مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و پنجم/شماره‌ی ٤٤٤/هفته‌ی چهارم مهر ماه ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۵/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۶/۱۵

بررسی فراوانی بتالاکتامازهای طیف گسترده در ایزوله‌های Klebsiella Pneumonia جدا شده از نمونه‌های بیماران پنومونی وابسته به ونتیلاتور در کرمانشاه

سیاوش وزیری[۱]، فیض‌اله منصوری[۱]، رامین عبیری[۲]، امیرهوشنگ الوندی[۲]، سید حمیدرضا مرتضوی[۳]، کمال احمدی[۴]، مریم میرزایی[۵]، محسن عزیزی[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: یکی از شایع‌ترین عفونت‌های بیماران در بخش مراقبت‌های ویژه با میزان مرگ و میر بالا، پنومونی وابسته به ونتیلاتور است. هدف از انجام این مطالعه، تعیین فراوانی بتالاکتامازهای طیف گسترده در ایزوله‌های Klebsiella pneumonia جدا شده از نمونه‌های پنومونی وابسته به ونتیلاتور در کرمانشاه بود.

روش‌ها: این مطالعه، بر روی نمونه‌های لوله‌ی تراشه‌ی بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه صورت گرفت. پس از جمع‌آوری نمونه‌ها، ۵۷ ایزوله‌ی Klebsiella pneumonia با استفاده از روش‌های استاندارد باکتری‌شناسی و بیوشیمیایی تأیید شدند. پس از سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش انتشار دیسک، وجود آنزیم‌های Extended spectrum beta-lactamases (ESBL) از نظر فنوتیپی به روش آزمایش دیسک ترکیبی مشخص شد. فراوانی ژن‌های ESBL با استفاده از پرایمرهای اختصاصی آن‌ها و روش Polymerase chain reaction (PCR) تعیین شد.

یافته‌ها: از مجموع ۵۷ ایزوله‌ی Klebsiella pneumonia، ۲۲ ایزوله (۳۸/۶ درصد) با استفاده از روش فنوتیپی مولد ESBL تشخیص داده شدند. آزمایش PCR نشان داد ژن SHV با ۳۱/۶ درصد بیشترین فراوانی ژنوتیپی را داشت. بیشترین میزان مقاومت در برابر سفتریاکسون، کوتریموکسازول (۷۸/۹ درصد) و همچنین، کمترین میزان مقاومت در برابر کولیستین (۳/۵ درصد) بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به مقاومت بالای ایزوله‌های Klebsiella pneumonia جدا شده از نمونه‌های بیماران مبتلا به پنومونی وابسته به ونتیلاتور نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم و شیوع سویه‌های مولد ESBL در بین این دسته از بیماران، شناسایی سویه‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف و انتخاب آنتی‌بیوتیک‌های مناسب جهت درمان این بیمارن امری ضروری به نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: پنومونی وابسته به ونتیلاتور، الگوی مقاومت باکتریایی، بخش مراقبت ویژه

ارجاع: وزیری سیاوش، منصوری فیض‌اله، عبیری رامین، الوندی امیرهوشنگ، مرتضوی سید حمیدرضا، احمدی کمال، میرزایی مریم، عزیزی محسن. **بررسی فراوانی بتالاکتامازهای طیف گسترده در ایزوله‌های Klebsiella Pneumonia جدا شده از نمونه‌های بیماران پنومونی وابسته به ونتیلاتور در کرمانشاه.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۴): ۱۱۱۹-۱۱۱۳

مقدمه

در میان عفونت‌های مختلف بیمارستانی، پنومونی به عنوان دومین علت شایع عفونت‌های حاد بیمارستانی با میزان شیوع ۱۵ درصدی و از طرفی به عنوان شایع‌ترین عفونت بخش مراقبت‌های ویژه (ICU یا Intensive care unit) با شیوع ۲۰-۱ درصدی شناخته می‌شود (۱). پنومونی وابسته به ونتیلاتور (Ventilator-associated pneumonia یا VAP) ۷۲-۴۸ ساعت پس از شروع تهویه‌ی مکانیکی در بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه رخ می‌دهد که در بعضی موارد،

۱- دانشیار، گروه بیماری‌های عفونی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۲- دانشیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۳- استادیار، گروه اطفال، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۴- گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۵- گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: محسن عزیزی
Email: m.azizi9889@yahoo.com

میزان مرگ و میر ناشی از آن تا ۷۶ درصد نیز گزارش شده است (۳-۲). پنومونی وابسته به ونتیلاتور، در دو شکل شامل نوع زودرس (کمتر از ٤ روز از شروع تهویه‌ی مکانیکی) و نوع دیررس (پس از گذشت ٤ روز از شروع تهویه‌ی مکانیکی) در بیماران ایجاد می‌شود (٤). خطر مرگ و میر در VAP به دلایلی همچون درمان اشتباه و یا تأخیر در درمان آنتی‌بیوتیکی اولیه به خصوص زمانی که عوامل مسبب این عفونت دارای مقاومت دارویی چندگانه (Multiple drug resistance یا MDR) باشند، به میزان زیادی افزایش می‌یابد (۵). از جمله پاتوژن‌های عامل عفونت VAP و دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالا، Klebsiella pneumonia و Escherichia coli تولید کننده‌ی بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (Extended-spectrum beta-lactamases یا ESBL) هستند که از زمان شناسایی آن‌ها تاکنون با گسترش در سراسر جهان به عنوان یک خطر جدی در ایجاد عفونت‌های مرتبط با مراقبت‌های بهداشتی شناخته شده‌اند (٦).

Klebsiella pneumoniae باکتری گرم منفی از خانواده‌ی انتروباکتریاسه‌ها (Enterobacteriaceae) و یکی از عوامل مهم ایجاد کننده‌ی عفونت‌های بیمارستانی مختلف شامل عفونت مجاری ادراری، پنومونی، سپتی‌سمی و عفونت‌های بافت نرم می‌باشد. در این باکتری، همانند سایر باکتری‌های گرم منفی دیگر، به دلیل استفاده‌ی فراوان از انواع بتالاکتام، مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی مختلفی ایجاد شده است (۷). بتالاکتامازهای طیف گسترده، با انتشار مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در سراسر دنیا، یکی از مشکلات موجود در درمان بیماری‌های عفونی مختلف محسوب می‌شوند. این آنزیم‌ها در گروه A- بتالاکتامازها قرار دارند و به دلیل انتقال توسط پلاسمیدها، توانایی انتقال هم‌زمان ژن‌های مقاومت در برابر سایر آنتی‌بیوتیک‌ها (آمینوگلیکوزیدها و فلوروکینولون‌ها) را دارند و به دنبال آن، محدودیت در انتخاب آنتی‌بیوتیک‌ها را موجب می‌شوند. رایج‌ترین بتالاکتاماز موجود در بین خانواده‌ی انتروباکتریاسه‌ها، ژن TEMاست، اما CTX-M دارای توانایی و گستردگی بیشتری بر روی آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام می‌باشد (۹-۸). هدف از انجام این مطالعه، تعیین فراوانی ژن‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف (CTX-M، TEM و SHV) در میان ایزوله‌های Klebsiella pneumonia جدا شده از نمونه‌های پنومونی وابسته به ونتیلاتور بیماران بیمارستان امام رضای (ع) شهر کرمانشاه بود.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی توصیفی مقطعی و طی یک دوره‌ی زمانی ۱۰ ماهه از تیر ۱۳۹۵ تا اردیبهشت ۱۳۹٦، تمامی نمونه‌های اخذ شده از لوله‌ی تراشه‌ی بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه‌ی بیمارستان امام رضای (ع) شهر کرمانشاه که بیش از ٤٨ ساعت تحت تهویه‌ی مکانیکی بودند، وارد مطالعه شدند. تشخیص پنومونی بر اساس مشاهده‌ی علایم تب به اضافه‌ی سه یافته‌ی هم‌زمان لکوسیتوز، افزایش ترشحات ریوی و تغییرات گرافی قفسه‌ی صدری تعیین شد (۳).

پس از جمع‌آوری نمونه‌ها و انتقال آن‌ها به آزمایشگاه، آن‌ها را بر روی محیط کشت‌های Blood agar، MacConkey agar و Chocolate agar کشت داده و به مدت ٢٤ ساعت انکوبه شدند. هم‌زمان، تهیه‌ی گسترش و رنگ‌آمیزی گرم از کلنی‌های رشد کرده به عمل آمد. کلنی‌های رشد یافته که خصوصیاتی مشابه Klebsiella pneumonia را داشتند، با انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی افتراقی شامل چگونگی تخمیر قندها در محیط Triple sugar iron (TSI)، دکربوکسیلاسیون اسید آمینه‌ی لایزین در محیط Lysine iron agar (LIA)، تولید اندول و عدم حرکت در محیط Sulfide indole motility (SIM)، واکنش در محیط Methyl Red Voges Proskauer (MR-VP) و همچنین، رشد در محیط Simmons' citrate و Urea agar و سپس، بررسی نتایج با استفاده از جداول استاندارد شناسایی شدند. در نهایت، تعداد ۵۷ ایزوله‌ی Klebsiella pneumonia شناسایی شد.

آن گاه، برای شناسایی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های Klebsiella pneumonia، از ۱۱ دیسک آنتی‌بیوتیکی (MAST company, England) شامل سفتریاکسون، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسیلین، آمپی‌سیلین، پیپراسیلین/تازوباکتام، کوتریموکسازول، ایمی‌پنم، آمیکاسین، جنتامایسین و کولیستین با استفاده از آزمایش دیسک دیفیوژن آگار (Disk agar diffusion یا DAD) استفاده شد. سپس، نتایج به دست آمده با جداول استاندارد Clinical & Laboratory Standards Institute-2010 (CLSI-2012) مورد مقایسه قرار گرفت. برای کنترل کیفی آنتی‌بیوگرام، از Klebsiella pneumonia ATCC 700603 استفاده شد. ایزوله‌هایی که قطر هاله‌ی عدم رشد آن‌ها حداقل برای یکی از آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم، سفوتاکسیم و سفتریاکسون به ترتیب ۲۲، ۲۷ و ۲۵ میلی‌متر بود، از نظر حضور ESBL مورد بررسی قرار می‌گرفتند (۱۰).

آزمایش تأییدی تولید ESBL به روش دیسک ترکیبی (Combination disk یا CD) با استفاده از دیسک‌های ۳۰ میکروگرمی سفوتاکسیم و سفتازیدیم در مجاورت دیسک مرکب آن‌ها با ۱۰ میکروگرم کلاولانیک اسید (MAST company, England) در محیط Muller-Hinton agar و مشابه روش انتشار از دیسک انجام گرفت. در صورتی که قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری در اطراف دیسک ترکیبی، حداقل ۵ میلی‌متر یا بیشتر از قطر هاله‌ی عدم رشد دیسک منفرد همان آنتی‌بیوتیک بود، به عنوان ایزوله‌ی ESBL مثبت شناسایی گردید.

جدول ۱. پرایمرها و چرخه‌های دمایی مورد استفاده در واکنش Polymerase chain reaction (PCR)

References	اندازه‌ی محصول (bp)	Extension ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد	Annealing ٥٤ درجه‌ی سانتی‌گراد	Denaturation ۹٤ درجه‌ی سانتی‌گراد	توالی (3́-5́)	Primer
۳۲ چرخه						
۱۱	۴۶۵	۲ دقیقه	۶۰ ثانیه	۳۰ ثانیه	F:5-TTGGGTGCACGAGTGGGTTA -3 R: 5-TAATTGTTGCCGGGAAGCTA -3	bla TEM
۱۱	۵۸۸	۲ دقیقه	۶۰ ثانیه	۳۰ ثانیه	F:5-ACCGCCGATAATTCGCAGAT -3 R: 5-GATATCGTTGGTGGTGCCATAA-3	bla CTX-M
۱۱	۳۹۲	۲ دقیقه	۳۰ ثانیه	۳۰ ثانیه	F:5-AGGATTGACTGCCTTTTTG-3 R:5-.ATTTGCTGATTTCGCTCG-3	bla SHV

از سویه‌ی Klebsiella pneumonia ATCC 7881 به عنوان شاهد مثبت ایزوله‌های بتالاکتاماز مثبت استفاده شد. برای انجام واکنش Polymerase chain reaction (PCR)، پس از استخراج DNA نمونه‌ها با روش Boiling، واکنش PCR برای هر کدام از ژن‌های SHV، TEM و CTX-M با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر Mastermix، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها، ۳ میکرولیتر DNA باکتری و آب‌مقطر استریل تا حجم ۲۵ میکرولیتر انجام گرفت (۱۱).

چرخه‌ی دمایی واکنش PCR برای هر سه ژن بتالاکتاماز مورد بررسی شامل ۵ دقیقه دناتوراسیون اولیه در دمای ۹٤ درجه‌ی سانتی‌گراد و سپس، ۳۲ چرخه‌ی اصلی طبق جدول ۱ و در انتها، ۵ دقیقه تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد بود. در نهایت، محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج به دست آمده، به همراه مشخصات نمونه‌های مورد بررسی جمع‌آوری گردید و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

در این مطالعه، از مجموع ۳۸٤ نمونه‌ی مورد بررسی، ۵۷ ایزوله (۱٤/۹ درصد) حاوی Klebsiella pneumonia بودند. تمامی نمونه‌های مورد بررسی، شامل نمونه‌های اخذ شده از لوله‌ی تراشه‌ی بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه‌ی بیمارستان امام رضا (ع) بود. میانگین سنی بیماران ۱٦/۲۰ ± ۵۳/۰۷ سال (با دامنه‌ی ۸٦-۲۳ سال) بود. فراوانی ایزوله‌ها در مردان و زنان به ترتیب ۳٦ (٦۳/۲ درصد) و ۲۱ (۳٦/۸ درصد) تعیین شد. بر اساس نتایج جدول ۲، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های Klebsiella pneumonia نسبت به سفتریاکسون و کوتریموکسازول با میزان ۷۸/۹ درصد و همچنین، کمترین میزان مقاومت این ایزوله‌ها در برابر کولیستین (۳/۵ درصد) و ایمی‌پنم (۳۳/۳ درصد) مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۲. نتایج مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های Klebsiella pneumonia جداسازی شده از نمونه‌های Ventilator-associated pneumonia (VAP)

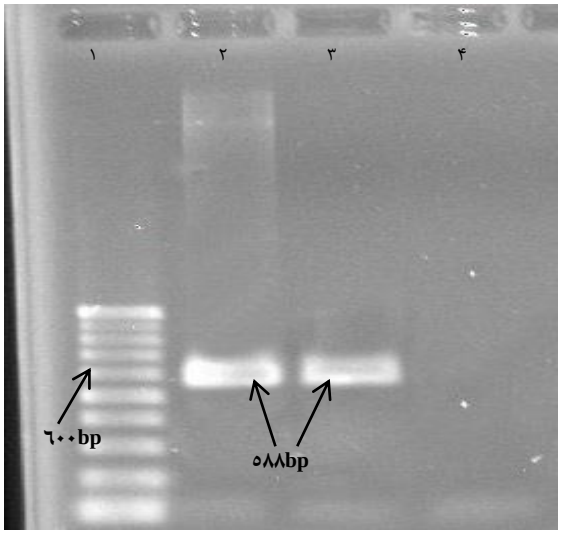
آنتی‌بیوتیک	مقاومت تعداد (درصد)	حد واسط تعداد (درصد)	حساسیت تعداد (درصد)
جنتامایسین	۴۳ (۷۵/۴)	۷ (۱۲/۳)	۷ (۱۲/۳)
سفتازیدیم	۴۱ (۷۱/۹)	۳ (۵/۳)	۱۳ (۲۲/۸)
آمیکاسین	۳۷ (۶۴/۹)	۵ (۸/۳)	۱۵ (۲۶/۳)
سفتریاکسون	۴۵ (۷۸/۹)	۱ (۱/۸)	۱۱ (۱۹/۳)
سفوتاکسیم	۳۷ (۶۴/۹)	۴ (۷)	۱۶ (۲۸/۱)
آمپی‌سیلین	۳۷ (۶۴/۹)	۲ (۳/۵)	۱۸ (۳۱/۶)
سیپروفلوکساسین	۳۳ (۵۷/۹)	۷ (۱۲/۳)	۲۷ (۲۹/۸)
کوتریموکسازول	۴۵ (۷۸/۹)	۱ (۱/۸)	۱۱ (۱۹/۳)
پیپراسیلین/تازوباکتام	۳۳ (۵۷/۹)	۰ (۰)	۲۴ (۴۲/۱)
ایمی‌پنم	۱۹ (۳۳/۳)	۱ (۱/۸)	۳۷ (۶۴/۹)
کولیستین	۲ (۳/۵)	۰ (۰)	۵۵ (۹۶/۵)

از میان ۵۷ ایزوله‌ی Klebsiella pneumonia، در مجموع با روش ژنوتیپی ۲۲ ایزوله (۳۸/٦ درصد) مولد ESBL بودند. بیشترین فراوانی در بین ژن‌های بتالاکتاماز مربوط به ژن SHV با فراوانی ۱۸ مورد (۳۱/٦ درصد) بود. فراوانی سایر ژن‌ها به ترتیب ۱۳ (۲۲/۸ درصد) و ۷ (۱۲/۳ درصد) برای TEM و CTX-M تعیین شد. نتایج PCR این ژن‌ها در شکل‌های ۳-۱ آمده است. بر اساس نتایج جدول ۳، از نظر آماری ارتباط معنی‌داری بین فراوانی این ژن‌ها و متغیرهای سن و جنس بیماران مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵۰$)، اما بین فراوانی ژن‌های CTX-M و مقاومت به ایمی‌پنم ($P = ۰/۰۰۸$) و همچنین، TEM و مقاومت به جنتامایسین ($P = ۰/۰۰۱$) رابطه‌ی معنی‌داری وجود داشت.

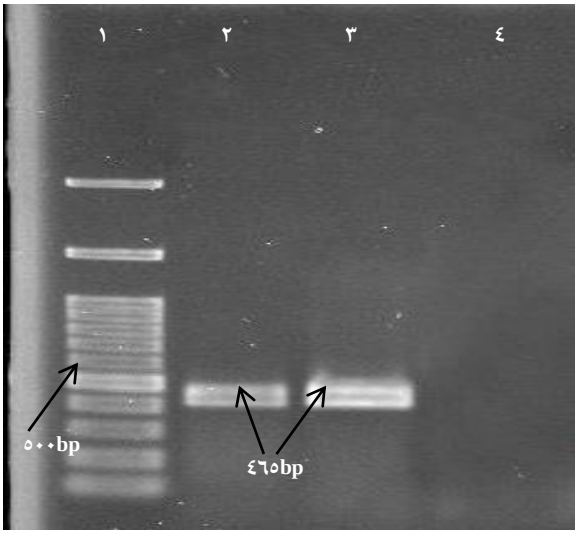
جدول ۳. فراوانی ژن‌های **Extended spectrum beta-lactamases (ESBL)** در ایزوله‌های **Klebsiella pneumonia** به نسبت الگوهای حساسیت آنتی‌بیوتیکی در آن‌ها

ژن‌ها	SHV (۱۸)			TEM (۱۳)			CTX-M (۷)		
آنتی‌بیوتیک‌ها	مقاومت	حد واسط	حساسیت	مقاومت	حد واسط	حساسیت	مقاومت	حد واسط	حساسیت
جنتامایسین	۱۵	۱	۲	۱۱*	۱	۱	۶	۰	۱
سفتازیدیم	۱۴	۱	۳	۱۲	۰	۱	۶	۱	۰
آمیکاسین	۱۵	۱	۲	۱۱	۱	۱	۶	۱	۰
سفتریاکسون	۱۱	۱	۶	۹	۱	۳	۴	۰	۳
آمپی‌سیلین	۱۴	۱	۳	۱۰	۱	۲	۴	۱	۲
سیپروفلوکساسین	۱۲	۰	۶	۹	۰	۴	۴	۰	۳
کوتریموکسازول	۱۴	۱	۳	۱۰	۰	۳	۶	۰	۱
پیپراسیلین/تازوباکتام	۱۰	۰	۸	۷	۰	۶	۵	۰	۲
ایمی‌پنم	۸	۰	۱۰	۶	۰	۷	۶*	۰	۱
کولیستین	۰	۰	۱۸	۰	۰	۱۳	۰	۰	۷

* = معنی‌دار



شکل ۱. نتایج **Polymerase chian reaction (PCR)** ژن **CTX-M**: ۱- لدر (**۶۰۰ bp**)، ۲- شاهد مثبت (**۵۸۸ bp**)، ۳- نمونه‌ی مثبت (**۵۸۸ bp**) و ٤- شاهد منفی

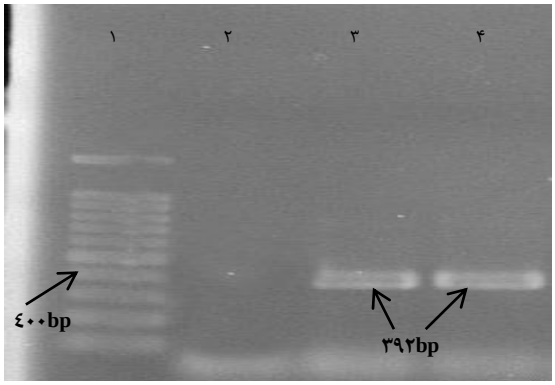


شکل ۲. نتایج **Polymerase chain reaction (PCR)** ژن **TEM**: ۱- لدر (**۱۰۰ bp**)، ۲- شاهد مثبت (**٤٦٥ bp**)، ۳- نمونه‌ی مثبت (**٤٦٥ bp**)، ٤-شاهد منفی

بحث

امروزه، افزایش مقاومت نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم در ایزوله‌های باکتریایی مختلف نظیر انتروباکتریاسه‌ها، به یکی از مشکلات اصلی در روند درمان عفونت‌های بیمارستانی مختلف مانند پنومونی وابسته به ونتیلاتور تبدیل شده است. گسترش باکتری‌هایی نظیر Klebsiella pneumonia دارای ژن‌های ESBL، به دلیل ایجاد عفونت‌های تهدید کننده‌ی حیات در بیماران، باعث اختلال در روند درمان عفونت‌ها و به دنبال آن، افزایش هزینه‌های درمانی می‌گردد (٦).

در این مطالعه، شیوع ESBL در ایزوله‌های Klebsiella pneumonia برابر با ۳۸/٦ درصد تعیین شد. در داخل کشور، بر اساس نتایج گزارش شده، میزان شیوع ESBL را بین ۷۲-۱۲ درصد گزارش کرده‌اند (۱۵-۱۲). در سایر کشورها از جمله هندوستان، شیوع این ژن‌ها در Klebsiella pneumonia بین ۸۳-٤ درصد ذکر شده است (۱٦). بنابراین، نتایج مطالعه‌ی حاضر در راستای این مطالعات قرار داشت.



شکل ۳. نتایج Polymerase chain reaction (PCR) ژن SHV:
۱- لدر (۱۰۰ bp)، ۲-شاهد منفی، ۳- شاهد مثبت (۳۹۲ bp)، ٤- نمونه مثبت (۳۹۲ bp)

از جمله عوامل مؤثر در گسترش و شیوع ایزوله‌های مولد ESBL، می‌توان به الگوهای مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، میزان حاملین این ایزوله‌ها در بیمارستان‌ها و نوع ضد عفونی کننده‌های به کار رفته در این مراکز بهه خصوص بخش مراقبت‌های ویژه اشاره کرد (۱٦). از نظر شیوع ژن‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف، بیشترین فراوانی (۳۱/٦ درصد) در ژن SHV مشاهده شد. در مطالعات انجام گرفته در داخل و خارج از کشور نیز بیشترین شیوع ژن‌های ESBL در ایزوله‌های Klebsiella pneumonia مربوط به ژن SHV بود (۱۸-۱۷، ۱۵) که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر سازگار بود. از طرفی، در برخی از مطالعات، فراوانی سایر ژن‌ها شامل CTX-M (۱۹) و TEM (۱٤) بیشتر بود که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر تفاوت داشت.

وجود ایزوله‌های Klebsiella pneumonia دارای بیش از یک ژن، می‌تواند نشانگر وجود سویه‌های دارای مقاومت دارویی چندگانه باشد. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که ۱٤ ایزوله دارای بیش از یک ژن بودند که از این نظر، با سایر مطالعات همسو بود (۲۰-۱۹، ۱۵). در این مطالعه، سطح مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالایی در ایزوله‌های Klebsiella pneumonia جدا شده از نمونه‌های VAP دیده شد. بیشترین مقاومت نسبت به سفتریاکسون و کوتریموکسازول با میزان ۷۸/۹ درصد بود.

میزان مقاومت در برابر انواع سفالوسپورین‌های نسل سوم و آمینوگلیکوزیدها، به ترتیب ۷۱/۹ و ۷۰/۲ درصد تعیین شد. افخم‌زاده و همکاران در مطالعه‌ی خود سطح مقاومت نسبت به این دو دسته‌ی دارویی را ۹۵/۱ و ۷۳/۳ درصد گزارش کردند (۲۱).

در مطالعه‌ی دیگری که در کشور چین انجام شد، میزان مقاومت نسبت به سفالوسپورین‌ها، ۷۵/۰ درصد گزارش گردید که با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی داشت، اما بر خلاف مطالعه‌ی حاضر، هیچ گونه مقاومتی نسبت به آمینوگلیکوزیدها گزارش نشد (۲۲). در مورد سایر آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی نیز مقاومت دارویی بالایی در این باکتری بود. برای مثال، میزان مقاومت نسبت به کوتریموکسازول، آمپی‌سیلین و سیپروفلوکساسین، به ترتیب ۷۸/۹، ٦٤/۹ و ۵۷/۹ درصد تعیین شد که با نتایج سایر مطالعات سازگار بود (۲۳، ۲۱).

بیشترین حساسیت دارویی ایزوله نسبت به کولیستین (۳/۵ درصد) دیده شد. با وجود این که از ایمی‌پنم به عنوان آخرین خط درمانی در عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی استفاده می‌شود، در این مطالعه ۳۳/۳ درصد از ایزوله‌های Klebsiella pneumonia نسبت به ایمی‌پنم مقاومت نشان دادند، اما در سایر مطالعات، درصد کمتری از مقاومت (۱۱/۷ و ۱/٦٦ درصد) را گزارش کردند. این امر، نشانگر افزایش مقاومت Klebsiella pneumonia در برابر این آنتی‌بیوتیک پرکاربرد است (۲۵-۲٤).

علی کیایی و همکاران، میزان حساسیت ایزوله‌های Klebsiella pneumonia نسبت به کولیستین را ۱۰۰ درصد گزارش کردند (٤)، اما در مطالعه‌ی پور علی شش بلوکی و مردانه، ۳/٦ درصد از ایزوله‌های این باکتری نسبت به آن مقاوم بودند (۲٤)، که از این نظر، با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی داشت. از جمله عوامل مسبب تفاوت در نتایج مقاومت‌های دارویی، می‌توان به الگوهای متفاوت مقاومت دارویی در مناطق مختلف و همچنین، الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، تفاوت‌های جغرافیایی و سایر موارد اشاره کرد (۲٦). با توجه به مقاومت بالای ایزوله‌های Klebsiella pneumonia جدا شده از نمونه‌های بیماران مبتلا به پنومونی وابسته به ونتیلاتور نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم و شیوع سویه‌های مولد ESBL در بین این دسته از بیماران، شناسایی این سویه‌ها و انتخاب آنتی‌بیوتیک‌های مناسب جهت درمان این بیماران، امری ضروری به نظر می‌رسد. در نتیجه، لازم است توجه بیشتری در امر شناسایی الگوهای مقاومت دارویی و مکانیسم‌های مسبب این مقاومت‌ها در این باکتری اعمال گردد.

تشکر و قدردانی

با تقدیر و تشکر از معاونت محترم تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه که هزینه‌ی اجرای این طرح را از محل بودجه‌ی طرح جذب پژوهشگر به شماره‌ی ۹۵۵۳۹ تأمین نموده‌اند.

References

1. Alikiaie B, Moradi D, Mosaddegh M, Salimi N, Mosaddegh J. Early- and late-onset ventilator-associated pneumonia in emergency- and non-emergency-admitted patients in the intensive care

units of Alzahra Hospital (Isfahan, Iran): Comparison of bacterial subgroups. J Isfahan Med Sch 2015; 33(344): 1220-32. [In Persian].
2. Chastre J, Fagon JY. Ventilator-associated pneumonia. Am J Respir Crit Care Med 2002; 165(7): 867-903.
3. American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. Am J Respir Crit Care Med 2005; 171(4): 388-416.
4. Alikiaii B, Aghadavoudi O, Emami N. Evaluating antibiotic resistance pattern of ventilator-associated pneumonia in intensive care units of Alzahra Hospital, Isfahan University of Medical Sciences, Iran. J Isfahan Med Sch 2016; 34(399): 1083-9. [In Persian].
5. Rello J, Ollendorf DA, Oster G, Vera-Llonch M, Bellm L, Redman R, et al. Epidemiology and outcomes of ventilator-associated pneumonia in a large US database. Chest 2002; 122(6): 2115-21.
6. Kumar MS, Lakshmi V, Rajagopalan R. Occurrence of extended spectrum beta-lactamases among Enterobacteriaceae spp. isolated at a tertiary care institute. Indian J Med Microbiol 2006; 24(3): 208-11.
7. Kamatchi C, Magesh H, Sekhar U, Vaidyanathan R. Identification of clonal clusters of Klebsiella pneumoniae isolates from chennai by extended spectrum beta lactamase genotyping and antibiotic resistance phenotyping analysis. Am J Infect Dis 2009; 5(2): 74-82.
8. Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, et al. CTX-M: Changing the face of ESBLs in Europe. J Antimicrob Chemother 2007; 59(2): 165-74.
9. Yousefi-Fatmesari G, Hemmati M, Mortazavi SH, Mansouri F, Azizi M, Etemadimajd M, et al. Frequency of blaCTX-M, blaTEM, and blaSHV Genes in Escherichia coli isolated from urine samples of children in Kermanshah City, Iran. J Isfahan Med Sch 2017; 35(430): 551-7. [In Persian].
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. CLSI document M100-S22. Wayne, PA: CLSI; 2012.
11. Bajpai T, Pandey M, Varma M, Bhatambare GS. Prevalence of TEM, SHV, and CTX-M beta-lactamase genes in the urinary isolates of a tertiary care hospital. Avicenna J Med 2017; 7(1): 12-6.
12. Behrooozi A, Rahbar M, Vand Yousefi J. Frequency of extended spectrum beta-lactamase (ESBLs) producing Escherichia coli and Klebseilla pneumonia isolated from urine in an Iranian 1000-bed tertiary care hospital. Afr J Microbiol Res 2010; 4(9): 881-4.
13. Bagheri-Nesami M, Rafiei A, Eslami G, Ahangarkani F, Rezai MS, Nikkhah A, et al. Assessment of extended-spectrum beta-lactamases and integrons among Enterobacteriaceae in device-associated infections: Multicenter study in north of Iran. Antimicrob Resist Infect Control 2016; 5: 52.
14. Ahanjan M, Naderi F, Solimanii A. Prevalence of beta-lactamases genes and antibiotic resistance pattern of Klebsiella pneumoniae isolated from teaching hospitals, Sari, Iran, 2014. J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27(149): 79-87. [In Persian].
15. Feizabadi MM, Mahamadi-Yeganeh S, Mirsalehian A, Mirafshar SM, Mahboobi M, Nili F, et al. Genetic characterization of ESBL producing strains of Klebsiella pneumoniae from Tehran hospitals. J Infect Dev Ctries 2010; 4(10): 609-15.
16. Sarojamma V, Ramakrishna V. Prevalence of ESBL-producing Klebsiella pneumoniae isolates in tertiary care hospital. ISRN Microbiol 2011; 2011: 318348.
17. Khorshidi A, Moazen Z, Rohani M, Moniri R, Shajari GR, Mousavi GA. Prevalence of TEM1 and SHV1 genes in Kelebsiella pneumoniea with ESBL. J Mil Med 2009; 11(3):149-53. [In Persian].
18. Schumacher H, Scheibel J, Moller JK. Cross-resistance patterns among clinical isolates of Klebsiella pneumoniae with decreased susceptibility to cefuroxime. J Antimicrob Chemother 2000; 46(2): 215-21.
19. Krishnamurthy V, Vijaykumar GS, Sudeepa Kumar M, Prashanth HV, Prakash R, Nagaraj ER. Phenotypic and genotypic methods for detection of extended spectrum beta lactamase producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolated from ventilator associated pneumonia. J Clin Diagn Res 2013; 7(9): 1975-8.
20. Yazdi M, Nazemi A, Mirinargasi M, Jafarpour M, Sharifi SH. Genotypic versus phenotypic methods to detect extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in Uropathogenic Escherichia coli. Annals of Biological Research 2012, 3(5): 2454-8.
21. Afkhamzadeh A, Lahoorpour F, Delpisheh A, Janmardi R. Incidence of ventilator- associated pneumonia (VAP) and bacterial resistance pattern in adult patients hospitalised at the intensive care unit of Besat Hospital in Sanandaj. Sci J Kurdistan Univ Med Sci 2011; 16(1): 20-6. [In Persian].
22. Guo S, Xu J, Wei Y, Xu J, Li Y, Xue R. Clinical and molecular characteristics of Klebsiella pneumoniae ventilator-associated pneumonia in mainland China. BMC Infect Dis 2016; 16(1): 608.
23. Ranjan N, Ranjan KP, Chaudhary U, Chaudhry D. Antimicrobial resistance in bacteria causing ventilator-associated pneumonia in a tertiary care hospital: one year prospective study. Int J Res Med Sci 2014; 2(1): 228-33. [In Persian].
24. Pourali Sheshblouki G, Mardaneh J. Characterization of blaCTX gene and Cross-resistance in Klebsiella pneumoniae Isolated from Hospitalized Patients. J Birjand Univ Med Sci 2016; 23(1): 56-66. [In Persian].
25. Archin T, Afzalian E, Kargar M, Ghasemi Y. Molecular identification of SHV, TEM, CTX-M? lactamases genes and antibiotics resistance pattern of k.pneumoniae isolates collected from ICU patients of Namazi Hospital, Shiraz, Iran. Armaghane-danesh 2014; 18(10): 816-25. [In Persian].
26. Ahmadi K, Vaziri S, Mortazavi SH, Mansouri F, Afsharian M, Tajehmiri A, et al. Prevalence study of exoenzyme U (exoU) and exoenzyme S (exoS) genes in Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients in Kermanshah City, Iran. J Isfahan Med Sch 2017; 35(428): 496-502. [In Persian].

Journal of Isfahan Medical School

Vol. 35, No. 444, 4th Week, October 2017

Received: 11.08.2017

Accepted: 06.09.2017

Prevalence Study of Extended Spectrum Beta-Lactamase in Klebsiella Pneumonia Isolated from Patients with Ventilator-Associated Pneumonia in Kermanshah City, Iran

Siavash Vaziri[1], Faizullah Mansouri[1], Ramin Abiri[2], Amirhooshang Alvandi[2], Seyed Hamidreza Mortazavi[2], Kamal Ahmadi[4], Maryam Mirzaei[5], Mohsen Azizi[4]

Original Article

Abstract

Background: One of the most common infections in patients with high mortality rate is ventilator-dependent pneumonia. This study aimed to determine the frequency of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) in Klebsiella pneumonia isolated from patients with ventilator-associated pneumonia in Kermanshah City, Iran.

Methods: This study performed on tracheal tube samples of patients admitted to the intensive care units. After collecting specimens, 57 Klebsiella pneumonia isolates were confirmed via standard bacteriological and biochemical tests. After antibiotic susceptibility testing by using disk diffusion method, the presence of ESBL phenotype was determined via combined disk test. The frequency of ESBL genes was determined by using their specific primers and polymerase chain reaction (PCR) method.

Findings: From 57 isolates of Klebsiella pneumonia, 22 (38.6%) were positive for ESBL, phenotypically. The highest genotype frequency was shv gene (31.6%) determined via PCR test. The highest resistance was to ceftriaxone and co-trimoxazole (78.9%), and the lowest resistance was to colistin (3.5%).

Conclusion: Considering the high resistance of Klebsiella isolated from samples of patients with ventilator-associated pneumonia against third-generation cephalosporin and the prevalence of ESBL-producing strains among these patients, identification of isolates with ESBL and suitable antibiotic selection for the treatment of this patients seem to be necessary.

Keywords: Ventilator-Associated Pneumonia, Antibacterial drug resistance, Intensive care unit

Citation: Vaziri S, Mansouri F, Abiri R, Alvandi A, Mortazavi SH, Ahmadi K, et al. **Prevalence Study of Extended Spectrum Beta-Lactamase in Klebsiella Pneumonia Isolated from Patients with Ventilator-Associated Pneumonia in Kermanshah City, Iran.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(444): 1113-9.

1- Associate Professor, Department of Infectious Disease, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
2- Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
3- Assistant Professor, Department of Pediatrics, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
4- Department of Microbiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
5- Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Health, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
Corresponding Author: Mohsen Azizi, Email: m.azizi9889@yahoo.com