Archive of SID

Original Article

Evaluation and Identification of Carbapenem Resistant Klebsiella pneumoniae Isolated from Hospitalized Patients in Qom City, (Iran)

Seyed Soheil Aghaei[1*], Masoud Keikha[2], Morteza Karami Zarandi[3], Hossein Ali Rahdar[4], Ali Javadi[5], Elahe Takei[3], Razei Nazarei[1]

[1]Department of Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

[2]Department of Microbiology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

[3]Department of Microbiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[4]Department of Microbiology, Iranshahr University of Medical Sciences, Iranshahr, Iran.

[5]Department of Microbiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Corresponding Author:
Seyed Soheil Aghaei;
Department of Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

Email:
soheilaghaee @yahoo.com

Received: 22 Feb, 2019
Accepted: 12 May, 2019

Abstract

Background and Objectives: *Klebsiella pneumonia* is a facultative anaerobe bacterium from enterobacteriaceae family, which causes a wide range of diseases, such as urinary tract infections, cystitis, pneumonia, surgical wounds infections, infectious endocarditis, and diffused infections, especially in patients with HIV infection and immunosuppression. The aim of this study was to identify carbapenem resistance genes in *K. pneumonia* strains isolated from hospitalized patients in Qom city.

Methods: In this cross-sectional study, using phenotypic methods, such as DDST and Modified Hodge Test, 79 carbapenem resistant isolates were identified and presence of resistance related genes, including *IMP*, *VIM*, *NDM*, *OXA-48* and *KPC*, was investigated by molecular methods, such as PCR. Relation between the results of phenotypic and PCR methods, was determined using Chi squared test.

Results: In this study, 69 isolates had *IMP*, *VIM*, *NDM*, *OXA-48*, and *KPC* genes, which the highest carbapenem resistant isolates were urinary strains and the lowest resistant was from cerebrospinal fluid samples. The most frequent isolated gene was *VIM* with 66.66% frequency, and KPC and NDM genes had lowest frequency with of 7.24%. One isolate contained all studied genes.

Conclusion: Considering drug-resistant infections cause failure of treatment, especially higher mortality rate in patients in the intensive care unit, thus, the need for a codified program for screening and reporting ESBL strains is necessary for the assessment and monitoring the treatment, as well as determining an effective guidelines for treatment of resistant infections.

Keywords: *Klebsiella pneumonia;* Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae; Enterobacteriacea.

DOI: 10.29252/qums.13.4.39

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره سیزدهم، شماره چهارم، تیر ۹۸
صفحه ۳۹ الی ۴۷

Archive of SID

مقاله پژوهشی
(Original Article)

ارزیابی و شناسایی ژن‌های مقاوم به کاربا‌پنم در کلبسیلاپنومونیه‌های جداشده از بیماران بستری در شهر قم

سید سهیل آقایی[1*]، مسعود کیخا[2]، مرتضی کرمی زرندی[3]، حسینعلی راهدار[4]، علی جوادی[5]، الهه تاکی[3]، راضیه نظری[1]

[1]گروه میکروب‌شناسی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران.

[2]گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

[3]گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

[4]گروه میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی ایرانشهر، ایرانشهر، ایران.

[5]گروه میکروب‌شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
سید سهیل آقایی؛ گروه میکروب‌شناسی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:
soheilaghaee @yahoo.com

تاریخ دریافت:۹۷/۱۲/۳
تاریخ پذیرش:۹۸/۲/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: *کلبسیلا پنومونیه*، یک باکتری هوازی - اختیاری متعلق به خانواده انتروباکتریاسه بوده که طیف وسیعی از بیماری‌ها مانند عفونت‌های مجاری ادراری، سیستیت، پنومونی، عفونت‌های زخم‌های جراحی، اندوکاردیت عفونی و منتشره را در بیماران مستعد، به‌خصوص افراد آلوده به HIV و سرکوب‌کننده سیستم ایمنی ایجاد می‌کند. این مطالعه با هدف شناسایی ژن‌های مقاوم به کاربا‌پنم در کلبسیلا پنومونیه‌های جداشده از بیماران بستری در شهر قم انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه Cross-sectional، با استفاده از روش‌های فنوتیپی DDST و Modified Hodge Test، ۷۹ ایزوله مقاوم به کاربا‌پنم شناسایی شد که به کمک روش‌های مولکولی مانند PCR، به ارزیابی حضور ژن‌های مرتبط با ایجاد مقاومت در برابر کاربا‌پنم‌ها مانند *IMP*، *VIM*، *NDM*، *OXA-48* و *KPC* پرداخته شد. تعیین ارتباط نتایج فنوتایپیک و PCR با استفاده از آزمون آماری مجذور کای (کای‌اسکوئر) صورت گرفت.

یافته‌ها: در این مطالعه، تعداد ۶۹ ایزوله دارای ژن‌های *IMP*، *VIM*، *NDM*، *OXA-48* و *KPC* بودند که بیشترین سویه‌های جداشده مقاوم به کاربا‌پنم مربوط به سویه‌های ادراری و کمترین مربوط به سویه‌های جداشده از مایع مغزی نخاعی بود. فراوان‌ترین ژن جداشده، *VIM* با ۶۶/۶۶٪ و کمترین آن *KPC* و *NDM* با ۷/۲۴٪ گزارش شد. یک ایزوله نیز حاوی تمامی ژن‌ها بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به اینکه عفونت‌های مقاوم به دارو موجب شکست درمان، به‌خصوص افزایش میزان مرگ‌ومیر در بیماران بخش مراقبت‌های ویژه می‌شود؛ لذا لزوم برنامه مدون برای غربالگری و گزارش سویه‌های ESBL برای ارزیابی و پایش درمان، همچنین تعیین دستورالعمل مؤثر برای درمان عفونت‌های مقاوم به درمان ضروری است.

کلیدواژه‌ها: *کلبسیلا پنومونیه*؛ مقاومت به کاربا‌پنم‌ها انتروباکتریاسه؛ انتروباکتریاسه.

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Aghaei SS, Keikha M, Karami Zarandi M, Rahdar HA, Javadi A, Takei E, et al. Evaluation and identification of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from hospitalized patients in Qom City, (Iran). Qom Univ Med Sci J 2019;13(4):39-47. [Full Text in Persian]

www.SID.ir

Archive of SID

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم/ دوره سیزدهم، شماره چهارم، تیر ۱۳۹۸

International License Creative Co

مقدمه

عوامل پاتوژن فرصت‌طلب محسوب شده که طیف وسیعی از عفونت‌های مجاری ادراری، سیستیت، پنومونی، عفونت‌های زخم‌های جراحی، اندوکاردیت عفونی و منتشره را در بیماران نقص سیستم ایمنی و بستری ایجاد می‌کند (۱). از بتالاکتام‌ها و کاربانم‌هایی نظیر ایمی‌پنم، مروپنم و ارتاپنم به‌طور معمول برای درمان عفونت‌های انتروباکتریاسه، به‌ویژه *کلبسیلا پنومونیه* استفاده می‌شود، اما در حال حاضر، ظهور سویه‌های MDR و XDR انتروباکتریاسه تبدیل به یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های روز سیستم‌های درمان شده که علاوه بر افزایش طول دوره درمان مشکلاتی از قبیل افزایش هزینه درمان و تعداد مرگ‌ومیر بیماران را نیز در پی خواهد داشت (۲،۳). براساس گزارش‌های EARSN (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network) در سال‌های ۲۰۱۵-۲۰۰۵؛ تاکنون هیچ ایزوله بالینی *کلبسیلا پنومونیه* حساس به سفالوسپورین‌های نسل سوم، آمینوگلیکوزیدی، فلوروکینولون و کاربانم شناسایی نشده است؛ طبق این گزارش‌ها، فراوانی ایزوله‌های مقاوم به کاربانم *کلبسیلا پنومونیه* (CRKP) در این بازه زمانی، افزایش یافته است (۱،۴). CRPK به‌صورت سه فنوتیپ شامل: بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs)، متالوبتالاکتاماز و بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف AmpC ظهور می‌کند (۱،۳). در این میان، باکتری *کلبسیلا پنومونیه* به‌لحاظ منشأ و منبع انتشار ژن‌های مقاوم به بتالاکتامازها، از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است؛ به‌طوری‌که در سال ۱۹۶۰ نخستین سویه مقاوم به پنی‌سیلین، در این باکتری مشاهده شد. علاوه‌براین، اولین گزارش‌ها نیز مربوط به بتالاکتامازهای bla_{SHV-1}، bla_{TEM-1}، bla_{SHV-2}، bla_{IMP-1}، bla_{GES}، bla_{NDM-14}، bla_{OXA-48} و KPC در *کلبسیلا پنومونیه* می‌باشد (۲،۵). امروزه مشخص شده است ESBLsها موجب مقاومت باکتری‌ها نسبت به سفالوسپورین‌های نسل اول، دوم، سوم و چهارم، آزترونام و کاربانم‌ها می‌شوند و عموماً ژن‌های کدکننده این آنزیم‌ها بر روی پلاسمیدها و ترانسپوزون‌ها قرار دارند که بین جمعیت باکتری‌ها نیز به اشتراک گذاشته می‌شوند.

گسترش [illegible] ST۲۸۸ [illegible] است (۱،۳) و در حال ح

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم/ دوره سیزدهم، شماره چهارم، تیر ۱۳۹۸

ense Creative Commons Attribution License 4.0

IMP (class B)، *CTX* (class A)، *OXA* (class D)، *NDM* (class B) و *KPC* (class A)، ازجمله شایع‌ترین بتالاکتامازهای *کلبسیلا پنومونیه* در ایزوله‌های بالینی سراسر جهان محسوب می‌شوند. همچنین نظرهای متعددی درخصوص منشأ و گسترش ژن‌های دخیل در ایجاد مقاومت مطرح است؛ به‌عنوان‌مثال می‌توان به تماس مداوم با عوامل ضد میکروبی، تغییر پروتئین‌های هدف، فعالیت پمپ افلاکس، تغییرات پورین‌های غشایی، انتقال از کارکنان سیستم‌های بهداشتی و تغییرات ژنتیکی رخ داده در جریان کروم سنسینگ در جمعیت بیوفیلم اشاره کرد (۱،۲). براساس گزارش سازمان بهداشت جهانی (WHO) در سال ۲۰۱۴، فراوانی سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* تولیدکننده ESBL در بسیاری از مناطق مختلف جهان به میزان بیش از ۵۰٪ رسید که زنگ خطری جدی به‌حساب می‌آید (۱،۴). امروزه، برای درمان عفونت با سویه‌های ESBL-E (ESBL-producing Enterobacteriaceae) و CRE (Enterobacteriaceae carbapenemresistant) از کلیسیتین پلی‌میکسین B و تایجی‌سایکلین استفاده می‌شود؛ اما این داروها عوارض جانبی و مشکلات جدی به همراه دارند که موجب محدودیت مصرف آن‌ها در بیماران شده است مانند کلیسیتین که باعث آسیب به توبول‌های کلیوی (۶) می‌شود.

تعیین پروفایل مقاومت دارویی، ارزیابی و شناسایی انواع ژن‌های دخیل در مقاومت، به‌خصوص ردیابی بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف می‌تواند در مطالعات اپیدمیولوژی بومی آن منطقه، مهم قلمداد شود. همچنین مقایسه نتایج با داده‌های سایر مناطق جهان موجب دید کلی نسبت به شناخت چگونگی انتقال و نحوه انتشار ژن‌های مقاومت در سویه‌های باکتریایی مناطق مختلف و نحوه مبارزه، کنترل و پیشگیری از گسترش جهانی این ژن‌های آنتی‌بیوتیکی جدید شده که درنهایت، در انتخاب رژیم دارویی استاندارد بسیار حایز اهمیت است (۷-۹).

www.SID.ir

Archive of SID

این مطالعه با هدف شناسایی ژن‌های مقاوم به کاربانم در کلبسیلا پنومونیه‌های جداشده از بیماران بستری در قم انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه Cross-sectional، ابتدا ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* از نمونه بالینی قسمت میانی ادرار با کلنی کانت بیش از 10^4CFU/ml (۷۰)، مایعات استریل شامل خون (۵۲)، مایع مغزی - نخاعی (۱۰)، آسیت (پریتوئن) (۱۰)، پریکارد (۳)، مایع مفصلی (۱۰)، نمونه‌های تنفسی (۳۵) و آبسه بیماران (۱۰) مراجعه‌کننده به چهار بیمارستان مرجع (بهشتی، کامکار، گلپایگانی و نکویی) شهر قم، جداسازی و بر روی محیط مک‌کانکی آگار، ژلوز خون‌دار و شکلات آگار تحت حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد و جو حاوی ۵٪ دی‌اکسیدکربن کشت داده شدند؛ ایزوله‌های بالینی با استفاده از روش‌های مرسوم باکتریولوژیک؛ از قبیل رنگ‌آمیزی گرم، تست‌های بیوشیمیایی TSI، MR، VP، SIM، سیمون‌سیترات، اوره‌آز، لیزین و اورنیتین دکربوکسیلاز، فنیل‌آلانین دآمیناز و تست ONPG شناسایی و تأیید گونه شدند. در مرحله بعد، شناسایی سویه‌های

K. pneumoniae ESBL producing با استفاده از روش‌های فنوتایپیک، تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* (با دیسک‌های شرکت MAST و روش کری‌بلیر) بر روی محیط مولر - هینتون آگار، طبق دستورالعمل استاندار CLSI انجام شد (۱۰). در این مطالعه از

Escherichia coli ATCC 25922 به‌عنوان سویه کنترل منفی و سویه‌های

K. pneumoniae AO8053 (blaKPC)، *P. aeruginosa* PO510 (blaVIM) و *E. coli* MH01 (blaNDM) و *K. pneumoniae* KP1514 (blaOXA-48) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

سپس ایزوله‌های مشکوک به ESBL به‌وسیله روش دابل - دیسک سینرژیک تست با استفاده از دیسک‌های سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم) و سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم) انجام شد (۱۱،۱۲). روش DDST استفاده‌شده در این مطالعه برای شناسایی سویه‌های ESBL *اشرشیاکلی* و *کلبسیلا پنومونیه* بسیاری از مناطق جهان کاربرد دارد که از دقت بسیار بالایی نیز برخوردار بوده؛ گرچه هنوز مورد تأیید CLSI قرار نگرفته است (۳). علاوه‌براین، جداسازی ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* تولیدکننده آنزیم‌های کاربانماز به کمک روش استاندارد Modified Hodge Test انجام شد (۱۲).

در ادامه، براساس نتایج تست‌های فنوتایپیک، تعداد ۷۹ ایزوله به‌عنوان ESBL شناسایی شد که در مرحله بعد این ایزوله‌ها جهت بررسی حضور بتالاکتامازهای *IMP*، *VIM*، *NDM*، *OXA-48* و *KPC* موردبررسی قرار گرفتند. ابتدا ژنوم این ایزوله‌ها به‌وسیله روش لیز قلیایی استخراج شدند، سپس PCR برای هریک از بتالاکتامازهای اشاره‌شده به‌صورت مجزا با استفاده از پرایمرهای جدول شماره ۱:

حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر حاوی ۱۲ میکرولیتر مسترمیکس، یک میکرومول از هر پرایمر، یک میکرولیتر از DNA و ۱۰ میکرولیتر آب طبق برنامه دمایی (جدول شماره ۱) انجام گرفت؛ درنهایت به‌منظور تأیید مولکولی وجود و یا عدم حضور بتالاکتامازهای مدنظر، محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز در ژل ۱/۵٪ بررسی شدند.

جدول شماره ۱: پرایمرهای مورداستفاده برای شناسایی ژن‌های مقاوم به کاربانم

ESBLs	پرایمر	تولید PCR	رفرنس
IMP	Imp-F 5′-GGA ATA GAG TGG CTT AAY TCT C-3′ Imp-R 5′-CCA AAC YAC TAS GTT ATC T-3′	۱۸۸	(۱۳)
VIM	Vim-F 5′-GAT GGT GTT TGG TCG CAT A-3′ Vim-R 5′-CGA ATG CGC AGC ACC AG-3′	۳۹۰	(۳)
NDM	NDM-F, 5′- GGTTTGGCGATCTGGTTTTC-3′ NDM-R 5′-CGGAATGGCTCATCAC GATC-3-3′	۶۲۱	(۵)
OXA-48	OXA-48F5′-TTGGTGGCATCGATTATCGG-3′ OXA-48R5′-GAGCACTTCTTTTGTGATGGC-3′	۷۴۳	(۹)
KPC	KPC-1F5′-CGTTCTTGTCTCTCATGGCC-3′ KPC-1R5′-CCTCGCTGTGCTTGTCATCC-3′	۷۹۶	(۱)

www.SID.ir

Archive of SID

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم/ دوره سیزدهم، شماره چهارم، تیر ۱۳۹۸ ، مجدور

International License Creative Co

و PCR)

تحلیل شدند. سطح معنی‌داری، p<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۷۹ ایزوله *کلبسیلا پنومونیه* مقاوم به کاربانپم با استفاده از روش‌های فنوتیپی، از بیماران جداسازی شد. دامنه سنی بیماران بین ۸۱-۸ سال بود و ۶۳/۷٪ از جمعیت بیماران را زنان و ۳۶/۳٪ آنان را مردان تشکیل می‌دادند. میانگین سنی زنان، ۳۹/۶ و میانگین سنی مردان، ۴۳/۲ سال برآورد شد.

براساس نتایج روش‌های فنوتایپیک DDST و MHT، فراوانی سویه‌های ESBL *کلبسیلا پنومونیه* به میزان ۷۹٪ تخمین زده شد. در این میان، ۴۶ نمونه (۵۸٪/۲۷) از ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* ESBL از نمونه‌های ادراری، ۱۸ نمونه (۲۲٪/۷۸) از نمونه‌های خون، ۵ نمونه (۶/۳۲٪) از نمونه‌های شست‌وشوی برونش (BAL) و آبسه‌ها هرکدام به‌صورت یکسان، ۲ نمونه (۲٪/۵۳) از نمونه‌های مایعات مفصلی و از نمونه‌های مایع مغزی - نخاعی، خلط و مایع پریتوئن، هرکدام یک نمونه (۱/۲۶٪) به‌صورت یکسان جدا شد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: بررسی معنی‌داری ارتباط بین نتایج روش‌های مرسوم و مولکولی، جهت شناسایی ایزوله‌های ESBL

ایزوله‌های ESBL	شناسایی مولکولی تعداد (درصد) [pvalue]	شناسایی فنوتیپی تعداد (درصد) [pvalue]	تعداد کل ردیف مرکزی
مثبت	۶۹ (۷۳/۵۳) [۰/۲۸]	۷۹ (۷۴/۴۷) [۰/۲۸]	۱۴۸
منفی	۱۰ (۵/۴۷) [۳/۷۶]	۱ (۵/۵۳) [۳/۷۲]	۱۱
تعداد کل ستون مرکزی	۷۹	۸۰	۱۵۹

شاخص کای ۸/۰۳۳۳ p<۰/۰۵

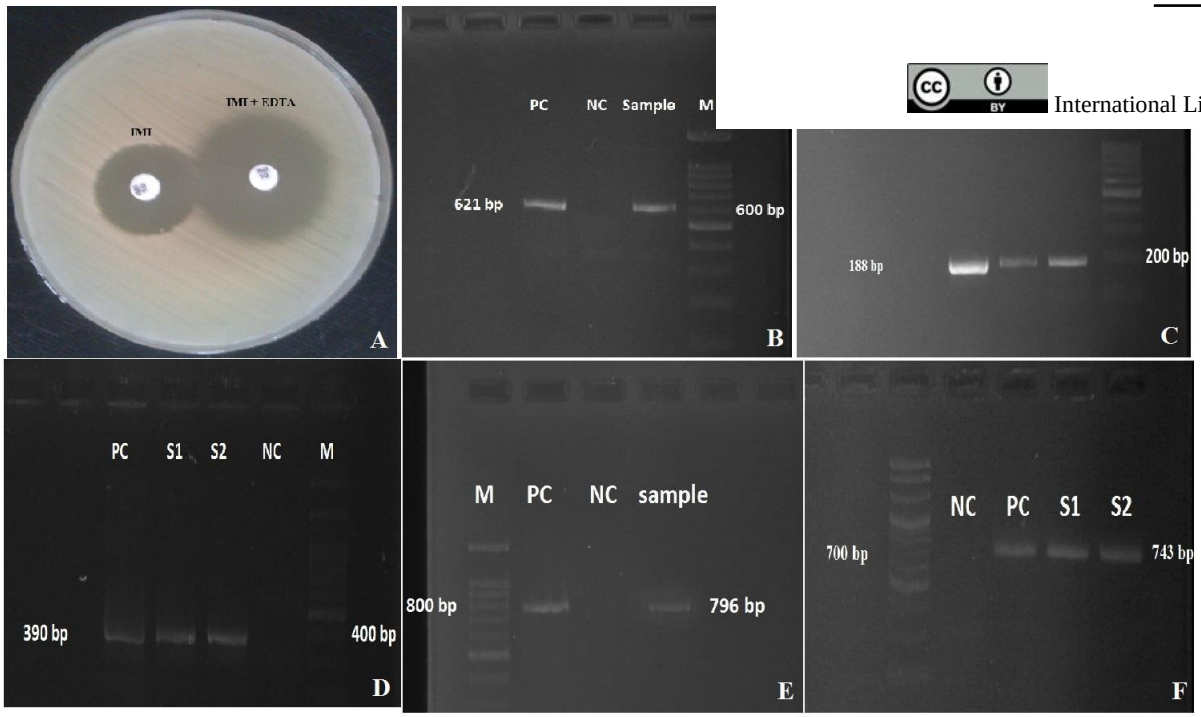
علاوه براین طبق نتایج PCR، تعداد ۶۹ ایزوله (۸۷٪/۳۴) حاوی ژن‌های *IMP*، *VIM*، *NDM*، *OXA-48* و *KPC* بود که از این تعداد ۴۶ سویه (۶۶٪/۶۶) حاوی ژن *VIM*، ۳۶ سویه (۵۲٪/۱۷) واجد ژن *OXA-48*، ۵ سویه (۷٪/۲۴) حاوی ژن *NDM*، ۶ سویه (۸٪/۶۹) واجد ژن *IMP* و ۵ سویه (۷٪/۲۴) نیز حاوی ژن *KPC* بود. همچنین ۴۴ ایزوله (۶۳٪/۷۴) حداقل یکی از ژن‌های مدنظر را داشتند؛ ۲۱ ایزوله (۳۰٪/۴۳) نیز حاوی حداقل دو ژن از بتالاکتامازهای مدنظر بود که ۲۲ ایزوله (۳۱٪/۸۸)، ژن‌های *VIM* و *OXA-48* را داشتند، ۲ ایزوله (۲٪/۸۹) حاوی سه ژن و تنها ۱ ایزوله (۱٪/۴۴) حاوی هر ۵ ژن *IMP*، *VIM*، *NDM*، *OXA-48* و *KPC* بود (شکل).

بین نتایج آزمون‌های مرسوم (دابل - دیسک سینرژیک و تست تغییریافته Hodge) و مولکولی (حضور ژن‌های مرتبط مقاوم با بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف)، ارتباط معنی‌داری وجود داشت (p=۰/۰۰۴)؛ لذا براساس این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت روش‌های DDST و MHT از دقت خوبی برخوردارند و جهت شناسایی و غربالگری ایزوله‌های ESBL می‌توان از این روش‌ها استفاده کرد.

www.SID.ir

Archive of SID

چهارم، تیر ۱۳۹۸
International License Creative Com



شکل: تصاویر مربوط به بررسی فنوتیپی و ژنوتیپی کلبسیلاپنومونیه‌های دارای ژن‌های مقاوم به کاربانپم.
***کلبسیلاپنومونیه* AO 8053 (حمل‌کننده ژن KPC) ، *سودوموناس آئروژینوزا* PO 510 (حمل‌کننده ژن IMP,VIM)، *اشرشیاکلی* MH 01 (حمل‌کننده ژن NDM)، *کلبسیلا پنومونیه* Kp 1514 (حمل‌کننده ژن OXA_{48}) به‌عنوان کنترل مثبت.**

بحث

کلبسیلا پنومونیه به‌عنوان یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌های انسانی، عامل ایجاد اغلب عفونت‌های نوزوکومیال در سراسر جهان است که با توجه به گسترش ژن‌های مقاومت و ظهور سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* Superbug، یکی از جدی‌ترین تهدیدها برای سلامتی بیماران بستری است، همچنین ردیابی و شناسایی سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* مولد ESBL، یکی از بهترین استراتژی‌ها جهت کنترل و پایش درمان به‌حساب می‌آید (۱۴،۱۵). در مطالعه حاضر، هدف شناسایی و برآورد کلی از میزان سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* مولد ESBL در بیماران شهر قم بود. همچنین در این مطالعه سعی گردید نوع ژن‌های دخیل در مقاومت ESBL نیز مشخص گردد تا به لحاظ گردش اپیدمیولوژیک سویه‌های مولد ESBL در بین بیماران بستری در شهر قم و مناطق جغرافیایی همجوار نیز اطلاعاتی کسب شود. در مطالعه حاضر، اکثر سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* مولد ESBL در نمونه‌های ادراری و کمترین میزان از مقاومت نیز در نمونه‌های استریل شامل مایع مفصلی، خونی – مغزی و پریتوئن مشاهده و گزارش شد.

McDanel و همکاران در مطالعه خود، سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* مولد ESBL در ایالات‌متحده را از نمونه‌های حاوی عفونت ادراری جدا کردند (۱۵). همچنین در مطالعه‌ای دیگر در پاکستان، فراوانی سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* مولد ESBL، ۵۸٪/۷ گزارش شد (۱۶). به‌طورکلی، در حال حاضر افزایش غیرقابل‌کنترل عفونت‌های ادراری Multi-drug resistant، به‌خصوص ESBL را در عفونت‌های ادراری شاهد هستیم که به‌منظور عدم شکست درمان، انجام تست‌های حساسیت دارویی برای نمونه‌های حاوی این عفونت‌ها ضروری است، همچنین جهت درمان مؤثر، ارائه پروتکل‌های درمانی جدید نیز موردنیاز است (۱۷). در یک مطالعه دیگر، با جداسازی تعداد فراوانی از سویه‌های مولد ESBL از نمونه‌های استریل مانند خون، مایع مغزی – نخاعی و...، مشخص گردید عفونت‌های منتشره مقاوم به درمان *کلبسیلا پنومونیه* می‌توانند منجر به مرگ بیماران شوند که امروزه این مسئله به یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های سیستم‌های بهداشت و درمان در سراسر جهان تبدیل شده است (۱۸).

www.SID.ir

Archive of SID

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم/ دوره سیزدهم، شماره چهارم، تیر ۱۳۹۸ ن میزان

International License Creative Co

اقبت‌های

ویژه شهر تگزاس ایالات‌متحده نشان دادند ۶۸٪ از ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* جداشده از نمونه‌های خون، از نوع ESBL بوده‌اند؛ همچنین در این مطالعه مشخص گردید اغلب سویه‌های این مطالعه، آنزیم CTX-M-15 تولید می‌کنند (۱۹). همچنین ژن *VIM* از شایع‌ترین ژن‌های مرتبط با ESBL و *KPC* کمترین فراوانی را در بین سویه‌های مولد ESBL داشت. یکی از ایزوله‌های این مطالعه نیز هر پنج ژن بررسی‌شده (*IMP, VIM, NDM, KPC* و *OXA-48*) را به همراه داشت که ظهور چنین ایزوله‌هایی، بستر شکل‌گیری و گسترش سویه‌های Superbug را مساعد می‌کند (۲۰).

تمامی ژن‌های مورد بررسی (*IMP, VIM, NDM, KPC* و *OXA-48*) در پژوهش حاضر، طی مطالعات پیشین داخلی نیز جداسازی و گزارش شده‌اند که این بیانگر، جریان سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* مولد ESBL در سراسر کشور است (۲۱). همچنین Jamal و همکاران در کویت نشان دادند ۷۸٪ از سویه‌های ESBL، واجد ژن *VIM* هستند (۲۲). در مطالعات پیشین نیز متالوبتالاکتامازهای *VIM* و *IMP* با فراوانی بالا در آسیا، به‌خصوص منطقه خاورمیانه، جداسازی و گزارش شده‌اند (۲۳). Ranjbarnia و همکاران در مطالعه‌ای بر روی عفونت‌های *کلبسیلا پنومونیه* مقاوم به کارباپنم‌ها در بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه، میزان فراوانی *bla-VIM* را حدود ۳۰٪ گزارش کردند (۲۴). همچنین Daikos و همکاران سویه‌های *کلبسیلاپنومونیه* مولد *bla-VIM* را از ۳۷٪ بیماران با سابقه مصرف بیش از سه کلاس مختلف آنتی‌بیوتیکی جدا کردند که نشان می‌داد ضرورت تبیین یک دستورالعمل مشخص برای مصرف و تجویز آنتی‌بیوتیک برای بیماران و استراتژی جهت کنترل انتشار سویه‌های مقاوم به دارو در بین بیماران ضروری است (۲۵). در مطالعه حاضر، همبستگی نتایج مولکولی و روش‌های فنوتایپیک DDST و MHT برای شناسایی و تشخیص سویه‌های ESBL در حد مطلوب ارزیابی شد و طبق یافته‌ها، روش‌های

DDST و MHT از روش‌های قابل‌قبول و کم‌هزینه برای غربالگری و شناسایی عفونت‌های ESBL در بیماران بود. براساس شواهد موجود، DDST به‌عنوان یکی از بهترین روش‌ها برای شناسایی متالوبتالاکتامازهای اعضای خانواده انتروباکتریاسه، با دقت و ویژگی بالا می‌تواند سویه‌های مولد متالوبتالاکتامازهای مختلف را شناسایی کند (۲۶،۲۷). تست MHT نیز ازجمله تست‌های با ارزش جهت شناسایی سویه‌های مولد کارباپنماز بوده که در ایالات‌متحده نیز از این تست به‌عنوان مارکر قابل‌اطمینان در تشخیص *KPC* استفاده می‌شود؛ اما امروزه مشخص شده است این تست برای متالوبتالاکتامازها و کارباپنمازهای گروه A و D نیز مثبت است که مثبت شدن این تست نشانگر تشخیص قطعی *KPC* نیست؛ بااین‌حال هنوز هم از این تست‌های رایج در مطالعات استفاده می‌شود (۳،۲۸).

نتیجه‌گیری

امروزه، شاهد افزایش عفونت‌های مقاوم به دارو در بین اعضای خانواده انتروباکتریاسه به‌خصوص *کلبسیلا پنومونیه* هستیم و باتوجه به اینکه عفونت‌های مقاوم به دارو موجب شکست درمان، به‌خصوص افزایش میزان مرگ‌ومیر در بیماران بخش مراقبت‌های ویژه می‌شود؛ لذا لزوم برنامه مدون برای غربالگری و گزارش سویه‌های ESBL برای ارزیابی و پایش درمان، همچنین تعیین دستورالعمل مؤثر برای درمان عفونت‌های مقاوم به درمان ضروری است. علاوه‌براین، تشخیص آزمایشگاهی و بررسی‌های اپیدمیولوژیک جریان سویه‌های مولد ESBL در هر منطقه جغرافیایی خاص موجب بهبود برنامه منطقه‌ای، درک بهتر، ردیابی و کنترل انتشار سویه‌های مولد ESBL در منطقه می‌شود.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی (به شماره ۱۵۴۹۶۱۱۲۹۰۰۱۱) می‌باشد که با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم انجام شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم/ دوره سیزدهم، شماره چهارم، تیر ۱۳۹۸

International License Creative Commons Attribution License 4.0

References.

1. Chen L, Mathema B, Chavda KD, DeLeo FR, Bonomo RA, Kreiswirth BN, et al. Carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae: molecular and genetic decoding. Trends Microbial 2014;22(12):686-96. PubMed

2. Navon-Venezia S, Kondratyeva K, Carattoli A. Klebsiellapneumoniae: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. FEMS Microbiol Rev 2017;41(3):252-75. PubMed

3. Kalantar Neyestanaki D, Mirsalehian A, Emaneini M, Jabalameli F, Fatahi-Bafghi M, Mansouri S. The importance of extended-spectrum β-lactamases in Gram-negative enteric bacilli and the phenotypic methods of detection. J Kerman Univ Med Sci 2016;23(3):380-405. [Full Text in Persian] Link

4. World Health Organization. Antimicrobial resistance: Global report on surveillance. Genova: World Health Organization; 2014. Link

5. Jin Y, Shao C, Li J, Fan H, Bai Y, Wang Y, et al. Outbreak of multidrug resistant NDM-1-producing Klebsiella pneumoniae from a neonatal unit in Shandong Province, China. PLoS One 2015;10(3):e0119571. PubMed

6. Taneja N, Kaur H. Insights into newer antimicrobial agents against Gram-negative bacteria. Microbiol Insights 2016;9:9-19. PubMed

7. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Monnet DL, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an internationalexpert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect 2011;18:268-81. PubMed

8. Ghaffarian F, Hedayati M, Sedigh Ebrahim-Saraie H, Atrkar Roushan Z, Mojtahedi A. Molecular epidemiology of ESBL-producing Klebsiella pneumoniae isolates in intensive care units of a tertiary care hospital, North Iran. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand) 2018;64(7):75-9. PubMed

9. Gupta A, Ampofo K, Rubenstein D, Saiman L. Extended spectrum β lactamase-producing Klebsiellapneumoniae infections: a review of the literature. J Perinatol 2003;23(6):439. PubMed

10. Gavin PJ, Suseno MT, Thomson RB, Gaydos JM, Pierson CL, Halstead DC, et al. Clinical correlation of the CLSI susceptibility breakpoint for piperacillin-tazobactam against extended-spectrum-β-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella species. Antimicrob Agents Chemother 2006;50(6):2244-7. PubMed

11. Wayne PA. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011. p. 100-121. (Vol 31) Link

12. Lutgring JD, Limbago BM. The problem of carbapenemase producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae detection. J Clin Microbiol 2016;54(3):529-34. PubMed

13. Chouchani C, Marrakchi R, Ferchichi L, El Salabi A, Walsh TR. VIM and IMP metallo-β-lactamases and other extended-spectrum β-lactamases in Escherichia coli and Klebsiellapneumoniae from environmental samples in a Tunisian hospital. Apmis 2011;119(10):725-32. PubMed

14. Khan HA, Baig FK, Mehboob R. Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance. Asian Pacific J Trop Biomed 2017;7(5):478-82. Link

15. McDanel J, Schweizer M, Crabb V, Nelson R, Samore M, Khader K, et al. Incidence of extended-spectrum β-lactamase (ESBL)-producing Escherichia coli and Klebsiella infections in the United States: A systematic literature review. Infect Control Hosp Epidemiol 2017;38(10):1209-15. PubMed

16. Khodadadian R, Rahdar HA, Javadi A, Safari M, Khorshidi A. Detection of VIM-1 and IMP-1 genes in Klebsiella pneumoniae and relationship with biofilm formation. Microb Pathog 2018;115:25-30. PubMed

www.SID.ir

Archive of SID

17. Bassetti M, Peghin M, Pecori D. The management of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. Curr Opin Infect Dis 2016;29(6):583-94. PubMed

18. predictors
-producing

International License Creative Commons Attribution License 4.0

19. Abodakpi H, Chang KT, Sánchez Díaz AM, Cantón R, Lasco TM, Chan K, et al. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase and carbapenemase-producing bloodstream isolates of Klebsiella pneumoniae in a tertiary care hospital. J Chemother 2018;30(2):115-9. PubMed

20. Zowawi HM, Forde BM, Alfaresi M, Alzarouni A, Farahat Y, Chong TM, et al. Stepwise evolution of pandrug-resistance in Klebsiella pneumoniae. Sci Rep 2015;5:15082. PubMed

21. Beigverdi R, Jabalameli L, Jabalameli F, Emaneini M. Prevalence of extended-spectrum-β-lactamase-producing Klebsiella pneumonia: first systematic review and meta-analysis from Iran. J Glob Antimicrob Resist 2019;pii: S2213-7165(19)30027-X. PubMed

22. Jamal W, Rotimi VO, Albert MJ, Khodakhast F, Nordmann P, Poirel L, et al. High prevalence of VIM-4 and NDM-1 metallo-β-lactamase among carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. J Med Microbiol 2013;62(8):1239-44. PubMed

23. Jean SS, Hsueh PR. High burden of antimicrobial resistance in Asia. Int J Antimicrob Agents 2011;37(4):291-5. PubMed

24. Rajabnia R, Asgharpour F, Shahandashti EF, Moulana Z. Nosocomial emerging of (VIM1) carbapenemase-producing isolates of Klebsiella pneumoniae in North of Iran. Iran J Microbiol 2015;7(2):88-93. PubMed

25. Daikos GL, Vryonis E, Psichogiou M, Tzouvelekis LS, Liatis S, Petrikkos P, et al. Risk factors for bloodstream infection with Klebsiella pneumoniae producing VIM-1 metallo-β-lactamase. J Antimicrob Chemother 2010;65(4):784-8. PubMed

26. Kalantar-Neyestanaki D, Koshesh M, Hashemizadeh Z, Mansouri S, Bahador A, Savari M, et al. The β-Lactamase disk test: A Modified method to detect extended-spectrum-β-Lactamases in Multidrug-resistant Escherichia coli isolates. Arch Clin Infec Dis 2016;12(1):e39070. Link

27. Singh RE, Raghukumar KG, Veena M, Vishwanath G, Sridhar PN, Murlimanju BV. ESBL production: Resistance pattern in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae, a study by NCCLS method. Res J Pharma Biol Chem Sci 2012;3(1):559-65. Link

28. Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V, on Carbapenemases EN, et al. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Clin Microbiol Infect 2012;18(5):432-8. PubMed

www.SID.ir