

## Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains among clinical specimens in Kashan (2014-2015)

Agha-Seyed Hosseini M<sup>1</sup>, Firoozeh F<sup>2\*</sup>, Piroozmand A<sup>2,3</sup>, Gilasi HR<sup>4</sup>

1- Student Research Committee, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

2- Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

3- Autoimmune diseases research center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

4- Social Determinants of Health (SDH) Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received May 3, 2015; Accepted May 28, 2016

### Abstract:

**Background:** Resistance among the *Enterobacteriaceae* family especially in *Klebsiella* genus as one important leading cause of nosocomial infection, is one of the most important health challenges all over the world. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing bacteria are among the most prevalent  $\beta$ -lactamases in *Klebsiella* strains. Our aim was to study KPC-producing *Klebsiella* strains in clinical samples in Kashan.

**Materials and Methods:** In this cross-sectional study *Klebsiella* isolates (n=181) were recovered from clinical samples during September to July 2015. After identification of *Klebsiella* isolates by biochemical tests, the susceptibility pattern of recovered *Klebsiella* from clinical isolates to 17 antibiotics were studied by disk diffusion method. Using PCR assay *bla*<sub>KPC</sub> gene in *Klebsiella* isolates were studied. Statistical analyses of data were performed by Chi square test and ( $P<0.05$ ) was considered statistically significant.

**Results:** Forty eight out of 181 *Klebsiella* samples were multidrug resistant and the most resistant was seen to Ampicillin and Cephalotin. Among the *Klebsiella* isolates, 21(11.6%) carried *bla*<sub>KPC</sub> gene which most of them were recovered in ICU ward from urinary and respiratory specimens.

**Conclusions:** Our study showed that in *Klebsiella* strains isolated from patients, especially hospitalized patients in Kashan, resistance to carbapenems is seen with presence of *bla*<sub>KPC</sub> gene. Due to the ability of gene to spread by mobile genetic elements the finding is alarming in treatment of *Klebsiella* infections.

**Keywords:** *Klebsiella*, Multi-drug resistance, *bla*<sub>KPC</sub>, Carbapenemases

\* Corresponding Author.

Email: ffiroozeh@ut.ac.ir

Tel: 0098 315 554 0021

Fax: 0098 315 554 1112

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, August, 2016; Vol. 20, No 3, Pages 267-273

Please cite this article as: Agha-Seyed Hosseini M, Firoozeh F, Piroozmand A, Gilasi HR. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains among clinical specimens in Kashan (2014-2015). Feyz 2016; 20(3): 267-73.

# بررسی سویه‌های کلبسیلا پنومونیه تولید کننده کلبسیلا پنومونیه کارباینماز (KPC) در نمونه‌های بالینی در شهر کاشان طی سال‌های ۱۳۹۳ تا ۱۳۹۴

مهدی آقاسیدحسینی<sup>۱</sup>، فرزانه فیروزه<sup>۲\*</sup>، احمد پیروزمند<sup>۳</sup>، حمیدرضا گیلانی<sup>۴</sup>،  
۵

## خلاصه:

سابقه و هدف: آنزیم‌های کارباینماز نوع KPC یکی از شایع‌ترین آنزیم‌های بتالاکتاماز در میان سویه‌های کلبسیلا می‌باشند. هدف از این مطالعه بررسی سویه‌های کلبسیلا پنومونیه تولید کننده کارباینماز KPC در نمونه‌های بالینی در کاشان می‌باشد. مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی تعداد ۱۸۱ نمونه کلبسیلا از نمونه‌های بالینی در طی شهریور ۹۳ تا تیر ۹۴ جداسازی گردید. پس از تعیین هویت کلبسیلاها توسط تست‌های بیوشیمیایی، تعیین حساسیت ۱۸۱ کلبسیلا جدا شده از نمونه بالینی به ۱۷ آنتی‌بیوتیک به روش دیسک دیفیوژن انجام شد. با استفاده از روش PCR بررسی ژن *bla*<sub>KPC</sub> در سویه‌های کلبسیلا انجام گرفت. نتایج: در این بررسی از ۱۸۱ سویه کلبسیلا ۴۸ نمونه دارای مقاومت چندگانه بوده و بیشترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و سفالوتین مشاهده شد. از میان جدایه‌های کلبسیلا، ۲۱ نمونه (۱۱/۶ درصد) حامل ژن *bla*<sub>KPC</sub> بودند که اغلب این نمونه‌ها اداری و تنفسی و مربوط به بیماران بستری در بخش ICU بودند. نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در سویه‌های کلبسیلا جدا شده از بیماران به‌ویژه بیماران بستری در بیمارستان در کاشان، مقاومت به کارباینمازها همراه با بروز ژن *bla*<sub>KPC</sub> وجود دارد. از آنجا که ژن حاضر می‌تواند از طریق عناصر متحرک ژنتیکی در میان باکتری‌ها گسترش یابد، زنگ خطر جدی در درمان عفونت‌های ناشی از کلبسیلا محسوب می‌گردد. واژگان کلیدی: کلبسیلا، مقاومت چند دارویی، *bla*<sub>KPC</sub> کارباینمازها

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیستم، شماره ۳، مرداد و شهریور ۱۳۹۵، صفحات ۲۷۳-۲۶۷

## مقدمه

آنها عامل طیف وسیعی از عفونت‌ها شامل سپتی‌سمی، پنومونی، عفونت مجاری ادراری، مننژیت و آبسه چرکی در اندام‌های مختلف به‌خصوص آبسه کبدی هستند [۵،۴]. آنچه در مورد این باکتری‌ها بیشتر جلب توجه می‌کند، مقاومت بالای آنها به آنتی-بیوتیک‌های مختلف و گسترش سریع آنها در بخش‌های مختلف بیمارستانی می‌باشد که سبب سپتی‌سمی و مرگ‌ومیر بالایی می‌گردند [۷،۶]. آنتی‌بیوتیک‌های مختلفی جهت درمان عفونت‌های این باکتری مورد استفاده قرار می‌گیرند، ولی کارباینمازها مثل امپی‌نم و مروپنم درمان انتخابی عفونت‌های پیش‌رونده ناشی از باکتری‌های گرم منفی مقاوم به فلوروکینولون‌ها و بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف می‌باشند [۹،۸]. مقاومت به کارباینمازها در انتروباکتریاسه در نقاط مختلف جهان گزارش شده است. و نتایج مطالعات در کشورهایمانند یونان، فرانسه، نروژ، سوئد و انگلستان شیوعی بالای ۱۰/۸ درصد را در میان سویه‌های کلبسیلا جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی نشان می‌دهد [۱۰]. کارباینمازها از مهم‌ترین آنزیم‌هایی هستند که در ایجاد مقاومت دخیل‌اند و در کلاس‌های مختلف A و B دسته‌بندی می‌شوند. بتالاکتام‌های کلاس A با فعالیت ضد کارباینمی در بین خانواده انتروباکتریاسه تهدید جدی در امر درمان عفونت‌های جدی و مقاوم ناشی از این باکتری‌ها می‌باشند. کارباینمازهای کلاس A به‌لحاظ فیلوژنیک به ۶ گروه مختلف تفکیک می‌شوند که ۴ گروه آن توسط آنزیم‌های GES، KPC،

مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها جزء مهم‌ترین خطرات تهدیدکننده بهداشت جهانی توسط سازمان بهداشت جهانی معرفی شده است که درصد فراوانی از مرگ‌ومیرهای سالانه عفونت‌های بیمارستانی را به‌خود اختصاص می‌دهد [۱]. از این میان، باکتری‌های موجود در خانواده انتروباکتریاسه با توجه به فراوانی بسیار بالای آنها در جوامع مختلف دارای اهمیت بیشتری می‌باشند [۲]. کلبسیلاها باسیل‌های گرم منفی متعلق به خانواده بزرگ انتروباکتر-یاسیه هستند [۳].

۱ دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۲ استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان  
۳ دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های اتوایمیون، دانشگاه علوم پزشکی کاشان  
۴ دانشیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۵ استادیار، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی موثر بر سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

## \* نشانی نویسنده مسئول:

دانشگاه علوم پزشکی کاشان، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی و ایمنی-شناسی

تلفن: ۰۳۱۵۵۵۴۰۰۲۱

دورنویس: ۰۳۱ ۵۵۵۴۱۱۱۲

پست الکترونیک: ffiroozeh@ut.ac.ir

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۵/۳/۸

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۱۳

انجام شد. از سویه استاندارد/شریشیا کولای ATCC25922 به- عنوان سویه کنترل استفاده شد [۱۴]. آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی خریداری شده از شرکت Mast Diagnostics, Mast group (Ltd. Merseyside, UK) شامل سفنازیدیم ( $30 \mu\text{g}$ )، سفتریاکسون ( $30 \mu\text{g}$ )، سفالوتین ( $30 \mu\text{g}$ )، ایمی‌پنم ( $10 \mu\text{g}$ )، مروپنم ( $10 \mu\text{g}$ )، نالیدیسیک اسید ( $30 \mu\text{g}$ )، تری‌متوپریم، سولفامتوکسازول ( $30 \mu\text{g}$ )، دوری‌پنم ( $10 \mu\text{g}$ )، جنتامایسین ( $10 \mu\text{g}$ )، آزترونام ( $30 \mu\text{g}$ )، سپیر-وفلوکساسین ( $5 \mu\text{g}$ )، سفوکسیتین ( $30 \mu\text{g}$ )، کوآموکسی‌کلاو ( $30 \mu\text{g}$ )، پیراسیلین، تازوباکتام ( $10/10 \mu\text{g}$ )، ارتاپنم ( $10 \mu\text{g}$ )، آمپی‌سیلین ( $30 \mu\text{g}$ )، سفوتاکسیم ( $30 \mu\text{g}$ ) بودند. نتایج بر اساس استاندارد CLSI به صورت سویه‌های مقاوم، بینابینی و حساس گزارش گردید.

#### تکثیر ژن $bla_{KPC}$

جهت بررسی سویه‌های کلبسیلا تولید کننده کاربا- پنماز KPC به روش PCR، ابتدا DNA سویه‌های کلبسیلا به روش جوشاندن استخراج گردید. جهت بررسی ژن  $bla_{KPC}$  از پرایمرهای اختصاصی شامل: پرایمر KPC forward به عنوان پرایمر رفت با توالی CTGAACTCCGCCATCCCAAG و پرایمر KPC reverse به عنوان پرایمر برگشت با توالی AGGCGCCCGGGTGTAGAC استفاده شد. واکنش PCR در حجم نهایی  $25 \mu\text{L}$  در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf master cycler®, MA) مطابق برنامه دمایی در جدول شماره ۱ انجام پذیرفت. محصول PCR بر روی ژل آگاروز  $1/5$  درصد الکتروفورز گردید. سپس، با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شده و با دستگاه trans illuminator (Biorad, UK) تحت UV، نتایج قرائت شده و با ladder 100 bp نتایج مقایسه و تفسیر شدند. ژنوم استخراج شده سویه رفرانس کلبسیلا پنومونیه ATCC BAA-1705 به عنوان کنترل مثبت و کلبسیلا پنومونیه ATCC BAA-1706 به عنوان کنترل منفی در واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفت. چند نمونه از محصولات PCR جهت تعیین توالی و مقایسه با ژن‌های  $bla_{KPC}$  ثبت شده در بانک اطلاعاتی Gen-Bank به شرکت (Macrogen Research, Seoul, Korea) ارسال گردید و نتایج با <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>-BLAST/مقایسه گردید.

#### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ انجام یافت. مقایسه آماری بین گروه‌ها با استفاده از

SME، و IMI/NMC شکل می‌گیرند، درحالی که SFC و SHV- 38 هرکدام به طور جداگانه‌ای یک گروه را تشکیل می‌دهند. ژن‌های کدکننده کارباپنمازهای کلاس A می‌توانند هم روی کروموزوم و هم روی پلاسمید قرار گرفته باشند [۱۱]. در بین بسیاری از اعضای خانواده انتروباکتریاسیه، جنس کلبسیلا حاوی  $bla_{KPC}$  به- علت مقاومت بالای آنتی‌بیوتیکی به آنتی‌بیوتیک‌های معمول و انتقال پلاسمیدی این ژن‌ها به گونه‌ها و جنس‌های دیگر انتروباکتریاسیه در سال‌های اخیر مسئول طغیان‌های عفونت بیمارستانی زیادی در دنیا بوده‌اند؛ به طوری که امروزه جداسازی و شناسایی سویه‌های دارای  $bla_{KPC}$  چالشی واقعی برای آزمایشگاه‌های تشخیصی هستند [۱۳، ۱۲]. از آنجایی که کارباپنمازها آخرین حربه درمانی در درمان عفونت‌های بیمارستانی ناشی از باکتری‌های گرم منفی مقاوم به سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف می‌باشند و تاکنون درمان جایگزین مناسبی به جای آنها یافت نشده است، مطالعه الگوی ژن‌های ایجاد کننده مقاومت به کارباپنمازها به‌ویژه در میان باکتری‌های ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی ضروری است و در این رابطه مطالعات مختلف در نقاط مختلف جهان در بررسی سویه‌های کلبسیلا تولید کننده کارباپنماز KPC انجام پذیرفته است. با توجه به اطلاعات محدودی که در مورد سویه‌های کلبسیلا تولید کننده KPC در منطقه ما وجود دارد، این مطالعه به منظور بررسی سویه‌های کلبسیلا تولید کننده کارباپنماز KPC در نمونه‌های بالینی در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان شهید بهشتی کاشان انجام گرفت.

#### مواد و روش‌ها

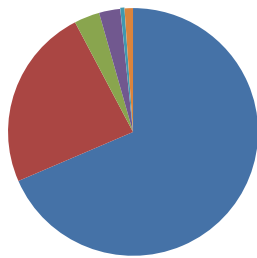
مطالعه حاضر یک مطالعه مقطعی می‌باشد. در این مطالعه تعداد ۱۸۱ نمونه کلبسیلا از نمونه‌های بالینی شامل: ادرار، خون، مایع مغزی-نخاعی، زخم، خلط، مایع صفاق، ترشحات چشم و آبسه داخل شکمی بیماران بستری و سرپایی در بیمارستان شهید بهشتی کاشان طی شهریور ۹۳ تا تیر ۹۴ جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در آزمایشگاه گروه میکروبی شناسی دانشکده پزشکی توسط روش‌های متداول بیوشیمیایی و میکروسکوپی شناسایی و تایید شدند. جهت شناسایی سویه‌های کلبسیلا از کشت روی محیط‌های مکانیکی آگار، رنگ‌آمیزی گرم، تست‌های بیوشیمیایی نظیر ایندول، متیل رد، وژس پروسکائر، سیترات، اوره و حرکت استفاده گردید.

#### پروفایل آنتی‌بیوتیکی

حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن بر روی محیط مولر هیتون آگار با توجه به دستورالعمل CLSI

آزمون‌های مجذور کای بررسی شد و  $P$  کمتر از  $0/05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

در سویه‌های کلبسیلا مقاوم به ایمنی‌پنم رابطه معنی‌داری وجود ندارد (جدول شماره ۳).



کاتتر SCF خون زخم تنفسی ادرار

نمودار شماره ۱- توزیع فراوانی ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از نمونه‌های بالینی بیماران مورد بررسی جهت PCR ژن  $bla_{KPC}$

جدول شماره ۲- پروفایل آنتی‌بیوتیکی سویه‌های کلبسیلا جدا شده از نمونه‌های بالینی بیماران مراجعه کننده به بیمارستان شهید بهشتی کاشان

نام آنتی‌بیوتیک	مقاوم تعداد(درصد)	حدواسط تعداد(درصد)	حساس تعداد(درصد)
ایمنی‌پنم	۳۶(۱۹/۹)	۱۵(۸/۳)	۱۳۰(۷۱/۸)
دوری‌پنم	۱۳(۷/۲)	۱۲(۶/۶)	۱۵۶(۸۶/۲)
ارتاپنم	۱۰(۵/۶)	۱۹(۱۰/۵)	۱۵۲(۸۳/۹)
مروپنم	۳۷(۲۰/۴)	۱۶(۸/۹)	۱۲۸(۷۰/۷)
سفوکسیتین	۴۶(۲۵/۴)	۱۴(۷/۸)	۱۲۱(۶۶/۸)
سفتراکسون	۹۷(۵۳/۶)	۲(۱/۱)	۸۲(۴۵/۳)
سفتازیدیم	۹۱(۵۰/۳)	۱۰(۵/۵)	۸۰(۴۴/۲)
سفالوتین	۱۱۲(۶۱/۹)	۶(۳/۳)	۶۳(۳۴/۸)
آگمنتین	۹۲(۵۰/۸)	۲۶(۱۴/۴)	۶۳(۳۴/۸)
سفتوناکسیم	۱۰۲(۵۶/۳)	۸(۴/۵)	۷۱(۳۹/۲)
آمپی‌سیلین	۱۷۳(۹۵/۵)	۳(۱/۷)	۵(۲/۸)
پیراسیلین/ تازوباکتام	۸۹(۴۹/۱)	۵(۲/۸)	۸۷(۴۸/۱)
سیپروفلوکساسین	۷۳(۴۰/۳)	۲(۱/۱)	۱۰۶(۵۸/۶)
جنتامیسین	۵۴(۲۹/۸)	۵(۲/۸)	۱۲۲(۶۷/۴)
نالدیکسیک اسید	۸۶(۴۷/۵)	۳۴(۱۸/۸)	۶۱(۳۳/۷)
تری‌متوپریم سولفومتوکسازول	۵۲(۲۸/۷)	۲۵(۱۳/۸)	۱۰۴(۵۷/۵)
آزترونام	۷۷(۴۲/۵)	۱۱(۶/۱)	۹۳(۵۱/۴)

## بحث

کلبسیلا حاوی ژن  $bla_{KPC}$  به علت مقاومت بالای آنتی-بیوتیکی به درمان‌های معمول و انتقال پلاسمیدی این ژن‌ها به گونه‌ها و جنس‌های دیگر انتروباکتریاسیه در سال‌های اخیر مسئول طغیان‌های عفونت بیمارستانی زیادی در دنیا بوده‌اند، به طوری که

جدول شماره ۱- برنامه دمایی واکنش PCR

مرحله PCR	درجه سانتی‌گراد	زمان
واششت اولیه	۹۵	۴ دقیقه
۳۵ چرخه دمایی شامل:		
واششت	۹۵	۳۰ ثانیه
اتصال آغازگر	۵۸	۳۰ ثانیه
طولیل شدن	۷۲	۴۰ ثانیه
طولیل شدن نهایی	۷۲	۵ دقیقه

## نتایج

در این تحقیق ۱۸۱ نمونه کلبسیلا تعیین هویت شدند. بیشترین نمونه‌ها را ادرار: ۱۲۴ مورد (۶۸/۵ درصد) و نمونه تنفسی: ۴۳ مورد (۲۳/۷ درصد) به خود اختصاص دادند، درحالی-که کاتتر با ۲ مورد (۱/۱ درصد) و CSF با ۱ مورد (۰/۵ درصد) کمترین میزان را در این میان دارا بودند (نمودار شماره ۱). در بررسی انجام شده از ۱۸۱ نمونه کلبسیلا ایزوله شده، ۱۴۶ مورد (۸۰/۶ درصد) مربوط به عفونت بیمارستانی (بیماران بستری) و ۳۵ مورد (۱۹/۴ درصد) مربوط به بیماران سرپایی بودند. بیشترین بیمارانی که به عفونت کلبسیلایی مبتلا بودند، در بخش ICU با ۳۶ مورد (۱۹/۸ درصد) و کمترین بیماران در بخش CCU با ۶ مورد (۳ درصد) بود. میزان مقاومت به ایمنی‌پنم در بین ایزوله‌های کلبسیلا حدود ۴۸ مورد (۲۶/۵ درصد) بود (جدول شماره ۲). از میان ۱۷ آنتی‌بیوتیک مورد بررسی، ایزوله‌های کلبسیلا به آمپی-سیلین، سفالوتین، سفتوناکسیم بیشترین مقاومت را نشان دادند و به ارتاپنم و دوری‌پنم کمترین مقاومت را نشان دادند (جدول شماره ۲). هم‌چنین، هیچ‌یک از سویه‌های کلبسیلا مورد بررسی به تمامی ۱۷ آنتی‌بیوتیک تحت مطالعه مقاومت نشان ندادند. نتایج PCR برای شناسایی ژن کارباپنماز  $bla_{KPC}$  در ۱۸۱ ایزوله کلبسیلا نشان داد ۲۱ مورد (۱۱/۶ درصد) از نمونه‌ها از نظر وجود ژن  $bla_{KPC}$  مثبت بودند. هم‌چنین، ۱۰ مورد از نمونه‌های حامل  $bla_{KPC}$  در ادرار، ۸ مورد تنفسی، ۲ مورد زخم و یک مورد کاتتر بود و مابغ مغزی-نخاعی حاوی  $bla_{KPC}$  نبود. بررسی نشان داد که ۱۹ مورد کلبسیلای حاوی  $bla_{KPC}$  از بیماران بستری و ۲ مورد بیمار سرپایی بودند (جدول شماره ۳). بررسی‌های آماری نشان داد میان حضور ژن  $bla_{KPC}$  و جنس، سن، نوع نمونه و نوع مراجعه بیماران

مهر و همکارانش که در سال ۸۹ در تهران در بخش ICU بیمارستان‌های خانواده و گلستان روی نمونه‌های بالینی (ادرار، زخم، کشت خون، نمونه تنفسی) انجام شد، تقریباً یکسان بوده ولی در مورد آنتی‌بیوتیک‌های سفنازیدیم و سیپروفلوکساسین کمتر است [۱۹] که این مسئله می‌تواند ناشی از تفاوت الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی این سویه‌ها در مناطق جغرافیایی مختلف باشد. درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های کلبسیلا در این مطالعه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفنازیدیم، کوتریموکسازول، جنتامایسین، ایم-پنم و سیپروفلوکساسین در مطالعه حاضر در مقایسه با مطالعه لنگری‌زاده و همکاران در سال ۸۹ که در تبریز روی نمونه‌های ادراری کودکان و بزرگسالان که مبتلا به عفونت ادراری بودند انجام شده، کمتر بوده است [۲۰]. در مطالعه حاضر بررسی شیوع ژن‌های مقاومت به کارباپنم‌ها در میان جدایه‌های کلبسیلا نشان داد ۲۱ مورد حامل ژن *bla*<sub>KPC</sub> بودند که در مطالعه‌ای که در سال ۹۲ در شهرکرد توسط هاشمی زاده و همکاران انجام شده بود، قابل قیاس بوده و در آن مطالعه از ۱۸۰ مورد ایزوله کلبسیلا ۲۲ مورد (۱۱/۹ درصد) از ایزوله‌ها دارای ژن *bla*<sub>KPC</sub> بودند [۱۷]. هم‌چنین، در مطالعه دیگر که در سال ۹۲ توسط شکری و همکاران در شهر اصفهان انجام شد، از ۴۷۵ ایزوله اتروباکتریاسیه ۷۵ نمونه کلبسیلا بودند و ۶۵ سویه از نظر تولید آنزیم کارباپنماز یا KPC مثبت بودند [۱۸]. در مقایسه مطالعه حاضر با مطالعه Bratu و همکاران [۲۱] برخلاف مطالعه ما ۲۴ درصد سویه‌های کلبسیلا واجد این ژن بودند، هم‌چنین میزان جداسازی سویه‌های کلبسیلا واجد ژن *bla*<sub>KPC</sub> در این مطالعه خیلی کمتر از مطالعه Castanheira و همکاران [۲۲] که در آمریکای شمالی، آمریکای جنوبی و اروپا انجام شد و مطالعه Chen و همکاران [۲۳] که در چین می‌باشد که میزان جداسازی سویه‌های کلبسیلا واجد ژن *bla*<sub>KPC</sub> به ترتیب ۵۱ و ۷۳/۵ درصد گزارش نمودند؛ این تفاوت چشم‌گیر می‌تواند به دلیل وجود سایر آنزیم‌های ایجاد کننده مقاومت به کارباپنم‌ها مانند آنزیم‌های GES، KPC، SME، و IMI/NMC در منطقه ما باشد. مطالعات آینده بر روی سایر ژن‌های ایجاد کننده مقاومت به کارباپنم‌ها می‌تواند در درک الگوی مقاومت سویه‌های کلبسیلا جدا شده از نمونه‌های بالینی در منطقه کاشان سودمند باشد.

#### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که مقاومت نسبتاً بالایی به آنتی‌بیوتیک‌هایی که درمان انتخابی عفونت‌های ناشی از کلبسیلاهای دارای مقاومت چندگانه می‌باشند، به‌ویژه گروه کارباپنم‌ها در منطقه ما وجود دارد. بنابراین کنترل مصرف

امروزه جداسازی و شناسایی سویه‌های دارای ژن *bla*<sub>KPC</sub> چالشی واقعی در بهداشت و درمان محسوب می‌گردد [۱۶، ۱۵].

جدول شماره ۳- رابطه میان حضور ژن *bla*<sub>KPC</sub> و جنس، سن، نوع نمونه و نوع مراجعه بیماران در سویه‌های کلبسیلا مقاوم به ایم-پنم در

مطالعه حاضر

فاکتورهای موثر	ژن <i>bla</i> <sub>KPC</sub> منفی تعداد (درصد)	ژن <i>bla</i> <sub>KPC</sub> مثبت تعداد (درصد)	<i>p</i>
جنس			
مرد	۱۱ (۲۲/۹)	۱۱ (۲۲/۹)	۰/۵۶
زن	۱۶ (۳۳/۳)	۱۰ (۲۰/۸)	
سن			
≥ ۵۰	۱۱ (۲۲/۹)	۹ (۱۸/۷۵)	۰/۹۹
< ۵۰	۱۶ (۳۳/۳)	۱۲ (۲۵)	
نوع مراجعه			
بستری	۲۵ (۵۲/۱)	۱۹ (۳۹/۵)	۱
سرپایی	۲ (۴/۲)	۲ (۴/۲)	
نوع نمونه			
ادرار	۱۱ (۲۲/۹)	۱۰ (۲۰/۸)	۰/۸۹
تنفسی	۱۲ (۲۵)	۸ (۱۶/۶)	
زخم	۲ (۴/۲)	۲ (۴/۲)	
سایر*	۲ (۴/۲)	۱ (۲/۱)	

\* سایر: شامل ۱ نمونه (۲/۱ درصد) جدا شده از مایع مغزی نخاعی منفی از نظر ژن *bla*<sub>KPC</sub> و ۲ نمونه جدا شده از کاتتر شامل: ۱ نمونه (۲/۱ درصد) مثبت از نظر ژن *bla*<sub>KPC</sub> و ۱ نمونه (۲/۱ درصد) منفی از نظر ژن *bla*<sub>KPC</sub>

این مطالعه در کاشان و با هدف تعیین الگوی مقاومت دارویی و بررسی وجود ژن *bla*<sub>KPC</sub> در سویه‌های کلبسیلا با روش مولکولی PCR انجام گردید. در بررسی شیوع مقاومت به کارباپنم‌ها در مطالعه حاضر آنتی‌بیوتیک‌های ایم-پنم، دوری‌پنم، ارتاپنم و مروپنم از لحاظ حساسیت آنتی‌بیوتیکی مورد بررسی قرار گرفتند و مشاهده گردید، بیشترین مقاومت به این دسته آنتی-بیوتیک‌ها در ایم-پنم و مروپنم بود که در مورد ایم-پنم ۱۹/۹ درصد مقاوم و ۸/۳ درصد نیمه‌حساس و در مورد مروپنم ۲۰/۴ درصد مقاوم و ۸/۹ درصد نیمه‌حساس بودند که بسیار نزدیک بهم بودند و در مقایسه با مطالعه هاشمی‌زاده و همکاران که مقاومت ۴۶ و ۴۱ درصدی را به ترتیب نسبت به ایم-پنم و مروپنم گزارش نموده‌اند [۱۷]، مقاومت نسبتاً پایین‌تری در این مطالعه مشاهده می‌گردد. مقاومت به آنتی‌بیوتیک سفنوتاکسیم در این مطالعه دارای درصد مقاومت کمتری نسبت به مطالعه هاشمی‌زاده و همکاران و هم‌چنین مطالعه شکری و همکاران [۱۸] بود. در مقایسه مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های کلبسیلا در این تحقیق نسبت به آنتی-بیوتیک‌های جنتامایسین و کوتریموکسازول با نتایج مطالعه محمدی

اورژانس با اهمیت پزشکی محسوب می‌گردد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد میکروبی‌شناسی (شماره طرح: ۹۲۱۷۶) می‌باشد. نویسندگان از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان و کلیه عزیزانی که در انجام این پژوهش همکاری داشته‌اند، قدردانی به‌عمل می‌آورند.

### References:

- [1] Guzmán-Blanco M, Labarca JA, Villegas MV, Gotuzzo E. Extended spectrum  $\beta$ -lactamase producers among nosocomial Enterobacteriaceae in Latin America. *Braz J Infect Dis* 2014; 18(4): 421-33.
- [2] Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis* 2008; 8(3): 159-66.
- [3] Falade AG, Ayede AI. Epidemiology, etiology and management of childhood acute community-acquired pneumonia in developing countries--a review. *Afr J Med Med Sci* 2011; 40(4): 293-308.
- [4] Livermore DM. Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens. *Korean J Intern Med* 2012; 27(2): 128-42.
- [5] Lu PL, Liu YC, Toh HS, Lee YL, Liu YM, Ho CM, et al. Epidemiology and antimicrobial susceptibility profiles of gram-negative bacteria causing urinary tract infections in the Asia-Pacific region: 2009-2010 results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *Int J Antimicrob Agents* 2012; 40 Suppl: S37-43.
- [6] Chen LF, Chopra T, Kaye KS. Pathogens resistant to antibacterial agents. *Infect Dis Clin North Am* 2009; 23(4): 817-45.
- [7] Hirsch EB, Tam VH. Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(6): 1119-25.
- [8] Gootz TD. The global problem of antibiotic resistance. *Crit Rev Immunol* 2010; 30(1): 79-93.
- [9] Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM. Metallo- $\beta$ -lactamases: a last frontier for  $\beta$ -lactams?. *Lancet Infect Dis* 2011; 11(5): 381-93.
- [10] Walther-Rasmussen J, Høiby N. Class A carbapenemases. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60(3): 470-82.
- [11] Medeiros AA. Evolution and dissemination of  $\beta$ -lactamases accelerated by generations of  $\beta$ -lactam antibiotics. *Clin Infect Dis* 1997; 24 (Suppl 1): S19-45.
- [12] da Silva RM, Traebert J, Galato D. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) producing *Klebsiella pneumoniae*: a review of epidemiological and clinical aspects. *Expert Opin Biol Ther* 2012; 12(6): 663-71.
- [13] Green VL, Verma A, Owens RJ, Phillips SE, Carr SB. Structure of New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase 1 (NDM-1). *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun* 2011; 67(Pt 10): 1160-4.
- [14] Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Wayne PA, USA 2012. 21<sup>th</sup> informational supplement, M100-S22.
- [15] Cuzon G, Naas T, Nordmann P. KPC carbapenemases: what is at stake in clinical microbiology?. *Pathol Biol (Paris)* 2010; 58(1): 39-45.
- [16] Hussein K, Sprecher H, Mashlach T, Oren I, Kassis I, Finkelstein R. Carbapenem resistance among *Klebsiella pneumoniae* isolates: risk factors, molecular characteristics, and susceptibility patterns. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009; 30(7): 666-71.
- [17] Hashemizadeh F, Zamanzad B, Jahandideh S, Ansari N, Gholipour A, Hashemizadeh F, et al. Identification of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in clinical samples in Iran. *Yafteh* 2013; 15(1): 105-14.
- [18] Shokri D, Mobasheri Zadeh S, Norouzi Baruq M, Yaran M. Isolation and identification of carbapenemase KPC producing strains of *Enterobacteriaceae* and determination of their antibiotic susceptibility patterns. *J Isfahan Med Sci* 2013; 31(248): 1247-56.
- [19] Mohammadimehr M, Feizabadi M, Bahadori A. Antibiotic resistance pattern of gram negative bacilli caused nosocomial infections in ICUs in khanevadeh and golestan hospital in Tehran-2007. *Ann Mil Health Sci Res* 2011; 8(4): 283-90.
- [20] Langarizadeh N, Ahangarizadeh Rezaee M, Aghazadeh M, Hasani A. Prevalence of multi-drug resistant (MDR) *Klebsiella pneumoniae* among children and adults with urinary tract infection

آنتی‌بیوتیک‌های دارای اهمیت مانند کارباپنم‌ها در بیمارستان‌ها نقش مهمی در جلوگیری از ظهور این گونه سوش‌ها و عفونت ناشی از آن دارد. همچنین، با توجه به این که سویه‌های کلبسیلا دارای ژن  $bla_{KPC}$  از جمعیت میکروبی شهر کاشان جداسازی شده و در بسیاری موارد این سویه‌ها، به اغلب آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت دارند، همچنین، به دلیل پتانسیل انتقال پلاسمیدی و سریع این ژن‌ها بین اعضای خانواده انتروباکتریاسیه، و مشکلات درمان عفونت با این میکروارگانیسم‌ها و مرگومیر بالای ناشی از این بیماران، تشخیص سریع این میکروارگانیسم‌ها و کنترل انتشار آنها یک

referred to Tabriz teaching hospitals. *Quarterly J Biol Sci* 2011; 1(4): 9-17.

[21] Bratu S, Tolaney P, Karumudi U, Quale J, Mooty M, Nichani S, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY: molecular epidemiology and in vitro activity of polymyxin B and other agents. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56(1): 128-32.

[22] Castanheira M, Sader HS, Deshpande LM, Fritsche TR, Jones RN. Antimicrobial activities of tigecycline and other broad-spectrum antimicrobials

tested against serine carbapenemase and metallo-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52(2): 570-3.

[23] Chen S, Hu F, Xu X, Liu Y, Wu W, Zhu D. High prevalence of KPC-2-Type carbapenemase coupled with CTX-M-type extended-spectrum  $\beta$ -Lactamases in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a teaching hospital in China. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55(5): 2493-4.