

بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه به دست آمده از نمونه‌های بالینی بیمارستان خاتم‌الانبیاء (ص) زاهدان

بهمن هرمزی^۱، محبوبه بارکزایی^۲، زهرا راشکی قلعه‌نو*^۳

۱- کارشناس ارشد ژنتیک، اداره آموزش و پرورش زابل، زابل
۲- کارشناس ارشد ژنتیک، بیمارستان سیدالشهدا زهک زابل، زابل
۳- گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل

دریافت مقاله: ۱۸ دی ۱۳۹۶، بازنگری: ۱۵ بهمن ۱۳۹۶، پذیرش نهایی: ۲۱ اسفند ۱۳۹۶

چکیده

کلبسیلا پنومونیه از جمله باکتری‌های عامل عفونت ادراری و یکی از پاتوژن‌های فرصت طلب و عامل عفونت بیمارستانی محسوب می‌گردد. شیوع مقاومت دارویی کلبسیلا پنومونیه روز به روز به افزایش است و بنابراین انجام تست‌های مقاومت دارویی، قبل از تجویز آنتی‌بیوتیک، ضروری به نظر می‌رسد. هدف این مطالعه تعیین میزان مقاومت به برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان خاتم‌الانبیاء (ص) زاهدان طی سالهای ۱۳۹۱ تا ۱۳۹۲ با استفاده از روش انتشار دیسک بود. در مطالعه توصیفی-تحلیلی حاضر، تعداد ۸۳ جدایه ی کلبسیلا پنومونیه از نمونه‌های مختلف بالینی در بیمارستان خاتم‌الانبیاء (ص) زاهدان از آزمون‌های بیوشیمیایی تعیین هویت شدند. الگوی مقاومت آنتی میکروبی به روش انتشار دیسک (کربی-بائر) انجام گرفت. درصد مقاومت ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه نسبت به سفیکسیم ۸۲ درصد، سفوتاکسیم ۸۱ درصد، سفتریاکسون ۷۳ درصد، سفتازیدیم ۷۲ درصد، آمیکاسین ۶۳/۶۳ درصد، آزیترومایسین ۶۰ درصد، تتراسیکلین و نالیدیکسیک اسید ۵۹ درصد، جنتامسین ۵۸ درصد و ایمپنم ۴۳ درصد تعیین گردید. نتایج به دست آمده نشان داد که ایمپنم با کمترین درصد مقاومت در مقابل تمام ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه، موثرترین آنتی‌بیوتیک بوده است.

واژه‌های کلیدی: انتشار دیسک، زاهدان، کلبسیلا پنومونیه، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

کلبسیلا پنومونیه باکتری بیماری‌زای فرصت‌طلب است که عاملی عمده در بروز مرگ و میر در بیماران با ضعف سیستم ایمنی محسوب می‌شود. مقاومت به مواد ضد میکروبی در این باکتری، سبب وخیم‌تر شدن وضعیت درمان عفونت‌های آن می‌گردد. نوعی از مقاومت به واسطه تولید آنزیم‌هایی به نام بتالاکتامازها صورت می‌گیرد، که عامل مقاومت در برابر بتالاکتام‌ها است (۱). با توجه به اهمیت مقاومت آنتی‌بیوتیکی در عفونت‌های بیمارستانی که به عنوان یک مشکل جدی برای سلامت جامعه انسانی مطرح بوده است و بیماران را در بیمارستان‌های سراسر جهان تحت تأثیر قرار می‌دهد و سالانه قربانی‌های زیادی را به خود اختصاص داده است و هزینه‌های درمانی فراوانی بر کشور تحمیل می‌کند، از این رو، سازمان بهداشت جهانی، سال ۲۰۱۱ را به عنوان سال مقاومت آنتی‌بیوتیکی نامید (۲،۳). مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی اغلب توسط ژن‌های پلاسمیدی رمز گردیده و به راحتی در میان انواع باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه انتقال می‌یابند (۴، ۵). مقاومت بالای خانواده انتروباکتریاسه به پنی‌سیلین و سفالوسپورین‌ها ناشی از تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف است که می‌تواند به گونه‌های مختلف دیگر نیز منتقل شود (۶). آنتی‌بیوتیک‌ها با مکانیسم‌های متفاوتی بر روی باکتری‌ها اثر می‌کنند. برای مثال داروهای بتالاکتام مانند پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها مانع سنتز دیواره سلولی می‌شوند، آمینوگلیکوزیدها و اریترومایسین بر روی ریبوزوم و سنتز پروتئین اثر می‌کنند و برخی دیگر مانند فلوروکینولون‌ها مانع سنتز DNA باکتری‌ها می‌شوند (۷-۹). میزان مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در میان انتروباکتریاسه در سراسر جهان متفاوت می‌باشد. اگر چه بیشترین میزان مقاومت در گونه‌های *اشریشیا کلی* و

کلبسیلا پنومونیه مشاهده می‌شود اما این مقاومت‌ها در جنس‌های دیگر انتروباکتریاسه مانند انتروباکتر، سیتروباکتر، سراشیا، پرتئوس و سالمونلا هم به دست آمده است (۱۰). شناسایی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک از جنبه‌های مهمی مانند انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب، تسریع در درمان، کاهش هزینه‌های درمانی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی، حائز اهمیت است. هدف از این مطالعه، بررسی میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی کلبسیلا پنومونیه جدا شده از نمونه‌های بالینی از بیماران بستری در بیمارستان خاتم‌الانبیا (ص) زاهدان است.

مواد و روش‌ها

مطالعه تحلیلی-توصیفی اخیر از شهریور ماه سال ۱۳۹۱ تا اردیبهشت ماه ۱۳۹۲ به مدت ۷ ماه در بیمارستان خاتم‌الانبیاء (ص) زاهدان انجام گرفت.

جدایه‌های باکتری: تعداد ۱۵۸۰ نمونه بالینی مختلف از جمله ادرار، خون، چرک، خلط و مایع مغزی- نخاعی از بیماران بستری شده در بیمارستان خاتم زاهدان جمع آوری شد و ۸۳ جدایه کلبسیلا پنومونیه بر اساس کشت بر روی محیط‌های مک کانکی آگار، EMB، تست‌های IMViC و اوره آز تعیین هویت شد (۱۱). از ۸۳ جدایه مورد بررسی، تعداد ۳۳ جدایه (۴۰ درصد) از نمونه‌های ادراری، ۲۷ جدایه (۳۳ درصد) از نمونه‌های خلط، ۱۲ جدایه (۱۴ درصد) از نمونه‌های چرک، ۶ جدایه (۷ درصد) از نمونه‌های خون و ۵ جدایه (۶ درصد) از نمونه‌های مایع- مغزی نخاعی جمع‌آوری گردید.

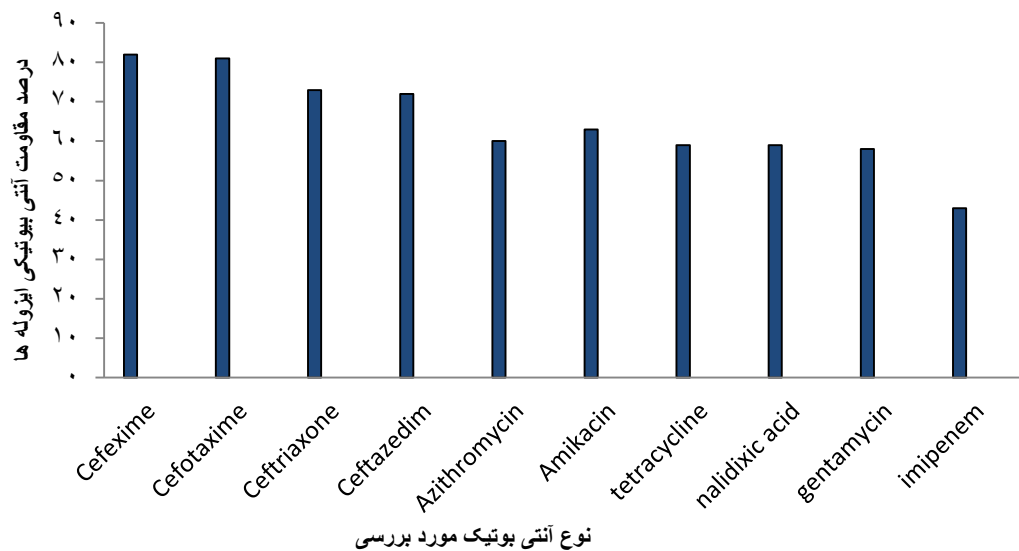
مقاومت آنتی‌بیوتیکی: مقاومت آنتی‌بیوتیکی

با استفاده از تست آنتی‌بیوگرام از طریق روش انتشار دیسک (Disk diffusion method) و توسط دیسک‌های آنتی‌بیوتیک تهیه شده از شرکت پادتن طب، ایران، شامل آمیکاسین (AMK;30ug)،

نتایج

نتایج این تحقیق در مورد ۱۰ آنتی‌بیوتیک، در نمودار ۱ بیان شده است. نتایج به‌دست آمده نشان داد که بیشترین مقاومت مربوط به سفیکسیم با ۸۲ درصد و کمترین مقاومت مربوط به ایمپی‌نم با ۴۳ درصد بود. همچنین در جدایه‌های مورد مطالعه، مقاومت نسبت به سفوتاکسیم ۸۱ درصد، سفتریاکسون ۷۳ درصد، سفتازیدیم ۷۲ درصد، آمیکاسین ۶۳ درصد، آزیترومایسین ۶۰ درصد، تتراسیکلین و نالیدیکسیک اسید ۵۹ درصد و جنتامایسین ۵۸ درصد بود.

آزیترومایسین (AZM;30ug)، سفیکسیم (CFM;5ug)، سفوتاکسیم (CTX;30ug)، سفتریاکسون (CRO;30ug)، جنتامایسین (GE;10ug)، ایمپی‌نم (IMP;10ug)، نالیدیکسیک اسید (NA;30ug)، تتراسیکلین (TE;30ug) و سفتازیدیم (CAZ;30ug) ارزیابی گردید. در این روش، سوسپانسیون میکروبی برابر غلظت نیم مک فارلند تهیه و در محیط مولر هینتون آگار، میزان مقاومت میکروبی نسبت به دیسک‌های ذکر شده به روش Kirby - Bauer و براساس استانداردهای CLSI سنجیده شد (۱۲).



نمودار ۱- درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های مورد مطالعه

درمان آنتی‌بیوتیکی این عفونت‌ها، که در سال‌های گذشته با آنتی‌بیوتیک‌های خانواده پنی‌سیلین به آسانی مؤثر بودند، متأسفانه امروزه با کسب انواع مقاومت‌ها و از جمله بروز بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (Extended-spectrum-beta-lactamases) مشکل و پرهزینه گردیده است (۱۴). اگرچه توجه بسیاری از محققین بر روی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های جدا شده از بیماران در بیمارستان‌ها و نیز باکتری‌هایی که به طور مستقیم

بحث و نتیجه‌گیری

نقش باکتری‌های فرصت‌طلب به عنوان عوامل اصلی و شایع عفونت‌های بیمارستانی در کلیه سنین کاملاً مشخص است (۱۳). با توجه به این که اعضای خانواده انتروباکتریاسه عامل عمده عفونت‌های بیمارستانی می‌باشند و برخی از آنها به عنوان اعضای فلور طبیعی، سبب ایجاد عفونت‌های فرصت‌طلب می‌شوند، لذا اتخاذ استراتژی مناسب در درمان این سویه‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

اثر مخرب بر روی سلامتی انسان دارند معطوف شده است، اما گسترش مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها یک پدیده اکولوژیکی طبیعی است که حاصل میلیون‌ها سال تکامل است (۱۵).

به دلیل استفاده وسیع از آنتی‌بیوتیک‌ها در جهان در بخش‌های مختلف از جمله پزشکی، درمان حیوانات، کشاورزی، پرورش زنبور عسل، صنایع نفت و دریایی و نیز استفاده در برخی از آزمایشگاه‌ها جهت مطالعات و دستکاری‌های ژنتیکی، فشار تکاملی برای ظهور مقاومت آنتی‌بیوتیکی بسیار بالا است (۱۹-۱۶).

در مطالعه حاضر مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های روتین مورد استفاده در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی نسبتاً بالا بود و بیشترین مقاومت‌ها به ترتیب به سفکسیم (۸۲ درصد)، سفوتاکسیم (۸۱ درصد)، سفتریاکسون (۷۳ درصد)، سفتازیدیم (۷۲ درصد) مشاهده شد، در حالی که ۶۳ درصد و ۵۸ درصد ایزوله‌ها، به ترتیب، به آمینوگلیکوزیدهای آمیکاسین و جنتامایسین مقاوم بودند. یافته‌های تحقیق حاضر، نمایانگر بالا بودن میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بیماران بستری شده دارد. تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بخش‌های مختلف ایران متفاوت است. طی مطالعه‌ای که توسط قلی پور و همکاران در اصفهان انجام شد، میزان مقاومت برای آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید، جنتامایسین، سفپیم و آمیکاسین به ترتیب ۲۳ درصد، ۱۵ درصد، ۳۲ درصد و ۱۳ درصد گزارش شد که پایین‌تر از یافته‌های مطالعه حاضر بود (۲۰). همچنین طی مطالعه‌ای که در تهران توسط افتخار و همکاران انجام گرفت، الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای سفالوسپورین‌های نسل سوم نظیر سفتازیدیم، سفتریاکسون به همراه آنتی‌بیوتیک‌های دیگری نظیر آمیکاسین و جنتامایسین به ترتیب ۴۱ درصد، ۳۷

درصد، ۴۱ درصد و ۴۹ درصد گزارش شد که با الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مطالعه حاضر تفاوت دارد (۲۱). همچنین، مولانا و همکاران میزان مقاومت آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم را ۹۰ درصد و میزان مقاومت آنتی‌بیوتیک ایمپنم را ۶۰ درصد بیان کردند. بررسی این نتایج نشان می‌دهد، میزان مقاومت بیماران مورد بررسی در این تحقیق نسبت به آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم و ایمپنم نسبت به بیماران مورد بررسی توسط مولانا و همکاران کمی پایین‌تر است (۲۲). بر اساس مطالعه ساعدی و همکاران در زابل، میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی برای سفالوسپورین‌های نسل سوم نظیر سفتریاکسون و سفتازیدیم ۱۰۰ درصد گزارش شد که کمی بالاتر از یافته‌های مطالعه حاضر بود (۲۳). این تفاوت‌ها می‌تواند به علت مصرف بی‌رویه و غیر اصولی آنتی‌بیوتیک‌ها به ویژه سفالوسپورین‌های نسل سوم و پیدایش سویه‌های مقاوم به چندین کلاس دارویی در منطقه مورد مطالعه باشد. در مطالعه حاضر میزان مقاومت به سفالوسپورین‌های نسل سوم بالا بود که می‌تواند نشان‌دهنده آن باشد که سویه‌های مقاوم، در شهرستان زاهدان، ممکن است به دلیل رفت و آمد بسیار مهاجران از کشورهای همسایه وارد شده باشند.

همه نتایج حاصل از مطالعه حاضر نگران‌کننده و نشان از افزایش رو به رشد مقاومت‌های چند دارویی در بین باکتری‌های بیماری‌زای بیمارستانی دارد. انتقال این ایزوله‌های بیمارستانی به افراد جامعه ممکن است سبب گسترش مقاومت دارویی و بیماری‌زایی در جامعه به ویژه در افرادی که دارای ضعف سیستم ایمنی هستند، شود. نتایج حاصله نشان از آن دارد که آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام معمول، عملاً در درمان عفونت‌های بیش از ۵۵ درصد جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه در منطقه مورد مطالعه مؤثر نیستند و استفاده از آن‌ها در درمان،

استفاده توسط پزشکان حتماً بر اساس نتایج آنتی‌بیوگرام انجام شده توسط آزمایشگاه میکروشناسی بالینی باشد.

علاوه بر بالا رفتن هزینه‌های درمانی، سبب بروز هر چه بیشتر مقاومت دارویی خواهد شد. در نتیجه ضرورتاً پیشنهاد می‌شود که رژیم درمانی مورد

References

1. Escudero E, Vinue L, Teshager T, Torres C, Moreno MA. Resistance mechanisms and farm-level distribution of fecal *Escherichia coli* isolates resistant to extended-spectrum cephalosporins in pigs in Spain. *Res Vet Sci*. 2010; 88(1):83-7.
2. Lye DC, Kwa AL, Chlebicki P. World Health Day: antimicrobial resistance and practical solutions. *Ann Acad Med Singapore*. 2011; 40(4):156-52.
3. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla (NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009; 53(12):5046-54.
4. Mendonc N, Manageiro V, Robin F, Salgado MJ, Ferreira E, Canic M. The lys234Arg substitution in the enzyme SHV-72 is a determination for resistance to clavulanic acid inhibition. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008; 52(5):1806-11.
5. Walsh TR, Toleman MA. The Emergence of pan-resistant gram-negative pathogens merits a rapid global political response. *J Antimicrob Chemother*. 2012; 67:1-3.
6. Bano RJ, Picon E, Gijon P, Hernandez JR, Cisnero S, Pena C et al. Risk factor and prognosis of nosocomial blood stream infections caused by extended-spectrum Blactamase producing *E.coli*. *J Clin Microbiol*. 2010; 48(5):1726-1731.
7. Gould FK, Brindle R, Chadwic PR, Fraise AP, Hill D, Nathwani D, et al. Guidelines for the prophylaxis and treatment of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections in the UK. *J antimicrob chemother*. 2009; 63(5):849-861.
8. Hiramatsu K. Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance. *lancet infect dis*. 2001;1(3):618-623.
9. Lowly FD. Antimicrobial resistance; the example of *Staphylococcus aureus*. *J clin invest*. 2003; 111 (9):1265-1273.
10. Washington C, Stephen A, Janda W, et al. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins. 2006:775-9.
11. Al-Zarouni M, Senok A, Rashid F, Al-Jesmi SM, Panigrahi D. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in the United Arab Emirates. *Med Princ Pract*. 2008; 17(1):32-6.
12. Gangoue PJ, Koulla ShS, Ngassam P, Adiogo D, Ndumbe P. Antimicrobial activity against gram negative bacilli from Yaounde Central Hospital, Cameroon. *Afr Health Sci*. 2006; 6(4):232-35
13. Patel JB, Weinstein MP, Eliopoulos JM, Jenkins SJ, Lewis II JS, Limbago B, et al. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performans Standards for Antimicrobial Susceptibility Institute, Pennsylvania, USA, 2017.
14. Marty I, Jarlier V. Surveillance of multire-sistant bacteria: justification, role of the laboratory, indicators, and recent French data. *Progress en Ur-logie*. 1999; 9:41-49.
15. Bhullar K, Waglechner N, Pawlowski A, Koteva K, Banks ED, Johnston MD, et al. Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave micro-biome. *PLoS One*. 2012; 7(4):e34953.
16. Rabani Z, Mardaneh J. Emergence of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Detection of Isolates harboring blaCTX gene causing infections in hospital and determination of their susceptibility to antibiotics. *Armaghane danesh*. 2015; 20(8):689-705.
17. D'Costa VM, King CE, Kalan L, Morar M, Sung WW, Schwarz C, et al. Antibiotic resistance is ancient. *Nature*. 2011; 477(7365):457-461.
18. Hernández J, Stedt J, Bonnedahl J, Molin Y, Drobni M, Calisto-Ulloa N, et al. Human-associated extended-spectrum β -lactamase in the Antarctic. *Appl Environ Microbiol*. 2012; 78(6):2056-8.
19. Gholipour A, Soleimani N, Shokri D, Mobasherizadeh S, Kardi M, Baradaran A. Phenotypic and Molecular Characterization of Extended-Spectrum beta-Lactamase Produced by *Escherichia coli*, and *Klebsiella pneumoniae* Isolates in an Educational Hospital. *Jundishapur J Microbiol*. 2014; 7(10): e11758.
20. Eftekhari F, Rastegar M, Golalipoor M, Mansoursamaei N. Detection of extended spectrum B-lactamases in urinary isolates of *Klebsiella pneumoniae* in relation to Bla, Bla and Bla Gene Carriage. *Iran J Public Health*. 2012; 41(3):127-32.
21. Molana Z, Ferdosi Shahandashti E, Gharavi S, Shafii M, Norkhomami S, Ahangarkani F, et al. Molecular Investigation of

Class I Integron in *Klebsiella Pneumoniae* Isolated from Intensive Care Unit (Shahid Beheshti Hospital of Babol; 2010). J Babol Univ Med Sci. 2011; 13(6):7-13. [In Persian]

22. Saeidi S, Ghamgosha M, Ali Taheri R, Shiri Y, Solouki M, Hassanpour K, et al. Phenotypic and genotypic detection of extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections in Zabol. J Coast Life

Med. 2014; 2(9):732-7.

23. Saeidi S, Ghamgosha M, Ali Taheri R, Shiri Y, Solouki M, Hassanpour K, et al. Phenotypic and genotypic detection of extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections in Zabol. J Coast Life Med. 2014; 2(9):732-7.

Antibiotic resistance survey of *Klebsiella pneumonia* isolates collected from clinical specimens in Khatam (PBUH) Hospital, Zahedan

Bahman Hormozi¹, Mahboubeh Barkzai², Zahra Rasheki Ghalehnoo^{*3}

1- MSc in Genetics, Zabol educational office, Zabol, Iran.

2- MSc in Genetics, Zahak Seyed-al-Shohada Hospital, Zabol, Iran.

3- Departments of Microbiology and Parasitology, Faculty of Medicine, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran.

Receive: March 12, 2018; Revise: February 4, 2018; Accept: January 8, 2018

Summary

Klebsiella pneumoniae is the one of UTI bacteria and relevant opportunistic pathogen that causes nosocomial infections. Antibiotic resistance of the *Klebsiella* species is increasing nowadays; therefore, antibiogram test is necessary before prescribing antibiotics. This research is aimed to determine the rate of antibiotics resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical specimens of patients referred to Khatam hospital during September 2013 to May 2014 using Kirby-Bauer method. This descriptive and analytic survey was performed on 83 isolates of *Klebsiella pneumonia* collected from Khatam hospital. After phenotypical and biochemical identification of isolate, drug resistance was investigated for 10 antibiotics through the standard CLSI procedure via the Kirby-Bauer method. The percentage of resistance to all of the isolates of *Klebsiella pneumonia* were Cefexime 82%/ Cefotaxime 81%/ Ceftriaxone 73%/ Ceftazidime 72%/ Amikacin 63%/ Azithromycin 60%/ Tetracycline and Nalidixic Acid 59%/ Gentamicin 58% and Imipenem 43%. The results indicated that the lowest resistance percent was for Imipenem in all tested *Klebsiella*; therefore, it can be recommended as the most effective antibiotic for *Klebsiella* isolates in study area.

Keywords: Disk diffusion, Zahedan, *Klebsiella pneumonia*, Antibiotics resistance.

