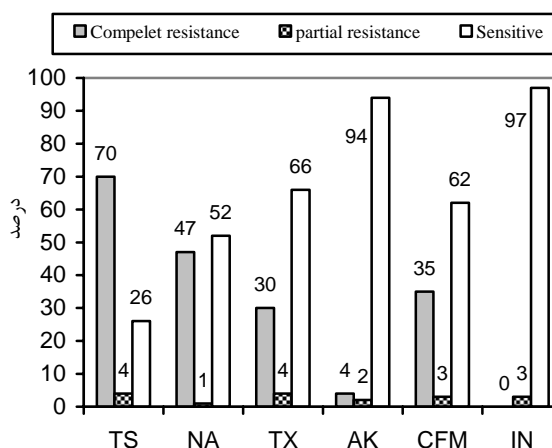
درصد توافقی	دیسک دیفیوژن با دیسک ایرانی			دیسک دیفیوژن با دیسک انگلیسی			
	مقاوم	بینابینی	حساس	مقاوم	بینابینی	حساس	
۹۶	۲۳	۸	۶۹	۲۶	۴	۷۰	کوتریموکسازول
۹۴	۴۶	۶	۴۸	۵۲	۱	۴۷	نالیدیکسیک اسید
۹۳	۶۰	۳	۳۷	۶۶	۴	۳۰	سفتریاکسون
۸۳	۷۷	۸	۱۵	۹۴	۲	۴	آمیکاسین
۸۵	۴۷	۱۱	۴۲	۶۲	۳	۳۵	سفیکسیم
۸۹	۸۶	۷	۷	۹۷	۳	۰	نیتروفورانتوئین

کلیه اعداد جدول درصد می باشند.

### بحث:

شایع ترین باکتری ایجاد کننده عفونت اداراری اشرشیا کلی می باشد که این موضوع در مطالعات مختلفی به اثبات رسیده است (۲،۳). در مطالعه حاضر از نظر توزیع جنسی در مجموع ۷۴٪ بیماران دختر و ۲۶٪ پسر بودند که این توزیع جنسی با مطالعات دیگر مطابقت دارد (۱،۴). یافته های این مطالعه نشان می دهد که کمترین حساسیت یا به بیان دیگر بیشترین مقاومت در هر دو روش دیسک دیفیوژن با دیسکهای ایرانی و دیسکهای انگلیسی مربوط به کوتریموکسازول می باشد (حساسیت با دیسک پادتن طب ۲۳٪ دیسک Mast ۲۶٪) و بیشترین حساسیت مربوط به نیتروفورانتوئین می باشد. (حساسیت با دیسک پادتن طب ۸۶٪ و دیسک Mast ۹۷٪) که این موارد با مطالعاتی که در ایران در دانشگاههای تهران و قزوین (۵،۶) و همچنین مطالعه ای که توسط لیژینگ و همکارانش در سال ۲۰۰۷ در چین (۷) و نیز مطالعه ماتوتا و همکارانش که در سال ۲۰۰۲ در لیون نیکاراگوئه انجام شد همخوانی و مطابقت دارد (۴) دلیل اصلی این حساسیت بالا استفاده کم از این دارو به دلیل عدم پذیرش آن از طرف بیماران و همچنین عدم تجویز آن توسط پزشکان به دلیل طیف اثرات محدود آن در درمان سایر بیماریها می باشد.

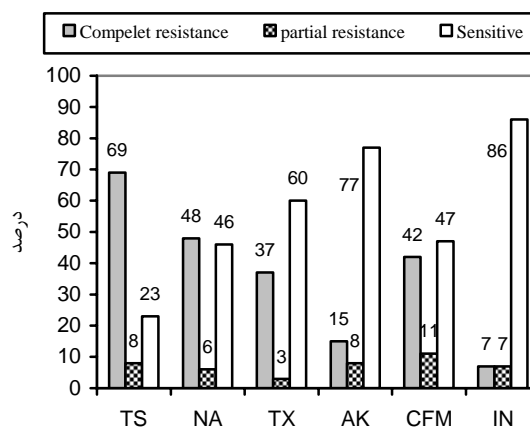
نتایج نشان می دهد آنتی بیوتیکهایی که کاربرد



نمودار ۱: نتایج آنتی بیوگرام با دیسک های انگلیسی (Mast)

TS = Co-Trimoxazol NA = Nalidixic Acid TX = Ceftriaxon  
AK = Amikacin CFM= Cefixim IN= Nitrofurantoin

در روش دیسک دیفیوژن با دیسکهای ایرانی (پادتن طب) ۲۳٪ از اشرشیاکلی های رشد کرده به کوتریموکسازول حساس بودند. حساسیت به آمیکاسین ۷۷٪، سفتریاکسون ۶۰٪، نیتروفورانتوئین ۸۶٪، نالیدیکسیک اسید ۴۶٪ و سفیکسیم ۴۷٪ بود (جدول ۱، نمودار ۲).



نمودار ۲: نتایج آنتی بیوگرام با دیسک های ایرانی (پادتن طب)

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می شود در مقایسه میزان حساسیت آنتی بیوتیکی اشرشیاکلی به روش دیسک دیفیوژن با دو نوع دیسک مذکور در مورد نالیدیکسیک اسید و کوتریموکسازول بین دو روش اختلاف معنی دار نمیباشد، حال آنکه در مورد بقیه آنتی بیوتیک ها این اختلاف معنی دار بود.

بدون تب (cystitis) و همچنین در پروفیلاکسی بیماران مبتلا به ریفلاکس بهتر است از نیتروفوران‌توئین در درمان اولیه استفاده شود. در صورت نیاز به درمان تزریقی در بیماران تب دار مبتلا به عفونت ادراری با توجه به حساسیت بسیار بالای اشرشیاکلی نسبت به آمیکاسین (حساسیت در روش دیسک ایرانی ۷۷٪، دیسک انگلیسی ۹۴٪) به جزء در بیماران دارای اختلال عملکرد کلیه بهتر است از آمیکاسین به عنوان درمان اولیه Empiric استفاده شود.

### سپاسگزاری:

در پایان لازم است از زحمات پرسنل محترم بخش کودکان بیمارستان بعثت، گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی و پرسنل محترم آزمایشگاه بیمارستان بعثت همدان کمال تشکر و قدر دانی را بنماییم.

### منابع:

1. Kliegman R, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF. Nelson text book of pediatrics. 18<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2007.
2. Ejraes K. Urinary tract infection; recurrent UTI caused by Ecoli strain causing preceding UTI. Womens Heath 2004 ; 25: 166.
3. Mims C, Dockrell H, Goering R, Roitt I, Wake-lin D, Zuckerman M. Urinary tract infection. Medical microbiology. 3rd ed. New York: Mosby, 2004: 241.
4. Matute AJ, Hak E, Schurink C. Resistancy of uropathogens in symptomatic urinary tract infections in leon, nicaragua. Int J Antimicrob Agents 2004; 23(5) : 506-509.
5. Erfani Y, Choobineh H, Safdari H, Rasti A, Alizadeh S. Comparison of E. teat and disk diffusion agar in antibiotic susceptability of. E.coli isolated from patients with urinary tract infection in Shariati hospital (Iran). J Biol Sci 2008; 3(1): 24-27.
6. Vaezzadeh F, Sharifi-Yazdi MK. Laboratory evaluation of urine culture and drug resistance in children clinically suspected of urinary tract infection(UTI). Iranian J Public Health 2001; 30: 123-124.
7. Lixing Z, Xiang C. Prevalence of virulence factors and antimicrobial of uropathogenic e.coli in jiangsu province (China). J Urol 2009; 74(3): 702-707.
8. Fahimzad AR, Mamaishi S, Noorbakhsh S, Siadati A, Hashemi FB, Tabatabai SR, et al. [Study of antibiotics resistance in pediatric acute bacterial meningitis with E-test method]. Iran J Pediatr 2006; 16(2): 149-156. (Persian)

وسیع تری دارند مقاومت بالاتر و حساسیت کمتری دارند مانند کوتریموکسازول و نالیدیکسیک اسید و آنتی بیوتیک هایی که کاربرد محدودتری دارند بیشترین میزان حساسیت را دارند مانند نیتروفوران‌توئین. محاسبه درصد توافقی دیسکهای ایرانی و انگلیسی نشان می دهد دقت هر دونوع دیسک در مورد کوتریموکسازول و نالیدیکسک اسید مشابه می باشند ولی در مورد آنتی بیوتیکهای سفتریاکسون، آمیکاسین، سفیکسیم و نیتروفوران‌توئین اختلاف معنی داری بین حساسیت آنتی بیوتیکی دو نوع دیسک وجود دارد.

با توجه به نتایج مطالعات قبلی که نشان می دهند دقت دیسکهای آنتی بیوتیکی Mast قابل مقایسه با روش های دقیق تر تعیین حساسیت میکروبی مانند E-test است (۸) و با عنایت به همخوانی بیشتر نتایج حاصل از تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی دیسک های خارجی مطالعه حاضر با سایر مطالعات (۷-۴) و با توجه به اختلاف معنی دار نتایج حاصل از آنتی بیوگرام چهار دیسک ایرانی با دیسک انگلیسی (سفتریاکسون، آمیکاسین، سفیکسیم و نیتروفوران‌توئین) به نظر میرسد دیسکهای تولید داخل در این موارد کیفیت لازم را ندارند.

### نتیجه نهایی:

با توجه به اینکه در مورد چهار آنتی بیوتیک (سفتریاکسون، آمیکاسین، سفیکسیم و نیتروفوران‌توئین) گزارش موارد مقاوم با دیسکهای داخلی بیشتر از موارد مقاوم با دیسک خارجی است، این موضوع باعث تلقی مقاومت دارویی از سوی پزشکان و مصرف آنتی بیوتیکهای جدید تر شده و علاوه بر افزایش هزینه باعث افزایش مقاومت دارویی خواهد شد. لذا توصیه می شود که کیفیت تولید دیسک های ایرانی به ویژه در مورد آنتی بیوتیکهای مذکورافزایش یابد و در صورت تحقق این هدف روش دیسک دیفیوژن آگار با دیسکهای تولید داخل میتواند بعنوان یک روش غربالگری اولیه برای تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی بکار رود. با عنایت به نتایج این مطالعه و با توجه به این که شایع ترین ارگانیسم ایجاد کننده عفونت ادراری در کودکان اشرشیاکلی می باشد در درمان اولیه (Empiric) تا حد امکان نباید از کوتریموکسازول و نالیدیکسیک اسید استفاده شود. در موارد عفونت ادراری