مقاله پژوهشی

الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های بالینی کلبسیلا پنومونیه جداسازی شده از بیمارستان‌های آموزشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه و تعیین حداقل غلظت بازدارندگی ایزوله‌های مقاوم به ایمی‌پنم

نرگس دارابی[1]، صابر یوسفی*[2]، مرتضی متذکر[3]، حمیدرضا خلخالی[4]

تاریخ دریافت 1394/04/15 تاریخ پذیرش 1394/06/25

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: در سال‌های اخیر سویه‌های کلبسیلا پنومونیه برخوردار از مقاومت دارویی چندگانه مشکلات درمانی زیادی را در سراسر دنیا ایجاد کرده‌اند. در حال حاضر کارباپنم‌ها اغلب به‌عنوان آخرین خط درمان آنتی‌بیوتیکی برای درمان عفونت‌های ناشی از باسیل‌های گرم منفی با مقاومت چندگانه دارویی در نظر گرفته می‌شوند. هدف از مطالعه حاضر بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی (با تأکید بر کارباپنم‌ها) جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه به‌دست‌آمده از نمونه‌های بالینی بیماران بستری و سرپایی مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های آموزشی ارومیه بود.

مواد و روش‌ها: برای انجام این مطالعه توصیفی- تحلیلی تعداد 182 جدایه کلبسیلا پنومونیه موردبررسی قرار گرفتند. کلیه جدایه‌های باکتریایی پس از انجام آزمایش‌های استاندارد میکروب‌شناسی دوباره تعیین هویت شدند. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نمونه‌های تأییدشده نسبت به 12 آنتی‌بیوتیک مختلف با روش استاندارد انتشار از دیسک (کربی- بائر) تعیین شد و حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) ایمی‌پنم برای جدایه‌ها به روش E-test تعیین گردید.

یافته‌ها: از مجموع 253 جدایه بالینی، 182 جدایه به‌عنوان کلبسیلا پنومونیه شناسایی گردیدند. 43 جدایه (23/6درصد) مقاوم به ایمی‌پنم و 45 جدایه (24/7درصد) فنوتیپ‌های برخوردار از مقاومت چندگانه دارویی (MDR) بودند. این جدایه‌ها مقاومت بالا به ایمی‌پنم و مروپنم را نشان دادند. حداقل غلظت بازدارندگی ایمی‌پنم برای ایزوله‌های مقاوم به برابر یا بیشتر از 32mg/l بود.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به شیوع نسبتاً بالای مقاومت نسبت به ایمی‌پنم بخصوص در جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه به‌دست‌آمده از بیماران بستری در بخش‌های ویژه در بیمارستان‌های موردمطالعه و گزارش‌های مختلف از سایر کشورها، وجود تدابیر سخت گیرانه در تجویز آنتی‌بیوتیک‌های کارباپنم ضروری به نظر می‌رسد. همچنین به‌منظور جلوگیری از مصرف خودسرانه این‌گونه آنتی‌بیوتیک‌ها انجام تست‌های تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی اهمیت ویژه‌ای در انتخاب درمان مناسب و جلوگیری از شیوع مقاومت دارویی دارد.

واژگان کلیدی: مقاومت دارویی، کلبسیلا پنومونیه، کارباپنم، حداقل غلظت بازدارندگی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره هشتم، ص 642-634، آبان 1394

آدرس مکاتبه: ارومیه، جاده نازلو، دانشکده پزشکی، گروه میکروب‌شناسی، تلفن: 09143415968

Email: yousefi_s@umsu.ac.ir

مقدمه

اهمیت بالینی جنس کلبسیلا منجر به تقسیم‌بندی این جنس، به سه گونه مرتبط با بیماری‌زایی گردید: کلبسیلا پنومونیه، کلبسیلا اوزانه و کلبسیلا رینواسکلروماتیس. کلبسیلا پنومونیه مهم‌ترین گونه بیماری‌زا از جنس کلبسیلا است(1). این باکتری یکی از پاتوژن‌های مهم عامل عفونت‌های محوطه شکمی، عفونت‌های دستگاه ادراری، سپتی سمی، عفونت بافت‌های نرم و باکتریمی اولیه می‌باشد.

[1] دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران و کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

[2] استادیار میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران و مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

[3] دانشیار ویروس شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

[4] دانشیار آمار زیستی، گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

جدایه‌های مولد این عفونت‌ها قبلاً نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام (بجزپنی سیلین) حساس بودند ولی در طی دو دهه گذشته مقاومت به بتالاکتام ها به‌واسطه تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف توسعه پیداکرده است(2). این باکتری به‌عنوان یک باکتری بیماری‌زای فرصت‌طلب در افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی و همچنین افرادی که از انواع بیماری‌های زمینه‌ای رنج می‌برند مطرح می‌باشد(3). کلبسیلا پنومونیه از سال 1984 به‌عنوان یکی از شایع‌ترین عوامل عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان و به‌عنوان گونه برخوردار از مقاومت‌های چندگانه دارویی شناخته شده است(1). افزایش شیوع مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در سال‌های اخیر یکی از چالش‌های اساسی در حوزه بهداشت و درمان محسوب می‌شود(4). مکانیسم‌های مقاومت به کاربانم‌ها در انتروباکتریاسه‌ها ازجمله کلبسیلا پنومونیه در ارتباط با تغییر نفوذپذیری غشا، تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف، تغییرات در منافذ پورینی باکتری‌ها و بیان ژن‌های سیستم افلاکس می‌باشد(5). همچنین حضور ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی بر روی پلاسمیدها باعث تسهیل انتشار مقاومت‌های دارویی در بین باکتری‌های بیماری‌زا شده است. یکی از مهم‌ترین دلایل پیدایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان باسیل‌های گرم منفی، تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف و نیز تغییر آنزیمی آمینوگلیکوزیدهاست که به ترتیب عامل مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی و آمینوگلیکوزیدها می‌باشند(4). در حال حاضر گسترش سویه‌های دارای مقاومت چندگانه[1] فنوتیپ در میان گونه‌های مختلف باکتریایی یک تهدید عمده محسوب می‌شود که منجر به ایجاد انواع مختلفی از عفونت‌های مقاوم به درمان می‌گردد(5). کاربانم‌ها اغلب به‌عنوان آخرین خط درمان آنتی‌بیوتیکی برای عفونت‌های ناشی از باسیل‌های گرم منفی با مقاومت چندگانه دارویی در نظر گرفته می‌شوند(6, 7).

این آنتی‌بیوتیک‌ها فعالیت گسترده‌ی ویژه با اثرات ماندگاری طولانی برعلیه باکتری‌های گرم منفی مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک دارند، بنابراین مقاومت در برابر این آنتی‌بیوتیک‌ها یک چالش اساسی در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها به‌حساب می‌آید زیرا درمان عفونت‌های ناشی از سوش‌های مقاوم کلبسیلا پنومونیه به‌ویژه جدایه‌های تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف[2] و جدایه‌های برخوردار از مقاومت دارویی چندگانه[3]، بسیار سخت و پرهزینه می‌باشد (8, 9).

با توجه به گزارش‌های متعدد از شیوع روزافزون مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی از نقاط مختلف دنیا و تغییرات الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های به‌دست‌آمده از مناطق جغرافیایی مختلف که می‌تواند با مصرف خودسرانه و تجویز غیراصولی آنتی‌بیوتیک‌ها مرتبط باشد، اطلاع از الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی این باکتری برای درمان مناسب بسیار کارآمد خواهد بود. در این تحقیق الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه جداسازی شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان‌های آموزشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه بررسی و حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) ایمی‌پنم به‌عنوان آخرین راهکار درمانی سویه‌های دارای مقاومت چندگانه دارویی برای جدایه‌های تحت بررسی تعیین شد.

مواد و روش‌ها

جدایه‌های باکتریایی:

در این مطالعه تحلیلی- توصیفی حجم نمونه بر اساس مطالعات مشابه قبلی 182 جدایه کلبسیلا پنومونیه تعیین شد که این نمونه‌ها از مراجعه‌کنندگان سرپایی و بیماران بستری در چهار بیمارستان آموزشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه در فاصله زمانی آذرماه 1392 لغایت شهریورماه 1393 جمع‌آوری شد. نمونه‌های مختلف کلینیکی شامل ادرار، خلط، خون، زخم، ترشحات ریوی و ترشحات چشم از بخش‌های عمومی، CCU،ICU، قلب، داخلی، جراحی، اورولوژی، نفرولوژی، دیالیز، پیوند کلیه، اطفال و بیماران سرپایی برای جداسازی کلبسیلا پنومونیه موردبررسی قرار گرفتند. بعد از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، جهت اطمینان از جنس و گونه باکتری کشت و آزمایش‌های میکروسکوپی، ماکروسکوپی و بیوشیمیایی بر روی جدایه‌ها انجام گرفت. در مرحله اول باکتری‌های جمع‌آوری‌شده بر روی محیط ائوزین متیلن به لو (EMB) به‌عنوان محیط انتخابی باسیل‌های گرم منفی کشت داده شد و به مدت 24-18 ساعت در انکوباتور 37 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از رشد باکتری‌ها، با انجام رنگ‌آمیزی گرم و تست‌های استاندارد میکروب‌شناسی نظیر اکسیداز، تخمیر قند لاکتوز و گلوکز در محیط TSI، تحرک، ایندول، تولید SH2 در محیط SIM، آزمون سیترات و اوره، تعدادی از جدایه‌ها به‌عنوان باکتری‌های متعلق به جنس و گونه کلبسیلا پنومونیه تعیین هویت شدند. کلنی‌های خالص هر یک از جدایه‌ها برای انجام مراحل بعدی تحقیق در میکرو تیوب‌های حاوی محیط نگه‌دارنده Skim milk حاوی 10درصد گلیسرول در دمای 70- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تست تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی:

[1] Multiple drug resistance (MDR)
[2] extended spectrum beta lactamases (ESBLs)
[3] multiple drug resistant

الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها با استفاده از روش انتشار از دیسک (کربی- بائر) بر روی محیط مولر هینتون آگار (Conda) با توجه به دستورالعمل CLSI2014 (clinical laboratory standards institute) انجام شد. دیسک‌های مورداستفاده شامل ایمی‌پنم (10 میکروگرم)، ارتاپنم (10 میکروگرم)، آزترونام (10 میکروگرم)، سفه پیم (30 میکروگرم)، سفتازیدیم (30 میکروگرم)، کانامایسین (30 میکروگرم)، جنتامیسین (10 میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (30 میکروگرم)، سفوتاکسیم (30 میکروگرم)، آمیکاسین (30 میکروگرم)، توبرامایسین (10 میکروگرم) و کلی سیتین (25 میکروگرم) بودند که از شرکت MAST انگلستان تهیه شدند. همچنین از سویه‌های استاندارد K. pneumoniae ATCC 100031 و E.coli ATCC 25922 برای کنترل کیفی تست‌های تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی استفاده شد.

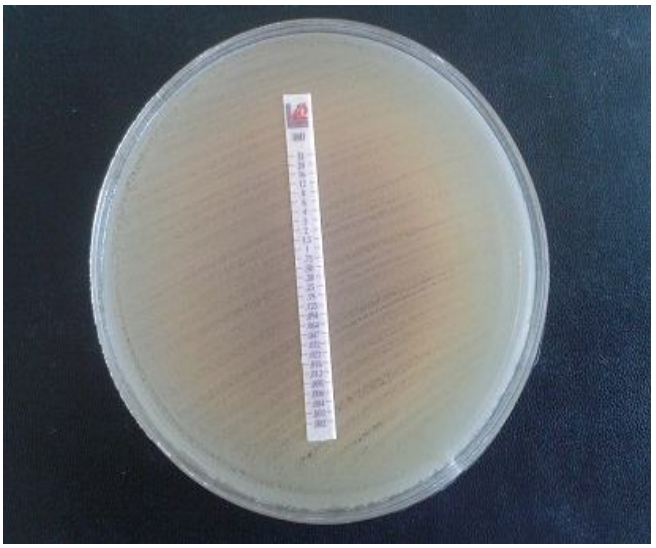
برای انجام تست تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ابتدا سوسپانسیون باکتریایی معادل کدورت نیم مک فارلند از هریک از جدایه‌ها تهیه شد و با سوآپ استریل بر روی سطح محیط کشت مولر هینتون آگار (Conda) به‌صورت چمنی کشت داده شد، سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی موردنظر با فاصله 25-20 میلی‌متر از همدیگر بر روی محیط کشت قرار داده شدند. پلیت‌های مذکور به مدت 18-16 ساعت در انکوباتور 37 درجه قرار داده شدند و پس از اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد و مقایسه آن با جداول مربوطه در راهنمای CLSI 2014 نتایج قرائت و جدایه تحت بررسی به‌عنوان حساس (S)، نیمه حساس (I) و مقاوم (R) ثبت گردید(10).

تست حداقل غلظت مهارکننده ایمی‌پنم برای جدایه‌های مقاوم:

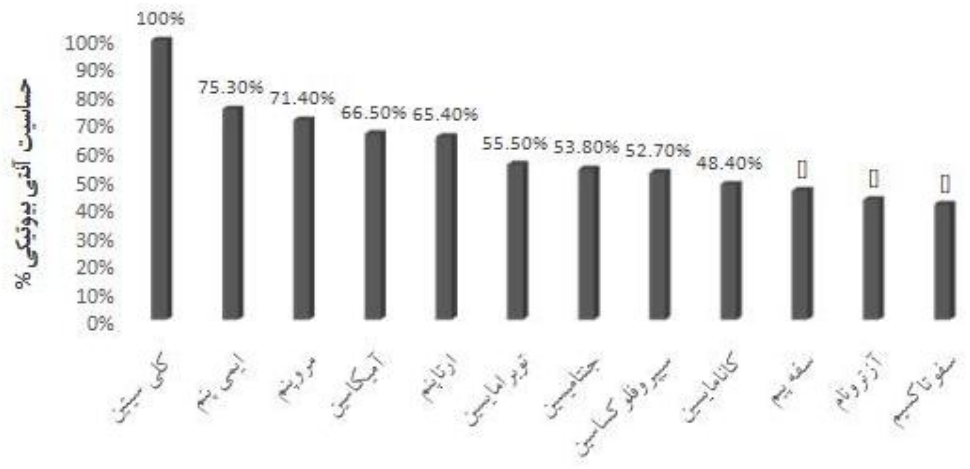
جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه مقاوم به کارباپنم‌ها برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی ایمی‌پنم (Minimuminhibitor concentration;MIC) انتخاب شدند و برای این منظور از نوارهای E-test (Liofilchem, Italy) با دامنه غلظتی 32 mg/L - 0/002 بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. به‌طور خلاصه برای تعیین MIC ایمی‌پنم سوسپانسیون باکتریایی معادل کدورت نیم مک فارلند از کشت خالص تهیه و به‌صورت چمنی در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. پس از 15 دقیقه نوار ایمی‌پنم در سطح اگار قرار داده شد. محیط کشت به مدت 18-16 ساعت در انکوباتور 37 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای قرائت نتیجه MIC بعد از طی مدت مذکور، هاله عدم رشد که به شکل بیضی در طول نوار تشکیل‌شده بررسی شد و نقطه ایی از نوار مدرج E-test که توسط هاله عدم رشد بیضی‌شکل قطع شده بود نشان‌دهنده MIC آنتی‌بیوتیک برای جدایه تحت آزمایش بود.

یافته‌ها

از مجموع 253 جدایه باکتریایی جمع‌آوری‌شده از آزمایشگاه‌های تشخیصی بیمارستان‌های آموزشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، 182 جدایه به‌عنوان کلبسیلا پنومونیه شناسایی شدند. از این تعداد، 100 جدایه (54/9درصد) از خانم‌ها و 82 جدایه (45/1درصد) از آقایان به دست آمد. بر اساس نتایج حاصل بیشترین میزان حساسیت جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه موردمطالعه به ترتیب نسبت به کلی ستین (100درصد) ایمی‌پنم (75/3درصد)، و مروپنم (71/4درصد) بود. بیشترین میزان مقاومت جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه به ترتیب نسبت به سفوتاکسیم (58/8درصد)، آزترونام (55/5درصد) و سفه پیم (50درصد) مشاهده شد. نتایج تفضیلی تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورداستفاده در این تحقیق در نمودار شماره یک آورده شده است. بیشترین جدایه‌ها از نمونه‌های ادرار 137(75/3درصد) به دست آمد که فراوانی این جدایه‌ها در خانم‌ها بیشتر از آقایان بود (جدول 2) و کمترین تعداد از نمونه‌های تراشه 2 جدایه (1/1درصد) به دست آمد. فراوانی جداسازی کلبسیلا پنومونیه از سایر نمونه‌های بالینی و همچنین بخش‌های بیمارستانی به تفکیک در جدول شماره سه نشان داده شده است. هم‌چنین 58/8درصد ایزوله‌ها مربوط به بیماران بستری و 41/2درصد نمونه‌های ایزوله شده از بیماران سرپایی بود. اطلاعات مربوط به فراوانی نمونه‌ها با در نظر گرفتن بخش‌های بیمارستانی و نوع نمونه جمع‌آوری‌شده، در جدول شماره 3 به تفکیک بیان گردیده است. در ارتباط با الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، از مجموع 182 جدایه کلبسیلا پنومونیه 43 مورد (24/7درصد) دارای مقاومت دارویی چندگانه و مقاوم به ایمی‌پنم بودند. بیشترین تعداد جدایه‌های مقاوم به ایمی‌پنم از بخش داخلی 26 مورد (14/3درصد) و بخش مراقبت‌های ویژه 20 مورد (11/8درصد) به دست آمدند. بر اساس نتایج حاصل MIC ایمی‌پنم در مورد جدایه‌های مقاوم به این آنتی‌بیوتیک، 32≧ میلی‌گرم بر لیتر تأیید گردید (شکل 1). مطابق دستورالعمل CLSI 2014 درصورتی‌که حداقل غلظت بازدارندگی نسبت به ایمی‌پنم بیشتر از 4 میکروگرم بر میلی‌لیتر باشد، جدایه تحت بررسی به‌عنوان مقاوم گزارش می‌گردد. داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 16 و با آزمون‌های فراوانی مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرار گرفت.



شکل (۱): نتیجه E-test جدایه کلبسیلا پنومونیه مقاوم به ایمی‌پنم با MIC≥32 mg/l



نمودار (۱): حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های بالینی کلبسیلا پنومونیه

جدول (۱): مقایسه حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های بالینی کلبسیلا پنومونیه در مطالعه حاضر و برخی مطالعات انجام‌شده در ایران

محققین	سال تحقیق	ایمی‌پنم	سیپروفلوکساسین	سفه پیم	سفوتاکسیم	آمیکاسین	جنتامیسین	کلی سیتین
مطالعه حاضر	93	75/3	52/7	46/2	41/2	66/5	53/8	100
یوسفی مشعوف- همدان	92	100	74/2	65	54/2	---	71/7	---
طبیب نژاد- اراک	92	96	---	90	8	94	92	100
هاشمی زاده- شهرکرد	91	75/2	77/2	---	53/5	77/2	65/8	---
سلطان دلال- تهران	90	98	---	---	---	100	70	45
ملاعباس زاده- تهران	90	49/3	---	---	52/7	62/2	---	---
لنگری زاده- تبریز	89	56	35	---	---	26	15	---
محمدی مهر- گلستان	89	92	32	12	12	4	52	---
اعتمادی-تهران	83	100	---	---	68/8	80/8	---	---

جدول (۲): فراوانی نسبی جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه به تفکیک نمونه‌های بالینی و جنس بیماران

جنس نمونه	مرد	زن	مجموع
	تعداد (%)	تعداد (%)	تعداد
ادرار	54(29/7)	83(45/9)	137
خلط	17(9/4)	7(3/9)	24
تراشه	2(1/1)	0	2
ترشحات زخم	4(2/2)	2(1/1)	6
کشت خون	4(2/2)	4(2/2)	8
ترشحات چشم	4(2/2)	1(0/6)	5

جدول (۳): فراوانی جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه به تفکیک بخش‌های بیمارستانی و نمونه‌های بالینی

نمونه بالینی	ادرار	خلط	تراشه	ترشحات زخم	کشت خون	ترشحات چشم	مجموع
بخش	تعداد (%)	تعداد (%)	تعداد (%)	تعداد (%)	تعداد (%)	تعداد (%)	تعداد
قلب	6(3/3)	0	0	0	0	0	6
ICU	4(2/2)	7(3/8)	2(1/1)	3(1/6)	1(0/5)	1(0/5)	18
داخلی	9(4/9)	16(8/8)	0	0	1(0/5)	0	26
جراحی	6(3/3)	0	0	0	0	0	6
ارولوژی	6(3/3)	0	0	0	0	0	6
تروما	10(5/5)	0	0	0	0	0	10
دیالیز	0	0	0	0	1(0/5)	0	1
نفرولوژی	5(2/7)	0	0	0	1(0/5)	0	6
پیوند کلیه	11(6/0)	0	0	0	0	0	11
جنرال	4(2/2)	0	0	0	0	0	4
اطفال	5(2/7)	0	0	2(1/1)	1(0/5)	4(2/2)	12
سرپایی	71(39/0)	0	0	1(0/5)	3(1/6)	0	75
CCU	1(0/5)	0	0	0	0	0	1

بحث و نتیجه‌گیری

اعضای خانواده انتروباکتریاسه نقش اساسی در عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان ایفا می‌کنند. این باکتری‌ها عامل ایجادکننده پنومونی، عفونت‌های خون، عفونت‌های ادراری و.... هستند. در میان اعضای این خانواده، کلبسیلا پنومونیه باکتری پاتوژن های فرصت‌طلبی است که عمدتاً به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت دارد. مقاومت‌های دارویی در این باکتری با مکانیسم‌های متعددی کسب می‌شوند که ازجمله می‌توان به حضور بتالاکتامازهای وسیع الطیف اشاره کرد. آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی داروهایی هستند که عموماً برای درمان چنین عفونت‌های ناشی از جدایه‌های مقاوم به کار می‌روند. در بسیاری از موارد، تنها گزینه درمانی برای درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی مقاوم، استفاده از کارباپنم‌ها می‌باشد. این گروه از داروهای بتالاکتامی به دلیل سمیت پایین برای بیمار بسیار موردتوجه‌اند.

در سال‌های اخیر به دلیل استفاده بی‌رویه و نامناسب از آنتی‌بیوتیک‌ها، میزان مقاومت دارویی در باسیل‌های گرم منفی ازجمله کلبسیلا پنومونیه افزایش یافته است. مقاومت‌های دارویی با افزایش میزان مرگ‌ومیر و افزایش هزینه‌های درمانی همراه است. جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه با قدرت تهاجمی بالا، در بیماران بستری در بخش‌های ویژه، به دلیل کاهش دفاع سیستم ایمنی میزبان، قادر به ایجاد عفونت‌های بیمارستانی در این دسته از بیماران می‌باشد. ازاین‌رو تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جهت انتخاب درمان مناسب عفونت‌های ناشی از این باکتری ضروری به نظر می‌رسد.

در مطالعه حاضر بیشترین میزان حساسیت جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه به کلی سیتین (100درصد) و ایمی‌پنم

(75/3درصد) مشاهده شد. کمترین میزان حساسیت جدایه‌های موردبررسی به سفوتاکسیم (41/2درصد) و آزترونام (42/9درصد) گزارش گردید. در مطالعه قلی پور و همکاران در سال 93 از 21 ایزوله کلبسیلا پنومونیه، 62درصد از بیماران بستری در بیمارستان و 38درصد از بیماران سرپایی ایزوله گردید این نتیجه با نتایج تحقیق حاضر 58/8درصد از بیماران بستری و 41/2درصد بیماران سرپایی هم‌خوانی داشت. در این مطالعه میزان حساسیت به ایمی‌پنم 100درصد گزارش گردید، در مطالعه حاضر علی‌رغم مؤثر بودن ایمی‌پنم در درمان، حساسیت جدایه‌ها کمتر بود(75/3درصد). همچنین در این مطالعه کمترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک آمیکاسین (12/5درصد) مشاهده شد که این نتیجه نیز با مطالعه حاضر (27/5درصد) همسو بود(11). مطالعه دیگری که توسط سلطانی و همکاران در سال 92 انجام شد، مؤید حساسیت 100 درصد ایزوله‌ها به ایمی‌پنم و مروپنم بود. در این مطالعه کمترین میزان حساسیت مربوط به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین 20 درصد و آمیکاسین 46/7 درصد بود، که با نتایج حاصل هم‌خوانی نداشت. در این مطالعه مؤثرترین آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت‌های ناشی از اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه، ایمی‌پنم و مروپنم بود(12). اعتمادی و همکاران نیز در سال 83 مطالعه‌ای را باهدف تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه انجام دادند که نتایج نشان‌دهنده انتخاب ایمی‌پنم به‌عنوان مؤثرترین دارو در درمان ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه مولد آنزیم بتالاکتاماز بود. در این بررسی نیز حساسیت به ایمی‌پنم 100 درصد بود و کمترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک آمیکاسین 20 درصد مشاهده شد. در مطالعه حاضر نیز بیشترین جدایه‌ها از نمونه‌های ادراری(78 درصد) به دست آمد(13). بنابراین نتایج حاصل با مطالعه حاضر (75/3 درصد) همسو بود. نتایج تحقیق سلطان دلال و همکاران نیز در سال 91 به‌منظور تعیین الگوی حساسیتی در جدایه‌های بالینی کلبسیلا پنومونیه به‌دست‌آمده از بیماران بستری، نشان داد که مؤثرترین آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها ایمی‌پنم می‌باشد.

در این مطالعه میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک کلی سیتین (55درصد) گزارش گردید که با نتایج بررسی حاضر (100درصد) مغایرت داشت. در این بررسی نیز مانند نتایج قبلی بیشترین جدایه‌ها از نمونه‌های ادراری به دست آمد(14). مطالعه‌ای که توسط sharmin و همکاران در سال 2009 در بنگلادش انجام شد، میزان حساسیت جدایه‌های کبسیلا پنومونیه به ایمی‌پنم را 100 درصد و به آمیکاسین را 60 درصد نشان داد. در این مطالعه میزان حساسیت ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، جنتامیسین و سفتازیدیم کاهش نشان داد(15). مطالعه Bao در سال 2012 در چین حساسیت جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم، سیپروفلوکساسین، سفوتاکسیم، سفه پیم و آمیکاسین به ترتیب 89/1درصد ،73/1درصد، 66/3درصد، 80/4درصد و 80/4درصد گزارش نمود. در این مطالعه با توجه به سطح پایین مقاومت جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه موردمطالعه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مذکور، ایمی‌پنم به‌عنوان داروی مؤثر در درمان عفونت‌های ناشی از جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه معرفی شد(16). نتایج تحقیق kyungwon lee و همکاران در سال 2007 در کره نشان داد که جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه تحت بررسی به میزان 100 درصد نسبت به ایمی‌پنم و مروپنم حساس بودند. همچنین در این مطالعه میزان مقاومت به آمیکاسین 18 درصد و به جنتامیسین 22 درصدگزارش گردید(17).

نتایج حاصل از آنتی بیوگرام جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه نشان‌دهنده مؤثر بودن کاربانپم‌ها ازجمله ایمی‌پنم در درمان عفونت‌های ناشی از این جدایه‌ها می‌باشد(18). یافته‌های مطالعه حاضر حاکی از شیوع مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی ازجمله ایمی‌پنم، مروپنم و ارتاپنم می‌باشد. اگرچه در مطالعه حاضر مؤثرترین آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت‌های ناشی از کلبسیلا پنومونیه، بعد از کلی ستین رده آنتی‌بیوتیکی کاربانپم‌ها بود، ولی در مقایسه با مطالعات قبلی میزان مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها افزایش یافته است. دلیل این امر می‌تواند ناشی از شیوع جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه برخوردار از مقاومت‌های دارویی چندگانه در بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستانی و شیوع عفونت‌های بیمارستانی باشد. علاوه بر آن تفاوت در نتایج تست‌های تعیین حساسیت جدایه‌ها در مناطق مختلف می‌تواند به دلیل تفاوت شیوع مقاومت‌های دارویی و نیز نوع عفونت در مناطق مختلف باشد.

در دهه اخیر به دلیل افزایش استفاده بی‌رویه و غیراصولی از آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان، بخصوص در بخش‌های مراقبت‌های ویژه و بیماران بستری در بیمارستان، مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان پاتوژن های فرصت‌طلب در حال افزایش است. از طرف دیگر به دلیل کسب ژن‌های مقاومت از طریق پلاسمیدی، امکان انتقال مقاومت در بین سویه‌های پاتوژن بخصوص اعضای خانواده انتروباکتریاسه افزایش یافته است. آنچه در زمینه شیوع مقاومت‌های دارویی در انتروباکتریاسه و به‌ویژه کلبسیلا پنومونیه حائز اهمیت است، شیوع سویه‌های برخوردار از مقاومت‌های دارویی چندگانه، در بین جدایه‌های مقاوم به رده کاربانپم‌ها است که مقاومت هم‌زمان به سایر رده‌های آنتی‌بیوتیکی شامل

آمینوگلیکوزیدها، سفالوسپورین های نسل سوم و فلوروکینولون ها را در بردارد. لذا با توجه به نتایج حاضر که شیوع مقاومت به کارباپنم‌ها و حضور سویه‌های برخوردار از مقاومت دارویی چندگانه را در بین جدایه‌های بالینی کلبسیلا پنومونیه شاهد بودیم، تشخیص، جداسازی و تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی این‌گونه جدایه‌ها در کنترل مقاومت‌های دارویی و عفونت‌های بیمارستانی ناشی از این شیوع مقاومت مؤثر بوده و به پزشکان در کنترل عفونت و درمان کمک شایانی خواهد کرد.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی پزشکی مصوب دانشگاه علوم پزشکی ارومیه می‌باشد و بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه جهت تأمین هزینه‌ها تشکر نموده، همچنین از سرکار خانم دکتر جزنی مدیر محترم گروه میکروب‌شناسی و سرکار خانم زرتشتی کارشناس محترم آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی ارومیه و نیز کارکنان آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی بیمارستان‌های آموزشی ارومیه که در محقق نمودن این طرح ما را یاری نمودند قدردانی می‌شود.

Reference:

1. Podschun R, Ullmann U. Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev 1998;11(4):589-603.
2. Nordmann P, Gniadkowski M, Giske C, Poirel L, Woodford N, Miriagou V. Identification and screening of carbapenemase‐producing Enterobacteriaceae. Clin Microbiol Infection 2012;18(5):432-8.
3. Haryani Y, Noorzaleha A, Fatimah A, Noorjahan B, Patrick G, Shamsinar A, et al. Incidence of Klebsiella pneumonia in street foods sold in Malaysia and their characterization by antibiotic resistance, plasmid profiling, and RAPD–PCR analysis. Food Control 2007;18(7):847-53.
4. Shahid M, Malik A, Akram M, Agrawal L, Khan A, Agrawal M. Prevalent phenotypes and antibiotic resistance in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae at an Indian tertiary care hospital: plasmid-mediated cefoxitin resistance. Int J Infect Dis 2008;12(3):256-64.
5. Zagorianou A, Sianou E, Iosifidis E, Dimou V, Protonotariou E, Miyakis S, et al. Microbiological and molecular characteristics of carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae endemic in a tertiary Greek hospital during 2004-2010. Euro Surveill 2012;17(7).
6. Fukigai S AJ, Kimura S, Iida T, Nishikura N, Ishii Y, Yamaguchi K. Nosocomial outbreak of genetically related IMP-1 beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae in a general hospital in Japan. Int J Antimicrob Agents 2007:306-10.
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. Al-Qadheeb NS, Althawadi S, Alkhalaf A, Hosaini S, Alrajhi AA. Evolution of tigecycline resistance in Klebsiella pneumoniae in a single patient. Ann Saudi Med 2010;30(5):404–7.
9. Wang Q, Li B, Tsang AK, Yi Y, Woo PC, Liu CH. Genotypic analysis of Klebsiella pneumoniae isolates in a Beijing hospital reveals high genetic diversity and clonal population structure of drug-resistant isolates. PloS one 2013;8(2):e57091.
10. Livermore DM, Andrews JM, Hawkey PM, Ho P-L, Keness Y, Doi Y, et al. Are susceptibility tests enough, or should laboratories still seek ESBLs and carbapenemases directly? J Antimicrob Chemother 2012;67(7):1569–77.
11. 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.

12. Soltani R, Ehsanpoor M, Khorvash F, Shokri D. Antimicrobial susceptibility pattern of extended-spectrum β-lactamase-producing bacteria causing nosocomial urinary tract infections in an Iranian referral teaching hospital. J Res Pharmacy Practice 2014;3(1):6.
13. Etemadi G SS, Amirkhani A, Asadi S, Shahrabi farahani A, Rahmati M, Feiz abadi M,. Determinatin of drug resistance of Klebsiella pneumoniae isolates and prevalence of ESBL producing strains. Tehran Med J 2004;63(7):543-50.
14. Soltan Dalal M MA, Sharifi Yazdi M, Rastgar Lari A, Rajabi Z, Avadis Yans S. Pattern of antibiotic-resistant Klebsiella strains isolated from patients hospitalized in Imam Khomeini Hospital. Pey avarde Salamt J 2012;6(4):275-81.
15. Sharmin S. Antimicrobial sensitivity pattern of uropathogens in children. Bangladesh Society of Medical Microbiologists 2009;1:18-22.
16. Bao L, Peng R, Ren X, Ma R, Li J, Wang Y. Analysis of some common pathogens and their drug resistance to antibiotics. Pakistan J Med Sci 2013;29(1):135.
17. Lee K, Lee M, Lee CH, Lee J, Roh KH, Kim S, et al. Increase of ceftazidime-and fluoroquinolone-resistant Klebsiella pneumoniae and imipenem-resistant Acinetobacter spp. in Korea: analysis of KONSAR study data from 2005 and 2007. Yonsei Med J 2010;51(6):901-11.
18. Yousefi R AP, Saidi jam M, Alikhani M, Rashidi H. The pattern of antibiotic resistance and phenotypic detection of ESBL in Klebsiella pneumoniae strains isolated from clinical specimens and determination of minimum inhibitory concentrations of imipenem and ceftazidime. Hamedan Med 2013;20 (4):295-302.

Original Article

ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY PATTERN AMONG CLINICAL STRAINS OF *KLEBSIELLA PNEUMONIA* ISOLATED FROM URMIA UNIVERSITY TEACHING HOSPITALS, AND DETERMINATION OF MIC AGAINST IMIPENEM IN RESISTANT ISOLATES

Narges Darabi[1], Saber Yousefi [2], Morteza Motazakker[3], Hamid Reza Khalkhali[4]*

Received: 6 Jul, 2015; Accepted: 16 Sep, 2015

Abstract

***Background & Aims*:** In recent years, the emergence of multi drug resistant *Klebsiella pneumonia* is responsible for many therapeutic problems all over the world. Nowadays carbapenems are often considered as the final options for antibiotic treatment of infections caused by most Gram-negative bacilli. The aim of this study was to determine antibiotic resistance pattern (with focus on carbapenems) of *K. pneumoniae*isolates from clinical specimens of in-patients and out-patients admitted to Urmia University of Medical Sciences teaching hospitals.

***Materials & Methods*:** In this descriptive-analytical study, 182 isolates of *K. pneumonia* were investigated. All bacterial isolates were identified as *K. pneumoniae* by using standard microbiological tests. Antimicrobial susceptibility testing of confirmed isolates was carried out by disk diffusion method proposed by (Kirby-Bauer) against 12 different antibiotics. The minimum inhibitory concentration (MIC) of imipenem for each isolate was determined using E-test method.

***Results*:** Accordingly, 43 isolates (23.6%) were resistant to imipenem, and 45 isolates (24.7%) belonged to multiple drug resistant (MDR) phenotypes. These isolates demonstrated high resistance to imipenem and meropenem. The MIC of imipenem for resistant isolates was ≥32 µg/ml.

***Conclusion*:** Considering the high prevalence of resistance to imipenem, especially in *Klebsiella pneumonia* isolates from patients admitted to ICU wards in the present study and various reports from other countries, precaution should be taken in the administration of these drugs. Also determination of bacterial susceptibility prior to prescription of antimicrobial agents is crucial for proper treatment and preventing the dissemination of antimicrobial resistance.

***Keywords*:** Drug resistance, *Klebsiella pneumoniae*, carbapenem, minimum inhibitory concentration

Address: Microbiology Department, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
Tel: +989143415968
Email:yousefi_s@umsu.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2015: 26(8): 642 ISSN: 1027-3727

[1] *Master Student in Microbiology, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*
[2] *Assistant Professor, Microbiology Department, Cellular and Molecular Research Center, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran (Corresponding Author)*
[3] *Associate Professor, Virology Department, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*
[4]*Associate Professor, Biostatistics Department, Student Research Center, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*