

## *The Phenotype Frequency of Broad-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Escherichia coli in Elderly Women with Urinary Tract Infection in Qom City (Iran)*

Mohsen Zargar<sup>1\*</sup>, Ali Javadi<sup>1</sup>, Seyedeh Zohreh Hosseini<sup>1</sup>, Talayeh Shakeri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

### **Abstract**

**Background and Objectives:** Urinary Tract Infections (UTI) are one of the most important type of infections in young and elderly women. Studies have indicated that *Escherichia coli* is one of the major causes of this type of infection. This bacterium can produce broad-spectrum beta-lactamases (ESBLs) that are able to inactivate beta-lactam antibiotics. This study was conducted with the aim of phenotypic determination of ESBL in *E. coli* bacteria isolated from urinary tract infections of elderly women.

**Methods:** This experimental study was performed on 300 women over 50 years of age, who referred to laboratories of Qom city (for urine culture). The isolated *E. coli* was identified using biochemical tests, then ESBL producing isolates were detected using combined disc method and the presence of ESBL was determined.

**Results:** Out of 300 urine samples, 82 *E. coli* strains were obtained. The resistance Pattern to cefotaxime was 37.81%, and to ceftazidime was 23.17%. Also, 52.63% of the isolated bacteria were phenotypically ESBL.

**Conclusion:** *E. coli* is one of the common causes of urinary tract infection in elderly women over 50 years of age, and the incidence of ESBL-mediated resistance enzymes can endanger this age group in society. Therefore, continuous monitoring of these individuals prevents severe symptoms and the risks caused by UTI.

**Keywords:** Aged; Women; Urinary tract infections; *Escherichia coli*; beta-Lactamase.

\*Corresponding Author:  
Mohsen Zargar, Department of Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

Email:  
zmohsen2000@yahoo.com

Received: 23 Feb, 2016

Accepted: 24 Aug, 2016

## فراوانی فنوتیپی اشرشیاکلی مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف در زنان سالمند مبتلا به عفونت ادراری در شهر قم

محسن زرگر\*، علی جوادی<sup>۱</sup>، سیده زهره حسینی<sup>۱</sup>، طلایه شاکری<sup>۱</sup>

### چکیده

**زمینه و هدف:** عفونت‌های مجاری ادراری (UTI)، یکی از مهم‌ترین انواع عفونت‌های شایع در زنان جوان و مسن می‌باشد. مطالعات نشان داده است یکی از عوامل اصلی این عفونت‌ها، باکتری اشرشیاکلی می‌باشد. این باکتری قادر به تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) بوده که قادر به غیرفعال کردن آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام است. این تحقیق با هدف بررسی فنوتیپی حضور بتالاکتاماز وسیع الطیف در باکتری اشرشیاکلی جداشده از عفونت ادراری زنان سالمند صورت گرفت.

**روش بررسی:** این مطالعه تجربی طی یک سال بر روی ۳۰۰ زن بالای ۵۰ سال، مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های سطح شهر قم (جهت انجام کشت ادرار) انجام شد. باکتری اشرشیاکلی جداشده به وسیله تست‌های بیوشیمیایی شناسایی شد، سپس تعیین جدایه‌های دارای ویژگی، به روش دیسک ترکیبی ESBL انجام گرفت و حضور بتالاکتاماز وسیع الطیف مشخص گردید.

**یافته‌ها:** از مجموع ۳۰۰ نمونه ادراری، ۸۲ مورد اشرشیاکلی به دست آمد. الگوی مقاومت به سفوتاکسیم، ۳۷/۸۱٪ و به سفتازیدیم، ۲۳/۱۷٪ بود. همچنین ۵۲/۶۳٪ باکتری‌ها از نظر فنوتیپی، ESBL محسوب شدند.

**نتیجه‌گیری:** باکتری اشرشیاکلی، یکی از عوامل شایع عفونت ادراری در زنان سالمند بوده و بروز مقاومت با واسطه آنزیم‌های بتالاکتامازی وسیع الطیف می‌تواند این رده سنی را در جامعه به مخاطره بیندازد. بنابراین، نظارت مداوم بر این افراد، از بروز علائم شدید و خطرات ناشی از عفونت ادراری پیشگیری می‌کند.

**کلید واژه‌ها:** سالمندی؛ زنان؛ عفونت ادراری؛ اشرشیاکلی؛ بتالاکتاماز.

گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران.

\*نویسنده مسئول مکاتبات:

محسن زرگر، گروه میکروبی‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:  
zmohsen2000@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۴

تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۲

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Zargar M, Javadi A, Hosseini SZ, Shakeri T. The phenotype frequency of Broad-spectrum Beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in elderly women with urinary tract infection in Qom City (Iran).

Qom Univ Med Sci J 2017;11(7):84-89. [Full Text in Persian]

## مقدمه

عفونت ادراری، یک بیماری شایع در بین زنان جوان و مسن است (۱). با وجود شیوع بالای باکتریوری در زنان مسن، بیشتر تحقیقات در مورد زنان جوان صورت گرفته که نقص استروژن در این زنان، نقش کلیدی در گسترش باکتریوری داشته است (۲،۱). در چندین مطالعه، تأثیر استروژن در پیشگیری از عفونت ادراری نشان داده شده است (۱). عفونت ادراری باعث مراجعه چندین میلیون بیمار به بیمارستان‌ها و مراکز درمانی می‌شود و منجر به ۱۰۰۰۰۰ مورد بستری و حدوداً ۱/۶ بلیون دلار هزینه می‌گردد (۳). عفونت ادراری بدون علامت، در زنان مسن باعث تأخیر در تشخیص شده که تشخیص دیر هنگام آن نیز منجر به مشکلاتی نظیر بستری شدن و یا مرگ و میر می‌شود (۴). عفونت ادراری، دومین عامل بستری بالغین بالای ۶۵ سال پس از عفونت‌های تنفسی می‌باشد (۵). دامنه این عفونت وسیع بوده و از یک عفونت بدون علامت تا عفونت باکتریمی پیش می‌رود. باکتریمی ناشی از عفونت ادراری در جمعیت سالمند، مرگ و میر بالایی دارد و طی ۲۸ روز، حدود ۵٪ مرگ و میر گزارش شده است (۶). تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های بیماری‌زای شایع جهت هدایت درمان‌های تجربی و اختصاصی علیه یک پاتوژن خاص، حایز اهمیت است. مقاومت باکتری‌های خانواده آنتروباکتریاسه به عوامل ضد میکروبی مختلف به علت مکانیسم‌های مقاومت ذاتی و اکتسابی، بسیار متغیر است. مقاومت اکتسابی در نتیجه مواجهه با عوامل ضد میکروبی به دست می‌آید و این خانواده که جزء مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زا به شمار می‌روند، عموماً نسبت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند (۶). برای پیشگیری از عفونت و انتخاب آنتی‌بیوتیک‌های مناسب برای درمان سریع قبل از آماده شدن نتیجه آزمون‌های تعیین حساسیت، نیاز به اطلاع دقیق و به‌روز از باکتری‌های شایع و الگوی مقاومت باکتری‌های کلونیزه شده می‌باشد (۶). بسیاری از باکتری‌ها قادر به تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs)، من جمله آنزیم‌های گروه CTX بوده که سبب مقاومت بالای آن در برابر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام می‌شود. از جمله این باکتری‌ها می‌توان به اشرشیاکلی اشاره کرد که درصد قابل توجهی از عفونت‌های ادراری را شامل می‌شود.

بنابراین، شناخت الگوی مقاومت و حساسیت این باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام در درمان و کنترل عفونت‌های ناشی از این باکتری، نقش به‌سزایی دارد (۷). با توجه به اهمیت بهداشتی و درمانی این افراد، این مطالعه با هدف بررسی عوامل باکتریال عفونت ادراری در زنان بالای ۵۰ سال و بررسی الگوی مقاومت، همچنین حضور بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در آنها انجام شد.

## روش بررسی

در این مطالعه تجربی، از ۳۰۰ زن بالای ۵۰ سال (مشکوک به عفونت ادراری در طی یک‌سال)، نمونه ادرار صبحگاهی در ظرف استریل جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در محیط‌های اتوزین متیلن‌بلو آگار و بلاد آگار (Merck, Germany) به روش Semi-quantitative Method با لوپ استاندارد (Calibrated Loops) کشت داده شدند (۷). تشخیص هویت باکتری‌ها با تهیه کشت خالص از عامل عفونت همراه با شناسایی مورفولوژی کلنی و رنگ‌آمیزی گرم، انجام تست‌های بیوشیمیایی و در نهایت، با استفاده از جداول استاندارد باکتری‌ها در حد جنس و گونه انجام شد. جهت تشخیص تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز با طیف گسترده در ایزوله‌های موجود، از روش دیسک ترکیبی (Combined Disk) طبق استانداردهای CLSI برای تأیید تولید ESBL، براساس خاصیت مهارى کلاوولانیک اسید بر روی بتالاکتامازها استفاده شد (۸). پس از تهیه سوسپانسیون باکتریایی با کدورتی برابر با ۰/۵ مک‌فارلند، آن را در سطح محیط مولر هیتون آگار (Merck, Germany) کشت داده، سپس دیسک‌های حاوی سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم) و سفوتاکسیم-کلاوولانیک اسید (MAST,UK) (۳۰ میکروگرم/۱۰ میکروگرم)، همچنین دیسک‌های سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم) و سفتازیدیم-کلاوولانیک اسید (MAST,UK) (۳۰ میکروگرم/۱۰ میکروگرم) در فاصله ۲۰ میلی‌متری از یکدیگر قرار گرفتند. پس از انکوباسیون پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت، هاله‌های عدم رشد اطراف دیسک‌های بدون کلاوولانیک اسید و دیسک‌های حاوی کلاوولانیک اسید با خط‌کش اندازه‌گیری شد.

## یافته‌ها

در صورتی که هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های آنتی‌بیوتیک - کلاوولانیک اسید از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک خالص ۱/۵ برابر بیشتر باشد، نشان‌دهنده تولید ESBL توسط آن ایزوله است) (۱۰، ۹).

از این مطالعه، از تعداد ۳۰۰ نمونه ادرار (پس از انجام کشت و شناسایی کلنی با تست‌های بیوشیمیایی)؛ ۲۷/۳٪ از نظر حضور اثرشیاکلی مثبت شدند (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: درصد حضور اثرشیاکلی در نمونه ادراری

| جنسیت | تعداد نمونه | تعداد مثبت | درصد مثبت اثرشیاکلی | درصد منفی |
|-------|-------------|------------|---------------------|-----------|
| مؤنث  | ۳۰۰         | ۸۲         | ۲۷/۳                | ۷۲/۷      |

پس از انجام آنتی‌بیوگرام با دیسک سفوتاکسیم، ۳۱ نمونه (۳۷/۸۱٪) از ایزوله‌ها به سفوتاکسیم مقاومت نشان دادند و ۵۱ نمونه (۶۲/۱۹٪) حساس بودند (جدول شماره ۲).

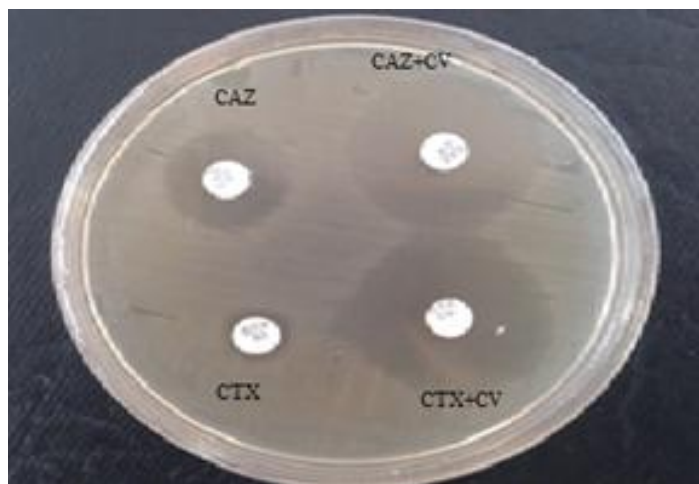
از نظر حساسیت و مقاومت به سفتازیدیم به ترتیب ۶۳ نمونه (۷۶/۸۳٪) حساس و ۱۹ نمونه (۲۳/۱۷٪) مقاوم بودند (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: الگوی آنتی‌بیوگرام و حساسیت به سفتازیدیم و سفوتاکسیم

| آنتی‌بیوتیک | الگوی آنتی‌بیوگرام | حساسیت       | مقاومت       |
|-------------|--------------------|--------------|--------------|
|             |                    | (تعداد) درصد | (تعداد) درصد |
| سفتازیدیم   |                    | ۶۳ (۷۶/۸۳)   | ۱۹ (۲۳/۱۷)   |
| سفوتاکسیم   |                    | ۵۱ (۶۲/۱۹)   | ۳۱ (۳۷/۸۱)   |

در شکل، افزایش هاله عدم رشد در اطراف دیسک ترکیبی (۵ میلی‌متر بیشتر از دیسک تنهای هر یک از آنتی‌بیوتیک‌ها)، نشان‌دهنده مهار آنزیم بتالاکتامازی و افزایش در هاله عدم رشد می‌باشد.

ایزوله‌های مقاوم به سفتازیدیم و سفوتاکسیم، جدا شده و جهت بررسی فنوتیپی تولید بتالاکتاماز وسیع‌الطیف، از دیسک‌های ترکیبی سفوتاکسیم - کلاوولانیک اسید و سفتازیدیم - کلاوولانیک اسید، همزمان استفاده شد.



شکل. تست ترکیبی جهت تعیین فنوتیپی تولید بتالاکتاماز وسیع‌الطیف.

{CAZ (سفتازیدیم)، CAZ+CV (سفتازیدیم-کلاوولانیک اسید)، CTX (سفوتاکسیم)، CTX+CV (سفوتاکسیم-کلاوولانیک اسید)}

۹ نمونه (۴۷/۳۷٪) ایزوله، فاقد این آنزیم بودند که non-ESBL تشخیص داده شدند (جدول شماره ۳).

پس از انجام تست‌های تعیین فنوتیپی باکتری‌های مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در بین ایزوله‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها، ۱۰ نمونه (۵۲/۶۳٪) از ایزوله‌ها، واجد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف (ESBL) و

جدول شماره ۳: فراوانی بتالاکتاماز وسیع الطیف در بین ایزوله‌های مقاوم

| فراوانی بتالاکتاماز<br>باکتری<br>اشرشیاکلی | ESBL         | Non ESBL     |
|--------------------------------------------|--------------|--------------|
|                                            | (تعداد) درصد | (تعداد) درصد |
|                                            | ۱۰ (۵۲/۶۳)   | ۹ (۴۷/۳۷)    |

## بحث

افزایش شیوع باکتری‌های مولد آنزیم‌های بتالاکتامازی وسیع الطیف، به خصوص اشرشیاکلی و سایر باکتری‌های انتروباکتریاسه با ایجاد مشکلاتی در سیستم بهداشتی جوامع، موجب شده تا درمان آنتی‌بیوتیکی عفونت ناشی از این ارگانسیم‌ها دچار مشکل شود (۱۱). یکی از گروه‌های سنی درگیر و مستعد بیماری در جامعه، سالمندان هستند که با وجود افزایش روزافزون جمعیت این گروه، انجام مطالعاتی در جهت کنترل تشخیص و درمان بیماری‌های آنان از نظر اقتصادی و بهداشتی، حایز اهمیت است (۱۲). زنان سالمند با وجود تغییرات هورمونی و عدم رعایت بهداشت فردی؛ مستعد عفونت ادراری با ایجاد علامت و بدون ایجاد علامت هستند و عوارضی همچون تب، تکرر و سوزش ادرار، همچنین درد کلیه در این زنان می‌تواند منجر به بستری شدن و حتی مرگ و میر آنان شود (۱۳). یکی از عوامل عفونت ادراری، باکتری اشرشیاکلی بوده که در این گروه سنی شایع است (۱۴). در مطالعه حاضر باکتری اشرشیاکلی در زنان بیش از ۵۰ سال، عامل شایع عفونت ادراری بود و ۲۷/۳٪ را به خود اختصاص داد. در گروه سنی ۷۰-۵۰ سال با کاهش استروژن، لاکتوباسیل‌های واژینال کاهش، و pH واژینال افزایش می‌یابد که این خود یکی از دلایل مستعدکننده این افراد در ابتلا به عفونت ادراری تناسلی است (۱). Marques و همکاران (سال ۲۰۱۲) در مطالعه خود با بررسی عفونت ادراری در زنان سالمند، نشان دادند ۱۶/۵۵٪ از سالمندان مبتلا به عفونت بوده و شایع‌ترین عامل آن را نیز باکتری اشرشیاکلی (۶۰/۶٪) گزارش کردند (۲). Prakash و همکاران (سال ۲۰۱۳) با انجام مطالعه‌ای در گروه سنی بیش از ۴۸ سال، ۴۲/۵۸٪ اشرشیاکلی از عفونت ادراری زنان جدا کردند (۱۵). مطالعات بسیاری در زمینه حضور آنزیم‌های بتالاکتامازی وسیع الطیف (ESBL) در اشرشیاکلی انجام شده است؛ لیکن در مورد باکتری‌های جداسازی شده از عفونت ادراری زنان سالمند، مطالعات محدودی وجود دارد.

شیوع ESBL در باکتری اشرشیاکلی در عفونت ادراری بالغین در سال ۲۰۰۳-۲۰۰۰ از ۱/۷-۴۷٪ بوده، ولی در سالهای اخیر حدوداً ۷۹/۵-۵۰٪ گزارش شده است (۱۶). در مطالعه خانی و همکاران (سال ۱۳۹۰)، شیوع عفونت ادراری در سالمندان مقیم خانه سالمندان شهر کهریزک مورد بررسی قرار گرفت که از بین ۱۴۲ مورد، ۵۵/۵٪ مبتلا به عفونت ادراری بودند و عامل شایع، باکتری اشرشیاکلی گزارش شد (۱۷). در مطالعه‌ای دیگر آصف‌زاده و همکاران، فونت‌های رایج سالمندان بستری در بخش عفونی بیمارستان بوعلی قزوین را در دوره یک‌ساله بررسی کردند که از ۲۴۰ مورد بستری، ۴۸/۳٪ جنسیت زن داشتند و ۱۳/۳٪ آنها نیز به علت عفونت ادراری در بیمارستان بستری بودند (۱۸). یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر در زنان سالمند شهر قم خبر از شیوع عفونت ادراری و حضور بتالاکتامازهای وسیع الطیف را در عامل شایع این عفونت؛ یعنی باکتری اشرشیاکلی می‌دهد، همچنین در این مطالعه مانند سایر تحقیقات، ۵۲/۶۳٪ از باکتری‌های مقاوم، به‌طور فنوتیپی واجد بتالاکتاماز وسیع الطیف بودند.

بررسی افراد سالمند در جامعه از نظر ابتلا به عفونت ادراری به دلیل دارا بودن سیستم ایمنی ضعیف، حایز اهمیت است و از مرگ‌ومیر و هزینه‌های بستری در بیمارستان جلوگیری خواهد کرد.

## نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد عفونت ادراری در افراد سالمند شهر قم، شیوع بالایی دارد و از عوامل مهم این عفونت در این رده سنی، باکتری اشرشیاکلی بوده که روزبه‌روز به داروهایی نظیر سفالوسپورین‌های نسل سوم با واسطه بتالاکتامازهای وسیع الطیف، مقاومت بیشتری نشان می‌دهد.

## تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل از طرح پژوهشی (به شماره ۳۳۳۳۸ بوده) که با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم به انجام رسیده است. بدین وسیله از مسئولین دانشگاه که شرایط اجرای فعالیت‌های پژوهشی را فراهم می‌آورند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

## References:

1. Raz R. Urinary tract infection in postmenopausal women Korean. *J Urol* 2011;52(12):801-8.
2. Marques LPJ, Flores JT, Junior ODO, Rodrigues GB, De Medeiros Mourão C, Moreira RM. Epidemiological and clinical aspects of urinary tract infection in community-dwelling elderly women. *Braz J Infect Dis* 2012;16(5):436-41.
3. Nicolle LE. Epidemiology of urinary tract infections. *Clin Microbiol Newsletter* 2002;24(18):135-40.
4. Midthun S, Paur R, Bruce AW, Midthun P. Urinary tract infections in the elderly: A survey of physicians and nurses. *Geriatr Nurs* 2005;26(4):245-51.
5. Litwin MS, Saigal CS, Beerbohm EM: The burden of urologic diseases in America. *J Urol* 2005;173(4):1065-6.
6. Robichaud SJ, Blondeau. Urinary tract infections in older adults: Current issues and new therapeutic options. *Aging health* 2013;9(5):10.2217/ahe.13.38.
7. Tal S, Guller V, Levi S, Bardenstein R, Berger D, Gurevich I. Profile and prognosis of febrile elderly patient with bacteremic urinary tract infections. *J Infect* 2005;50(4):296-305.
8. Wikler MA. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard. 9<sup>th</sup> ed. *Clin Lab Stand Instit* 2006;26(1):45-49.
9. Bajpai T, Pandey M, Varma M, Bhatambare GS. Prevalence of extended spectrum beta-lactamase producing uropathogens and their antibiotic resistance profile in patients visiting a tertiary care hospital in central India: Implications on empiric therapy. *Indian J Pathol Microbiol* 2014;57(3):407-12.
10. Drieux L, Brossier F, Sougakoff W, Jarlier V. Phenotypic detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase production in Enterobacteriaceae: Review and bench guide. *Clin Microbiol Infect* 2008;14 Suppl 1:90-103.
11. Falagas MD, Karageorgopoulos DE. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing organisms. *J Hosp Infect* 2009;73(4):345-54.
12. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: Incidence, morbidity, and economic costs. *Am J Med* 2002;113 Suppl 1A:5S-13S.
13. Stamm WE, Hooton TM. Management of urinary tract infections in adults. *N Engl J Med* 1993;329(18):1328-34.
14. Karlowsky JA, Kelly LJ, Thornsberrry C, Jones ME, Sahn DF. Trends in antimicrobial resistance among urinary tract infection isolates of *Escherichia coli* from female outpatients in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46(8):2540-5.
15. Prakash D, Saxena RS. Distribution and antimicrobial susceptibility pattern of bacterial pathogens causing urinary tract infection in urban community of Meerut City, India. *ISRN Microbiol* 2013;2013:749629.
16. Calbo E, Romani V, Xercavins M, Gómez L, Vidal CG, Quintana S, et al. Risk factors for community-onset urinary tract infections due to *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *J Antimicrob Chemother* 2006;57(4):780-3.
17. Khani R, Akbari M, Shamsi A, Nori H. Prevalence of urinary tract disorders in residents of kahrizak elderly house. *J Hayat* 2011;17(2):32-41. [Full Text in Persian]
18. Asef Zadea M, Ghasemi R, Zoghi F. Common infections of elderly patients admitted in Bou Ali Sina teaching hospital. *J Birjand Univ Med Sci* 2001;12(1,2):53-59. [Full Text in Persian]