Original Article

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

Agha-Seyed Hosseini M[1], Firoozeh F[2*], Piroozmand A[2,3], Gilasi HR[4]

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 β-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_{KPC} 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_{KPC} 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_{KPC} 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, $bla_{KPC,}$ 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.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-09-03]

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

مهدی آقاسیدحسینی [۱]، فرزانه فیروزه [۲*]، احمد پیروزمند [۳و۴]، حمیدرضا گیلاسی [۵]

خلاصه:

سابقه و هدف: آنزیم‌های کارباپنماز نوع KPC یکی از شایع‌ترین آنزیم‌های بتالاکتاماز در میان سویه‌های *کلبسیلا* می‌باشند. هدف از این مطالعه بررسی سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* تولید کننده کارباپنماز 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 *کلبسیلا*ها 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_{KPC} 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_{KPC} بودند که اغلب این نمونه‌ها ادراری 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 کارباپنم‌ها همراه با بروز ژن bla_{KPC} وجود دارد. ازآنجاکه 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_{KPC}، کارباپنمازها

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

مقدمه

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 انتروباکتریاسیه با توجه به فراوانی بسیار بالای آنها در جوامع مختلف دارای اهمیت بیشتری می‌باشند [۲]. *کلبسیلاها* باسیل‌های گرم منفی متعلق به خانواده بزرگ انتروباکتریاسیه هستند [۳].

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 آنتی‌بیوتیک‌های 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 کارباپنم‌ها مثل ایمی‌پنم و مروپنم درمان انتخابی عفونت‌های پیش‌رونده ناشی از باکتری‌های گرم منفی مقاوم به فلوروکینولون‌ها و بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف می‌باشند [۹،۸]. مقاومت به کارباپنم‌ها در انتروباکتریاسیه در نقاط مختلف جهان گزارش شده است. و نتایج مطالعات در کشورهایی مانند یونان، فرانسه، نروژ، سوئد و انگلستان شیوعی بالای ۱۰/۸ درصد را در میان سویه‌های *کلبسیلا* جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی نشان می‌دهد [۱۰]. کارباپنمازها از مهم‌ترین آنزیم‌هایی هستند که در ایجاد مقاومت دخیل‌اند و در کلاس‌های مختلف A و B دسته‌بندی می‌شوند. بتالاکتامازهای کلاس A با فعالیت ضد کارباپنمی در بین خانواده انتروباکتریاسیه تهدید جدی در امر درمان عفونت‌های جدی و مقاوم ناشی از این باکتری‌ها می‌باشند. کارباپنمازهای کلاس A به‌لحاظ فیلوژنیک به ۶ گروه مختلف تفکیک می‌شوند که ۴ گروه آن توسط آنزیم‌های GES، KPC،

[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 ایمنی‌شناسی

تلفن: ۰۳۱۵۵۵۴۰۰۲۱ **دورنویس:** ۰۳۱ ۵۵۵۴۱۱۱۲

پست الکترونیک: ffiroozeh@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۱۳ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۵/۳/۸

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-09-03]

SME، و IMI/NMC شکل می‌گیرند، درحالی‌که SFC و SHV-38 هرکدام به‌طور جداگانه‌ای یک گروه را تشکیل می‌دهند. ژن-های 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} به‌علت 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؛ به‌طوری‌که امروزه جداسازی و شناسایی سویه‌های دارای bla_{KPC} چالشی واقعی برای آزمایشگاه-های تشخیصی هستند [۱۳،۱۲]. از آنجایی‌که کاربا‌پنم‌ها آخرین حربه درمانی در درمان عفونت‌های بیمارستانی ناشی از باکتری‌های گرم منفی مقاوم به سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف می‌باشند و تاکنون درمان جایگزین مناسبی به‌جای آنها یافت نشده است، مطالعه الگوی ژن‌های ایجاد کننده مقاومت به کاربا‌پنم‌ها 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 سویه-های *کلبسیلا* تولیدکننده KPC در منطقه ما وجود دارد، این مطالعه به‌منظور بررسی سویه‌های *کلبسیلا* تولید کننده کاربا‌پنماز KPC در نمونه‌های بالینی در بیماران مراجعه‌کننده 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 میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی توسط روش-های متداول بیوشیمیایی و میکروسکوپی شناسایی و تایید شدند. جهت شناسایی سویه‌های *کلبسیلا* از کشت روی محیط‌های مکانکی آگار، رنگ‌آمیزی گرم، تست‌های بیوشیمیایی نظیر ایندول، متیل رد، وژس پروسکائر، سیترات، اوره و حرکت استفاده گردید.

پروفایل آنتی بیوتیکی

حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن بر روی محیط مولر هینتون آگار با توجه به دستورالعمل CLSI انجام شد. از سویه استاندارد *اشریشیا کولای* ATCC25922 به-عنوان سویه کنترل استفاده شد [۱۴]. آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی خریداری شده از شرکت (Mast Diagnositics, Mast group Ltd.Merseyside,UK) شامل سفتازیدیم (۳۰µg)، سفتریاکسون (۳۰µg)، سفالوتین (۳۰µg)، ایمی‌پنم (۱۰µg)، مروپنم (۱۰µg)، نالیدیکسیک‌اسید (۳۰µg)، تری‌متوپریم، سولفامتوکسازول (۳۰µg)، دوری‌پنم (۱۰µg)، جنتامایسین (۱۰µg)، آزترونام (۳۰µg)، سیپر-وفلوکساسین (۵µg)، سفوکسیتین (۳۰µg)، کوآموکسی‌کلاو (۳۰µg)، پیپراسیلین، تازوباکتام (۱۰۰/۱۰µg)، ارتاپنم (۱۰µg)، آمپی‌سیلین (۳۰µg)، سفوتاکسیم (۳۰µg) بودند. نتایج بر اساس استاندارد CLSI به‌صورت سویه‌های مقاوم، بینابینی و حساس گزارش گردید.

تکثیر ژن bla_{KPC}

جهت بررسی سویه‌های *کلبسیلا* تولید کننده کاربا-پنماز KPC به‌روش PCR، ابتدا DNA سویه‌های *کلبسیلا* به روش جوشاندن استخراج گردید. جهت بررسی ژن bla_{KPC} از پرایمرهای اختصاصی شامل: پرایمر KPC forward به‌عنوان پرایمر رفت با توالی CTGAACTCCGCCATCCCAAG و پرایمر KPC reverse به‌عنوان پرایمر برگشت با توالی AGGCGCCCGGGTGTAGAC استفاده شد. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ µL در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf master cycler®, MA) مطابق برنامه دمایی در جدول شماره ۱ انجام پذیرفت. محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۱/۵ 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 به‌عنوان کنترل مثبت و *کلبسیلا پنومونیه* ATCC BAA-1706 به‌عنوان 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

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-09-03]

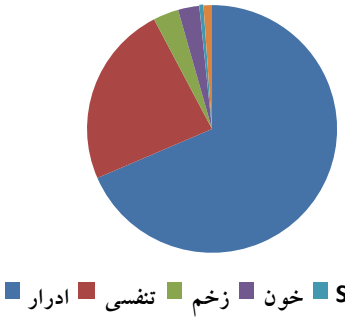
آزمون‌های مجذور کای بررسی شد و P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

جدول شماره ۱- برنامه دمایی واکنش PCR

مرحله PCR	دما درجه سانتی‌گراد	زمان
واسرشت اولیه	۹۵	۴ دقیقه
۳۵ چرخه دمایی شامل:		
واسرشت	۹۵	۳۰ ثانیه
اتصال آغازگر	۵۸	۳۰ ثانیه
طویل شدن	۷۲	۴۰ ثانیه
طویل 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) به‌خود اختصاص دادند، درحالی‌که 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 ایمی‌پنم در بین ایزوله‌های *کلبسیلا* حدود ۴۸ مورد (۲۶/۵ درصد) بود (جدول شماره ۲). از میان ۱۷ آنتی‌بیوتیک مورد بررسی، ایزوله‌های *کلبسیلا* به آمپی‌سیلین، سفالوتین، سفوتاکسیم 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 کاربانپنماز 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 مایع 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 در سویه‌های *کلبسیلا* مقاوم به ایمی‌پنم رابطه معنی‌داری وجود ندارد (جدول شماره ۳).



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

بحث

کلبسیلا حاوی ژن bla_{KPC} به‌علت مقاومت بالای آنتی‌بیوتیکی 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، به‌طوری‌که

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-09-03]

امروزه جداسازی و شناسایی سویه‌های دارای ژن bla_{KPC} چالشی واقعی در بهداشت و درمان محسوب می‌گردد [۱۶،۱۵].

جدول شماره ۳- رابطه میان حضور ژن bla_{KPC} و جنس، سن، نوع نمونه و نوع مراجعه بیماران در سویه‌های *کلبسیلا* مقاوم به ایمی‌پنم در مطالعه حاضر

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

* سایر: شامل ۱ نمونه (۲/۱ درصد) جدا شده از مایع مغزی نخاعی منفی از نظر ژن bla_{KPC} و ۲ نمونه جدا شده از کاتتر شامل: ۱ نمونه (۲/۱ درصد) مثبت از نظر ژن bla_{KPC} و ۱ نمونه (۲/۱ درصد) منفی از نظر ژن bla_{KPC}

این مطالعه در کاشان و با هدف تعیین الگوی مقاومت دارویی و بررسی وجود ژن bla_{KPC} در سویه‌های *کلبسیلا* با روش مولکولی PCR انجام گردید. در بررسی شیوع مقاومت به کاربانپم‌ها در مطالعه حاضر آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم، دوری‌پنم، ارتاپنم و مروپنم از لحاظ حساسیت آنتی‌بیوتیکی مورد بررسی قرار گرفتند و مشاهده گردید، بیشترین مقاومت به این دسته آنتی-بیوتیک‌ها در ایمی‌پنم و مروپنم بود که در مورد ایمی‌پنم 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 به‌ترتیب نسبت به ایمی‌پنم و مروپنم گزارش نموده‌اند [۱۷]، مقاومت نسبتا پایین‌تری در این مطالعه مشاهده می-گردد. مقاومت به آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم در این مطالعه دارای درصد مقاومت کمتری نسبت به مطالعه هاشمی زاده 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 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، تقریبا یکسان بوده ولی در مورد آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم 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 سفتازیدیم، کوتریموکسازول، جنتامایسین، ایمی-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 کاربانپم‌ها در میان جدایه‌های *کلبسیلا* نشان داد ۲۱ مورد حامل ژن bla_{KPC} 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_{KPC} بودند [۱۷]. هم‌چنین، در مطالعه دیگر که در سال ۹۲ توسط شکری و همکاران در شهر اصفهان انجام شد، از ۴۷۵ ایزوله انتروباکتریاسیه ۷۵ نمونه *کلبسیلا* بودند و ۶۵ سویه از نظر تولید آنزیم کاربانپنماز 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_{KPC} 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_{KPC} به‌ترتیب ۵۱ و ۷۳/۵ درصد گزارش نمودند؛ این تفاوت چشم‌گیر می‌تواند به‌دلیل وجود سایر آنزیم‌های ایجاد کننده مقاومت به کاربانپم‌ها مانند آنزیم‌های GES، KPC، SME، و IMI/NMC در منطقه ما باشد. مطالعات آینده بر روی سایر ژن‌های ایجاد کننده مقاومت به کاربانپم‌ها 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 نسبتا بالایی به آنتی‌بیوتیک‌هایی که درمان انتخابی عفونت‌های ناشی از *کلبسیلا*های دارای مقاومت چندگانه می‌باشند، به‌ویژه گروه کاربانپم‌ها در منطقه ما وجود دارد. بنابراین کنترل مصرف

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-09-03]

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، به‌دلیل پتانسیل انتقال پلاسمیدی و سریع این ژن ها 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 اورژانس با اهمیت پزشکی محسوب می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی (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 β-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 pneumonia* 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-β-lactamases: a last frontier for β-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 β-lactamases accelerated by generations of β-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-β-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. 21th 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, Mashiach T, Oren I, Kassis I, Finkelstein R. Carbapenem resistance among *Klebsiella pneumonia* 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, Ahangarzadeh Rezaee M, Aghazadeh M, Hasani A. Prevalence of multi-drug resistant (MDR) *Klebsiella pneumonia* among children and adults with urinary tract infection

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-09-03]

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 β-Lactamases in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniain* a teaching hospital in China. ***Antimicrob Agents Chemother*** 2011; 55(5): 2493-4.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-09-03]