NCMBJ
Research article

New Cell Mol Biotech
j.12/45 , 2022

Scan online to view this article

Evaluating the antibiotic resistant pattern and detecting the presence of class 1 integron genes among *Klebsiella pneumoniae* isolated from urine samples in Alborz province

Leila Jabalameli*, Mahyar Rahmatpanah, Hossein Gomar, Mohammad Shokrgozar Ashkarmeidani, Javad Jamali Pabandi

Department of Microbiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

Abstract

Aim and Background: *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) is one of the important human pathogens among which emergence of antibiotic resistant results in many problems in therapeutic process. Class 1 integron genes may facilitate the conferring of antibiotic resistance among bacterial population. In the present study, isolation of *K. pneumoniae* from urine samples, determining the antibiotic resistant pattern, and evaluating the presence of class 1 integron genes were investigated.

Materials and Methods: The obtained isolated bacteria were confirmed via biochemical tests. Evaluating the bacterial resistance against 10 different antibiotics was performed by agar disk diffusion method and antibiotic resistant pattern was also determined. PCR method was used in order to detect the presence of class 1 integron genes among isolates.

Results: 80 *K. pneumoniae* were isolated from the urine sample of attendees of clinical laboratories in Karaj. Meropenem and Nitrofurantoin were the most and least effective antibiotics, respectively. 16 isolates were considered as multi drug resistance (MDR) among which resistance to all 10 tested antibiotics was also observed. 29 isolates were also positive in terms of class 1 integron genes.

Discussion: Treatment with the following antibiotics; Meropenem, Levofloxacin, Imipenem, and Gemtamicin, may be successful, since more than 80% of the isolates were susceptible to them. However, presence of MDR as well as detecting class 1 integron genes may be an alarming for infections caused by *K. pneumoniae.*

Conclusion: Knowing about the increase in the antibiotic resistance among *K. pneumoniae* isolates, the presence of MDR isolates, and also detecting the presence of genes involved in dissemination of resistant isolates may help to choose the more effective therapies.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, antibiotic resistance, class 1 integron genes, PCR, . Iau Science

Corresponding author:
Department of Microbiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran
Email: laji85@yahoo.com

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.2.1]

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۲ - شماره۴۵ - زمستان ۱۴۰۰
NCMBJ
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و حضور ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ در جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه* به‌دست آمده از نمونه‌های ادرار در استان البرز

لیلا جبل عاملی*، مهیار رحمت پناه، حسین گمار، محمد شکرگزار اشکرمیدانی، جواد جمالی پابندی

گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *کلبسیلا پنومونیه* یکی از انواع باکتری‌های بیماری‌زای انسانی مهم است که پیدایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین آن‌ها مشکلات درمانی زیادی را ایجاد کرده است. ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ می‌توانند ضمن جابه‌جایی بین باکتری‌ها، اعطای مقاومت نسبت‌به آنتی‌بیوتیک‌ها را در جمعیت تسهیل کنند. در این مطالعه، جداسازی باکتری‌های *کلبسیلا پنومونیه* از ادرار، تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ارزیابی حضور ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: جدایه های باکتریایی دریافت و تأیید آن‌ها با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی تکمیلی صورت گرفت. ارزیابی مقاومت نسبت‌به ۱۰ آنتی‌بیوتیک مختلف به‌روش انتشار دیسک در آگار انجام و الگوی مقاومت نیز اعلام شد. از روش PCR برای تعیین حضور ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ در این جدایه‌ها استفاده گردید.

یافته‌ها: ۸۰ جدایه *کلبسیلا پنومونیه* از ادرار افراد مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی در کرج، به‌دست آمد که دو آنتی-بیوتیک مروپنم و نیتروفورانتوئین به‌ترتیب دارای بیش‌ترین و کم‌ترین اثر بر روی جدایه‌ها بودند. ۱۶ جدایه به‌عنوان باکتری های مقاوم‌به چند دارو تشخیص داده شدند که برخی از آن‌ها به هر ۱۰ آنتی‌بیوتیک مورد ارزیابی مقاومت نشان دادند. ۲۹ جدایه نیز از نظر حضور ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ مثبت بودند.

بحث: با توجه‌به نتایج می‌توان درمان با آنتی‌بیوتیک‌های مروپنم، لووفلوکساسین، ایمی‌پنم و جنتامیسین که دارای درصد حساسیت بیش از ۸۰ هستند را موفقیت آمیز دانست. البته حضور جدایه‌های مقاوم‌به چند دارو و هم‌چنین تأیید وجود ژن‌های اینتگرون در جدایه-های به‌دست آمده نیز می‌تواند زنگ خطری برای مقابله با عفونت‌های ناشی از *کلبسیلا پنومونیه* باشد.

نتیجه‌گیری: اطلاع از افزایش روز افزون مقاومت در بین جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه* ادراری و همین‌طور حضور موارد مقاوم‌به چند دارو و تأیید وجود ژن‌های دخیل در انتشار جدایه‌های مقاوم می‌تواند به انتخاب روش‌های درمانی مؤثرتر کمک کند.

واژگان کلیدی: *کلبسیلا پنومونیه*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، ژن‌های اینتگرون کلاس ۱، PCR، Iau Science.

مقدمه

Klebsiella pneumoniae یک باکتری گرم منفی فرصت‌طلب است که اگرچه به‌عنوان فلور طبیعی دهان، پوست و دستگاه گوارش شناخته می‌شود اما عامل بسیاری از عفونت‌های بیمارستانی و همین‌طور اکتسابی است. از جمله بیماری‌های ایجاد شده توسط این باکتری می‌توان به پنومونی، آبسه کبدی، مننژیت، عفونت‌های خونی و عفونت دستگاه ادراری اشاره کرد

نویسنده مسئول:
گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
پست الکترونیکی: laji85@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۲۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۰۸

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.2.1]

(۳-۱). عفونت‌های مجاری ادراری با تحت تأثیر قرار دادن سالانه ۱۵۰ میلیون نفر در دنیا، به‌عنوان متداول‌ترین عفونت‌های باکتریایی شناخته می‌شوند (۴)، که به‌طور عمده ناشی از آلودگی با باکتری‌های اشرشیاکلی (۶۰ تا ۸۰٪) و *کلبسیلا پنومونیه* (۳ تا ۱۰٪) هستند (۷-۵). فاکتورهای ویرولانس *کلبسیلا پنومونیه* که منجر به محافظت باکتری در برابر سیستم ایمنی میزبان می‌شوند، متعدد بوده و شامل پلی‌ساکاریدهای کپسولی، ادهسین‌ها و عوامل کسب آهن هستند (۸). افزایش مقاومت *کلبسیلا پنومونیه* نسبت‌به آنتی‌بیوتیک‌ها، یکی از مشکلات درمان بیماری‌های ناشی از این باکتری است، به‌طوری‌که امروزه بروز چشم‌گیر مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های حائز اهمیت در درمان مثل آمینوگلیکوزیدها در بین این باکتری‌ها نیز گزارش شده است (۹). عوامل متنوعی در ایجاد و انتشار مقاومت نسبت‌به آنتی‌بیوتیک‌ها دخیل هستند که در این بین اکتساب ژن‌های مسئول ایجاد مقاومت از طریق عناصر ژنتیکی قابل تحرک به‌عنوان مهم‌ترین عامل شناخته شده‌اند (۱۰). از طرف دیگر، پیدایش *کلبسیلا پنومونیه*‌های مقاوم‌به چندین دارو (MDR) نیز مشکلات درمانی ناشی از این باکتری را بیش‌تر و پیچیده‌تر کرده است (۱۱). اینتگرون‌ها یکی از عناصر ژنتیکی قابل تحرک مهم هستند که ضمن استقرار بر روی پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و جزایر بیماری‌زایی می‌توانند به‌راحتی بین انواعی از باکتری‌ها جا به‌جا شوند (۱۲). بر اساس توالی نوکلئوتیدی ژن اینتگراز، ۵ کلاس از اینتگرون‌ها شناسایی شده‌اند (۱۳) که در بین جدایه‌های کلینیکی *کلبسیلا پنومونیه* اینتگرون کلاس ۱ فراوان‌ترین نوع بوده در حالی‌که کلاس ۲ گاهی اوقات و کلاس ۳ به‌ندرت در این باکتری‌ها گزارش شده‌اند (۱۴). از نظر ساختاری، اینتگرون‌ها از دو قطعه حفاظت شده به‌نام‌های 5'-CS و 3'-CS تشکیل شده‌اند که به‌ترتیب در دو انتهای' ۵ و' ۳ توالی قرار داشته و ناحیه متغیر مرکزی یا کاست‌های ژنی مسئول مقاومت آنتی‌بیوتیکی را احاطه می‌کنند (۱۵). در 5'-CS واقع در اینتگرون‌ها ژن اینتگراز (*IntI*)، محل نوترکیبی (*attI*) و پروموتر مشترک (Pc) قرار دارند، در حالی‌که در ناحیه 3'-CS ژن‌های *qacEΔ1* و*sul1* که به‌ترتیب مسئول مقاومت نسبت‌به مواد شوینده و سولفونامیدها هستند، واقع هستند (۱۶). در کاست‌های ژنی علاوه‌بر ژن‌های مسئول مقاومت، یک محل نوترکیبی به نام *attC* نیز واقع است که وقوع نوترکیبی بین *attI* و *attC* منجر به ورود کاست ژنی در ناحیه فرودست پروموتر توسط IntI می‌گردد (۱۷). با توجه‌به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، اهمیت اینتگرون‌ها در اعطای مقاومت و مطالعه‌هایی که نشان دهنده فراوانی بالای اینتگرون‌های کلاس ۱ و ۲ در جدایه‌های کلینیکی باکتری‌های گرم منفی هستند (۱۹،۱۸)، این مطالعه به بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و هم‌چنین ارزیابی حضور ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ در جدایه‌های به‌دست آمده از نمونه ادرار افراد مراجعه کننده به مراکز تشخیص طبی واقع در استان البرز می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

مواد: تمامی محیط‌های کشت و مواد شیمیایی استفاده شده در این تحقیق از شرکت Merck (کشور آلمان) تهیه گردید. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک از شرکت MAST (کشور انگلستان) تهیه شدند.

جدایه‌های باکتریایی به‌دست آمده از نمونه ادرار افراد مراجعه کننده

در این مطالعه که به‌صورت مقطعی – توصیفی و در بازه زمانی ۶ ماهه صورت پذیرفت، با رعایت اصول اخلاقی در مجموع ۸۰ جدایه باکتریایی به‌دست آمده از نمونه ادرار افراد مبتلا به عفونت ادراری از چندین آزمایشگاه تشخیص طبی در استان البرز جمع‌آوری شدند. با وجود این‌که آزمایشگاه‌های مربوطه با انجام تست‌های بیوشیمیایی، هویت این باکتری‌ها را به‌عنوان *کلبسیلا پنومونیه* اعلام نمودند، به‌منظور حصول اطمینان از هویت قطعی باکتری‌ها پس از تحویل، تست‌های بیوشمیایی متداول از جمله رنگ‌آمیزی گرم، رشد بر روی محیط مک کانکی، تست‌های اکسیداز، SIM ، TSI،OF، VP، MR، تجزیه سیترات و اوره نیز صورت گرفت. هم‌چنین، اطلاعاتی مانند جنسیت و رده سنی افراد مراجعه کننده در این مطالعه جمع‌آوری شدند.

تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی جدایه های *کلبسیلا پنومونیه*

به این منظور، از روش انتشار دیسک در آگار (Kirby-Bauer Disk diffusion method) مطابق با دستورالعمل موسسه استاندارد CLSI استفاده شد (۲۰). بدین‌ترتیب که سوسپانسیون جدایه‌های باکتریایی با کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند (معادل $۱/۵\times۱۰^{۸}$ باکتری) در محیط کشت مولرهینتون اگار تلقیح شدند و پس از آن سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیک در فواصل مشخص روی محیط کشت قرار داده شدند. بعد از گرماگذاری پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و به‌مدت ۱۸ ساعت، قطر

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.2.1]

هاله عدم رشد توسط خط‌کش اندازه‌گیری شده و ضمن مقایسه با جدول CLSI، تفسیر نتایج صورت پذیرفت. در این مطالعه از سویه *E.coli* ATCC 25922 به‌عنوان کنترل استفاده شد و آنتی‌بیوتیک‌های مورد ارزیابی نیز شامل: مروپنم، ایمی‌پنم، سفتریاکسون، سفتازیدیم، پیپراسیلین-تازوباکتام، لووفلوکساسین، توبرامایسین، نیتروفورانتوئین، جنتامیسین، کلرامفنیکل بودند.

ارزیابی وجود ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ در جدایه-های *کلبسیلا پنومونیه*

ابتدا DNA باکتری از طریق روش جوشاندن استخراج شد (۲۱). به این ترتیب که سوسپانسیونی از کشت شبانه جدایه‌ها در ۲۵۰ میکرولیتر آب مقطر استریل تهیه و سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سلیسیوس قرار گرفتند و پس از سانتریفیوژ مایع رویی به‌عنوان الگو در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) به‌کار گرفته شد. از پرایمرهای اختصاصی hep58 با توالی ۳' ۵'TCATGGCTTGTTATGACTGT و hep59 با توالی ۳' GTAGGGCTTATTATGCACGC ۵' برای تکثیر ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ در PCR استفاده شد (۲۲). محتویات مخلوط واکنش و شرایط دمایی انجام آن مطابق با منابع مرتبط بودند (۲۳،۲۲). در نهایت، محصولات PCR توسط الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱٪ مشاهده و مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها

در این مطالعه ۸۰ جدایه باکتریایی به واسطه انجام تست-های بیوشیمیایی تأییدی به‌عنوان *کلبسیلا پنومونیه* شناسایی شدند که ۳۵ نمونه (٪ ۴۳/۷۵) آن‌ها از مراجعه‌کنندگان مرد و مابقی (۴۵ نمونه) از زنان به‌دست آمد، که محدوده سنی آن‌ها نیز در جدول ۱ نمایش داده شده است.

جدول ۱. رده سنی افراد مراجعه کننده به مراکز درمانی جهت جداسازی باکتری‌های *کلبسیلا پنومونیه* از ادرار

محدوده سن مراجعه کنندگان (سال)	تعداد جدایه های *کلبسیلا پنومونیه* به دست آمده
۰-۱۹	۱۸
۲۰-۴۰	۱۷
۴۱-۶۰	۱۸
۶۱-۸۰	۱۹
۸۱-۹۲	۸

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه*

ارزیابی جدایه‌های مورد مطالعه از نظر حساسیت و مقامت نسبت‌به آنتی‌بیوتیک‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج بیانگر آن است که مروپنم به‌عنوان مؤثرترین آنتی-بیوتیک با میزان حساسیت ۹۰٪ است، به‌طوری‌که فقط ۷ جدایه نسبت‌به این آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دادند. بیش‌ترین مقاومت نیز نسبت‌به نیتروفورانتوئین دیده شد به‌طوری‌که بیش از نیمی از جدایه‌ها (۷۵٪) نسبت‌به آن مقاوم بودند. سه آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم، جنتامیسین و کلرامفنیکل نیز تأثیرگذاری به‌نسبت یکسانی بر روی جدایه‌ها داشتند (با میزان حساسیت حدودا ۸۰٪).

هم‌چنین بنابر تعریف، جدایه‌هایی که به سه یا بیش از سه خانواده آنتی‌بیوتیکی مقاوم بودند (۲۴) نیز به‌عنوان جدایه‌های مقاوم به چند دارو یا MDR در نظر گرفته شدند که تعداد آن‌ها در این مطالعه ۱۶ بود و الگوی مقاومت چند دارویی آن‌ها نیز در جدول ۳ نمایش داده شده است. همان‌طور که در این جدول مشخص است، ۲۵٪ از جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه* مقاوم‌به چند دارو در این مطالعه به هر ۱۰ آنتی‌بیوتیک مورد ارزیابی مقاومت نشان دادند و در میان ۱۰ الگوی مقاومتی حاصل از این مطالعه، مقاومت هم‌زمان نسبت‌به دو آنتی‌بیوتیک سفتازیدیم و سفتریاکسون در ۸ الگو مشاهده شد. از دیگر آنتی-بیوتیک‌های مشاهده شده در اغلب الگوهای مقاومتی می‌توان به نیتروفورانتوئین و پیپراسیلین/ تازوباکتام که به‌ترتیب در ۹ و ۸ الگو قرار داشتند، اشاره کرد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.2.1]

جدول ۲. مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه*

آنتی‌بیوتیک‌ها	تعداد جدایه‌های باکتریایی (٪)		
	مقاوم	میانه	حساس
سفتازیدیم	۲۱(۲۶/۲۵)	۲(۲/۵)	۵۷(۷۱/۲۵)
سفتریاکسون	۲۱(۲۶/۲۵)	۱۸(۲۲/۵)	۴۱(۵۱/۲۵)
کلرامفنیکل	۱۴ (۱۷/۵)	۲(۲/۵)	۶۴(۸۰)
جنتامیسین	۹(۱۱/۲۵)	۶(۷/۵)	۶۵(۸۱/۲۵)
ایمی پنم	۸(۱۰)	۷(۸/۷۵)	۶۵(۸۱/۲۵)
لووفلوکساسین	۱۲(۱۵)	۰	۶۸(۸۵)
مروپنم	۷(۸/۷۵)	۱(۱/۲۵)	۷۲(۹۰)
پیپراسیلین/ تازوباکتام	۱۷(۲۱/۲۵)	۱۰(۱۲/۵)	۵۳(۶۶/۲۵)
نیتروفورانتوئین	۶۰(۷۵)	۱۴(۱۷/۵)	۶(۷/۵)
توبرامایسین	۱۵(۱۸/۷۵)	۳۲(۴۰)	۳۳(۴۱/۲۵)

جدول ۳. الگوی مقاومت‌به آنتی‌بیوتیک در جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه* مقاوم‌به چند دارو

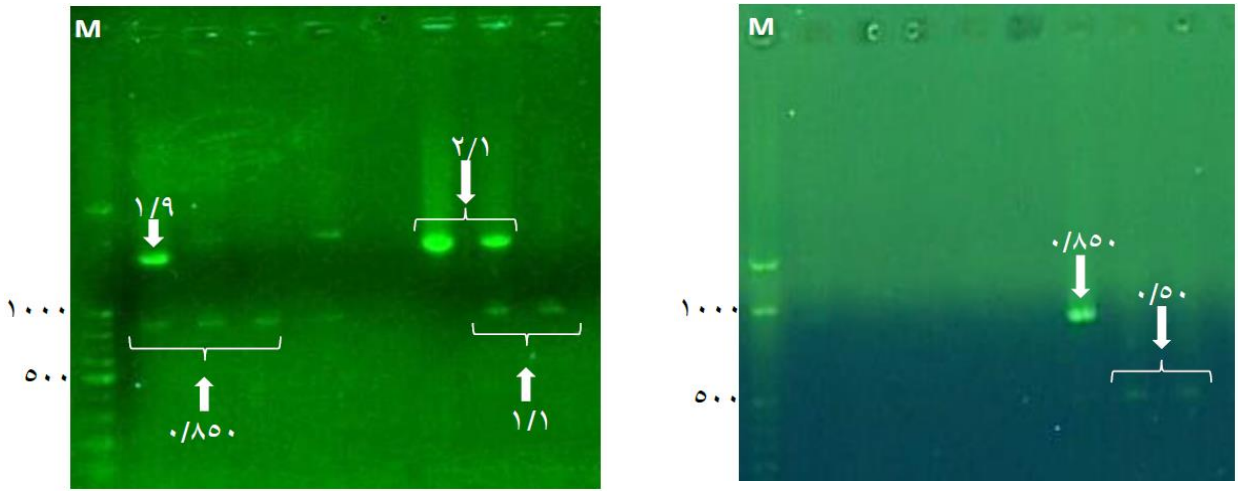
تعداد جدایه‌های مقاوم‌به چند دارو (٪)	تعداد آنتی‌بیوتیک‌ها	الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های مقاوم به چند دارو
۳ (۱۸/۷۵)	۴	سفتازیدیم- سفتریاکسون- پیپراسیلین/ تازوباکتام- نیتروفورانتوئین
۲ (۱۲/۵)	۴	سفتازیدیم- سفتریاکسون- نیتروفورانتوئین- کلرامفنیکل
۱ (۶/۲۵)	۴	کلرامفنیکل- لووفلوکساسین- پیپراسیلین/ تازوباکتام- نیتروفورانتوئین
۱ (۶/۲۵)	۴	سفتازیدیم- سفتریاکسون-لووفلوکساسین - پیپراسیلین/تازوباکتام- نیتروفورانتوئین- توبرامایسین
۱ (۶/۲۵)	۷	سفتازیدیم- سفتریاکسون- کلرامفنیکل- جنتامیسین- لووفلوکساسین- پیپراسیلین/ تازوباکتام - توبرامایسین
۱ (۶/۲۵)	۸	سفتازیدیم- سفتریاکسون- کلرامفنیکل- جنتامیسین- ایمی پنم- لووفلوکساسین- نیتروفورانتوئین- توبرامایسین
۱ (۶/۲۵)	۸	کلرامفنیکل- جنتامیسین- ایمی‌پنم- لووفلوکساسین- مروپنم- پیپراسیلین/ تازوباکتام- نیتروفورانتوئین- توبرامایسین
۱ (۶/۲۵)	۹	سفتازیدیم- سفتریاکسون- کلرامفنیکل- جنتامیسین- لووفلوکساسین- مروپنم- پیپراسیلین/ تازوباکتام- نیتروفورانتوئین- توبرامایسین
۱ (۶/۲۵)	۹	سفتازیدیم- سفتریاکسون- کلرامفنیکل- ایمی پنم- لووفلوکساسین- مروپنم- پیپراسیلین/ تازوباکتام- نیتروفورانتوئین- توبرامایسین

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.2.1]

ارزیابی وجود ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ در جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه*

از مجموع ۸۰ جدایه مورد ارزیابی ۲۹ جدایه *کلبسیلا پنومونیه* از نظر وجود اینتگرون‌های کلاس ۱ مثبت گزارش شدند (٪۲۵/۳۶) که نتایج مربوط به مشاهده این ژن‌ها در چند نمونه در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج مشاهده شده از الکتروفورز محصولات PCR اینتگرون‌های کلاس ۱ در مجموع نشان‌دهنده ۵ قطعه تکثیر شده با اندازه‌های ۲/۱، ۱/۹، ۱/۱، ۰/۸۵ و ۰/۵ کیلوجف باز در جدایه‌های مختلف اینتگرون مثبت است



الف ب

شکل ۱. نتایج مشاهده محصولات PCR مربوط به ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ در جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه*. بر روی ژل آگارز ۱٪. الف) قطعه‌های تکثیر شده با اندازه‌های ۵۰۰ و ۸۵۰ جفت باز. ب) قطعه‌های تکثیر شده با اندازه‌های ۲۱۰۰، ۱۹۰۰، ۱۱۰۰ و ۸۵۰ جفت باز. چاهک‌های علامت‌گذاری شده با M در هر دو شکل نشان‌دهنده مارکر DNA (۱۰۰ جفت باز) هستند.

هم‌چنین، نتایج نشان داد که ۷ جدایه *کلبسیلا پنومونیه* حامل اینتگرون های کلاس ۱، MDR نیز هستند، به‌طوری‌که این جدایه‌ها الگوهای متفاوتی دارند، یعنی برخی از آن‌ها مقاوم‌به هر ۱۰ آنتی‌بیوتیک مورد ارزیابی بوده و برخی فقط نسبت‌به ۴ آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان می‌دادند. در واقع نتایج بیانگر آن است که تعداد جدایه‌های غیر MDR حامل ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ بیش‌تر از جدایه‌های MDR دارای این ژن‌ها هستند. جدول ۴، نتایج تجمیعی این اطلاعات را نشان می‌دهد.

جدول ۴. نتایج تجمیعی جدایه‌های MDR در باکتری‌های *کلبسیلا پنومونیه* دارای اینتگرون و فاقد اینتگرون

تعداد جدایه‌های MDR (مجموع=۱۶)	تعداد جدایه‌های اینتگرون مثبت ۷		تعداد جدایه‌های اینتگرون منفی ۹	
	تعداد جدایه‌ها	تعداد آنتی‌بیوتیک‌ها	تعداد جدایه‌ها	تعداد آنتی‌بیوتیک‌ها
وضعیت مقاومت جدایه‌ها نسبت‌به آنتی‌بیوتیک‌ها	۲	۴	۴	۴
	۱	۶	۲	۹
	۱	۷	۳	۱۰
	۲	۸		
	۱	۱۰		

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.2.1]

بحث

کلبسیلا پنومونیه یکی از عوامل بیماری‌زای شناخته شده است که نه تنها در افراد دچار نقص سیستم ایمنی، بلکه حتی در افراد سالم نیز می‌تواند منجر به ایجاد عفونت‌های شدید و حاد گردد (۲۷-۲۵). افزایش روز افزون و چشم‌گیر مقاومت نسبت‌به انواعی از آنتی‌بیوتیک‌ها، اهمیت بررسی الگوی مقاومت در این جدایه‌ها را محرز کرده تا به این ترتیب امکان انتخاب داروهای درمانی با کارایی و موفقیت بیش‌تر میسر شود. هم‌چنین بسیاری از ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها، مواد ضد عفونی کننده و فلزات سنگین بر روی اینتگرون‌ها حمل می‌شوند و در نتیجه یکی از عوامل مؤثر در ایجاد مقاومت نسبت‌به ترکیب‌های ضدمیکروبی اینتگرون‌ها هستند که در بحث مقاومت آنتی‌بیوتیکی اهمیت می‌یابند (۲۸). در مطالعه حاضر نیز با توجه‌به این دو مسئله مهم، ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه* به‌دست آمده از نمونه ادرار افراد مراجعه کننده به مراکز درمانی و تشخیص طبی در استان البرز صورت گرفت. هم‌چنین، الگوی مقاومتی و نیز بررسی وجود موارد مقاوم‌به چند دارو نیز انجام شد، و در نهایت تأیید حضور ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ از طریق روش مولکولی (PCR) در جدایه‌های مورد مطالعه صورت پذیرفت. نتایج اولیه مبتنی‌بر جنسیت افراد نمونه دهنده نشان می‌دهد که تعداد جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه* بیش‌تری از زنان (۵۶/۲۵٪) در مقایسه با مردان (٪ ۴۳/۷۵) به‌دست آمده است، که این نتیجه هم راستا با مطالعه صورت گرفته توسط Naqid و همکارانش در سال ۲۰۲۰ در کردستان عراق است. البته نتیجه فوق مربوط به نمونه‌های به‌دست آمده از ادرار بوده، به‌طوری‌که در همین مطالعه، تعداد جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه* به‌دست آمده از خلط مردان بیش‌تر از زنان گزارش شده بود (۲۹). در مطالعه فعلی، تفاوت چندانی بین گروه‌های سنی که مورد ارزیابی قرار گرفتند وجود نداشت و در واقع به طور تقریبی از هر گروه سنی مشخص شده در جدول ۱، تعداد یکسانی جدایه به‌دست آمد (به غیر از محدوده سنی ۸۰ سال به بالا)، این در حالی است که نتیجه مطالعه گسترده‌ای که در شمال ایتالیا انجام شد حاکی از آن بود که بیش‌ترین تعداد نمونه *کلبسیلا پنومونیه* به‌دست آمده از افراد ۶۰ سال به بالا بوده و کم‌ترین تعداد نیز از افراد زیر ۱۴ سال جدا شده است (۳۰). در ارتباط با مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه*، همان‌طور که در جدول ۲ مشخص است بیش‌ترین مقاومت نسبت‌به آنتی‌بیوتیک نیتروفورانتوئین (۷۵٪) و سپس با اختلاف زیاد نسبت‌به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم، سفتریاکسون و پیپراسیلین/ تازوباکتام به‌دست آمد. در واقع، آنتی‌بیوتیک‌های نام برده، نمی‌توانند گزینه‌های درمانی مناسبی برای عفونت‌های ادراری ناشی ار این جدایه‌ها باشند. حتی در گزارش اعلام شده در سال ۲۰۱۷ در رومانی (۳۱) میزان مقاومت نسبت‌به نیتروفورانتوئین بیش‌تر بوده (۹۲/۸۶٪)، اما در مطالعه‌ای دیگر میزان مقاومت نسبت‌به نیتروفورانتوئین به‌طور چشم‌گیر کم‌تر (حدود ۳۰٪) اعلام شده است (۲۹). در این مطالعه میزان مقاومت نسبت‌به دو آنتی‌بیوتیک سفتازیدیم و سفتریاکسون به‌طور یکسان (۲۶/۲۵٪) مشاهده شد، در حالی‌که در مطالعه صورت گرفته در طی چندین سال متوالی (۲۰۱۲ تا ۲۰۱۹) در جنوب غربی چین میزان مقاومت نسبت‌به سفتریاکسون به‌طور تقریبی دو برابر سفتازیدیم اعلام شده است (۳۲). با توجه‌به نتایج ناشی از ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مطالعه فعلی می‌توان درمان با آنتی‌بیوتیک‌های مروپنم، لووفلوکساسین، ایمی‌پنم و جنتامیسین را که به‌ترتیب دارای درصد حساسیت ۹۰، ۸۵، ۸۱/۲۵ و ۸۵/۲۵ هستند، موفقیت‌آمیز دانست. یکی از مشکلات پیش روی کادر درمان در مواجه با عفونت‌ها، وجود جدایه‌های مقاوم‌به چند دارو است که نه تنها رویه درمانی را دچار مشکل می‌کند، بلکه منجر به افزایش آمار مرگ و میر نیز می‌شود، به‌طوری‌که درمان این موارد همواره نیازمند زمان بیش‌تر و دقت کافی در انتخاب آنتی‌بیوتیک‌های مناسب است. چنین مشکلی در انواعی از عفونت‌ها به‌ویژه عفونت-های ادراری و ریه دیده شده و ارزیابی حضور این باکتری‌ها و همین‌طور تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در آن‌ها را ضروری می‌سازد (۳۳، ۳۴). به‌همین دلیل در این مطالعه علاوه‌بر تعیین میزان جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه* مقاوم‌به چند دارو (۲۰٪)، الگوی مقاومتی آن‌ها نیز مشخص شد که در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج بیانگر آن است که ۲۵٪ درصد از این جدایه‌ها به هیچ‌یک از آنتی‌بیوتیک‌های مورد ارزیابی حساس نبودند و در حقیقت درمان آنتی‌بیوتیکی موفقی برای آن‌ها وجود نخواهد داشت، چرا که نسبت‌به هر ۱۰ آنتی‌بیوتیک مورد استفاده مقاوم بودند. البته با توجه‌به این جدول، موارد مقاوم‌به تعداد کم‌تری از آنتی‌بیوتیک‌ها هم مشاهده شده است که الگوی مقاومتی متفاوتی دارند، اما به‌طور واضح آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم، سفتریاکسون، نیتروفورانتوئین و پیپراسیلین/ تازوباکتام از جمله آنتی‌بیوتیک-های حاضر در اغلب الگوها هستند. روند افزایشی بروز جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه* مقاوم‌به چند دارو در سایر مطالعه‌ها نیز تأیید شده است، به‌طوری‌که نتایج اعلام شده توسط Arana و همکارانش در اسپانیا که در یک بازه زمانی۱۲ ساله صورت گرفت، نشان‌دهنده افزایش ۴ تا ۸ برابری جداسازی این باکتری‌ها است (۳۵). در مطالعات مشابهی که در ایران (۳۶) و پاکستان (۳۷) صورت گرفته است، درصد حضور جدایه‌های *کلبسیلا*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.2.1]

پنومونیه مقاوم‌به چند دارو بسیار بیش‌تر از مطالعه فعلی و به‌ترتیب معادل ٪۴۶/۶ و ٪۷۱/۷۳ گزارش شده است. نگرانی‌های موجود بابت پیدایش روزافزون جدایه‌های مقاوم‌به چند دارو و عدم وجود آنتی‌بیوتیک‌های جدید برای درمان، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های قدیمی که هم‌چنان فعالیت خود علیه این جدایه‌ها حفظ کرده‌اند را به‌عنوان یک راهکار معرفی می‌کند (۳۸). با توجه‌به اهمیت اینتگرون‌ها به‌عنوان عناصر ژنتیکی متحرک در اعطای مقاومت آنتی‌بیوتیکی و در نتیجه ایجاد مشکلات در روند درمان، حضور ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ در جدایه‌های مورد ارزیابی در این مطالعه نیز تأیید شد و که بنابر نتایج، ٪۳۶/۲۵ از آن‌ها از این نظر مثبت بودند که البته این نتیجه در مقایسه با گزارش اعلام شده توسط Firoozeh و همکاران (۳۹) بسیار کم‌تر بوده، چرا که آن‌ها توانستند حضور ژن‌های مورد نظر را در ٪۸۲/۸۷ از جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه* اثبات کنند. هم‌چنین آن‌ها نشان دادند که همه جدایه‌های مقاوم‌به چند دارو دارای اینتگرون کلاس ۱ هستند (٪۱۰۰)، در حالی‌که در مطالعه حاضر فقط ۷ (٪۴۳/۷۵) جدایه مقاوم‌به چند دارو از نظر ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ مثبت گزارش شدند. در واقع، وجود تعداد بیش‌تر (٪۵۶/۲۵) جدایه‌های فاقد اینتگرون در بین *کلبسیلا پنومونیه*‌های مقاوم‌به چند دارو، می‌تواند نشان دهنده مشارکت مکانیسم‌های اعطای مقاومت آنتی‌بیوتیکی غیر وابسته‌به اینتگرون‌ها باشد، هر چند، احتمال وجود ژن‌های اینتگرون سایر کلاس‌ها نیز منتفی نیست. بنابراین در راستای تکمیل اطلاعات می‌توان بررسی حضور این ژن‌ها را نیز در دستور کار آینده قرار داد.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان‌دهنده روند رو به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های *کلبسیلا پنومونیه* به‌دست آمده از نمونه‌های ادراری و حضور قابل توجه جدایه‌های مقاوم‌به چند دارو است که با در نظر گرفتن و تعیین مکانیسم‌های اعطای مقاومت (به‌ویژه مکانیسم‌های وابسته‌به اینتگرون‌ها) می‌توان پروتکل‌های درمانی را بر اساس الگوی مقاومتی و هم‌چنین ارزیابی‌های مولکولی مرتبط، تعریف کرد تا به این ترتیب نه تنها روش‌های درمانی با کارایی و موفقیت بیش‌تر انتخاب می‌شوند، بلکه از پیدایش جدایه‌های مقاوم‌به دارو نیز جلوگیری خواهد شد.

سپاسگزاری

از دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج که ضمن تامین تجهیزات آزمایشگاهی، هزینه مواد مصرفی بکار گرفته شده را نیز در قالب طرح تحقیقاتی تصویب شده تأمین نمود، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.2.1]

منابع

1. Podschun R, Ullmann U. Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev 1998; 11, 589-603.*

2. Cristea OM, Avrămescu CS, Bălăşoiu M, Popescu FD, Popescu F, Amzoiu MO. Urinary tract infection with *Klebsiella pneumoniae* in Patients with Chronic Kidney Disease. *Curr Health Sci J. 2017; 43(2):137-148.*

3. Moradigaravand D, Martin V, Peacock SJ, Parkhill J. Evolution and Epidemiology of Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in the United Kingdom and Ireland. mBio. *2017; 8(1):e01976-16.*

4. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol. 2015; 13(5):269–284.*

5. Koeijers JJ, Verbon A, Kessels AGH, et al. Urinary tract infection in male general practice patients: uropathogens and antibiotic susceptibility. *Urology. 2010; 76(2):336–340.*

6. Sokhn ES, Salami A, Roz AEI, Salloum L, Bahmad HF, Ghssein G. Antimicrobial susceptibilities and laboratory profiles of Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* isolates as agents of urinary tract infection in Lebanon: paving the way for better diagnostics. *Med Sci (Basel). 2020; 8(3):32–42*.

7. Van Driel AA, Notermans DW, Meima A, et al. Antibiotic resistance of Escherichia coli isolated from uncomplicated UTI in general practice patients over a 10-year period. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019; 38(11):2151–2158.*

8. Hennequin C, Robin F. Correlation between antimicrobial resistance and virulence in *Klebsiella pneumoniae. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2016; 35, 333–341.*

9. Zhang X, Li Q, Lin H, Zhou W, Qian C, Sun Z, Lin L, Liu H, Lu J, Lin X, Li K, Xu T, Zhang H, Li C, Bao Q. High-Level Aminoglycoside Resistance in Human Clinical *Klebsiella pneumoniae* Complex Isolates and Characteristics of armA-Carrying IncHI5 Plasmids. *Front Microbiol.2021; 7;12:636396.*

10. Odumosu BT, Adeniyi BA, Chandra R. Analysis of integrons and associated gene cassettes in clinical isolates of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* from Southwest Nigeria. *Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2013;12:29.*

11. Lombardi F, Gaia P, Valaperta R, Cornetta M, Tejada MR, Di Girolamo L, Moroni A, Ramundo F, Colombo A, Valisi M, Costa E. Emergence of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*: Progressive Spread and Four-Year Period of Observation in a Cardiac Surgery Division. *Biomed Res Int. 2015;2015:871947.*

12. Deng Y, Bao X, Ji L, Chen L, Liu J, Miao J, et al. Resistance integrons: class 1, 2 and 3 integrons. *Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2015;14:45.*

13. Guerin E, Jove T, Tabesse A, Mazel D, Ploy MC. High-level gene cassette transcription prevents integrase expression in class 1 integrons. *J Bacteriol. 2011;193:5675–82.*

14. Lima AM, de Melo ME, Alves LC, Brayner FA, Lopes AC. Investigation of class 1 integrons in *Klebsiella pneumoniae* clinical and microbiota isolates belonging to different phylogenetic groups in Recife, State of Pernambuco. *Rev Soc Bras Med Trop. 2014; 47:165–9.*

15. Recchia GD, Hall RM. Gene cassettes: a new class of mobile element. Microbiology. *1995;141 (Pt*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.2.1]

16. Fluit AC, Schmitz FJ. Class 1 integrons, gene cassettes, mobility, and epidemiology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1999;18(11):761–70*

17. Collis CM, Hall RM. Site-specific deletion and rearrangement of integron insert genes catalyzed by the integron DNA integrase. *J Bacteriol*. *1992;174(5):1574–85*.

18. Jin Y, Ling JM. Prevalence of Integrons in Antibiotic-Resistant Salmonella spp. in Hong Kong. *Jpn J Infect Dis. 2009; 62(6):432-439.*

19. Yu HS, Lee JC, Kang HY, Ro DW, Chung JY, Jeong YS, Tae SH, Choi CH, Lee EY, Seol SY, Lee YC, Cho DT.2003. Changes in gene cassettes of class 1 integrons among *Escherichia coli* isolates from urine specimens collected in Korea during the last two decades. *J. Clin. Microbiol. 2003; 41:5429-5433.*

20. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Wayne PA, USA 2013. 23th information supplement, M100-S23.

21. Afzali H, Firoozeh F, Amiri A, Moniri R, Zibaei M. Characterization of CTX-Mtype extend-spectrum β-lactamase producing Klebsiella spp. in Kashan, Iran. *Jundishapur J Microbiol. 2015; 8:e27967.*

22. White PA, McIver CJ, Deng Y, Rawlinson WD. Characterisation of two new gene cassettes, aadA5 and dfrA17. *FEMS Microbiol Lett. 2000; 15;182(2):265-9.*

23. White PA, McIver CJ, Rawlinson WD. Integrons and gene cassettes in the enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother. 2001; 45(9):2658-61.*

24. Barani A, Tabatabaee Bafroee AS, Jabalameli L. Abundance of extended-spectrum β-lactamase genes among intestinal *Escherichia coli* strains from drug users. *Arch Microbiol. 2021; 203(6):3245-3255.*

25. Khaertynov KS, Anokhin VA, Rizvanov AA, Davidyuk YN, Semyenova DR Lubin SA, Skvortsova NN. Virulence Factors and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae* Strains Isolated From Neonates With Sepsis. *Front. Med. 2018; 5, 225.*

26. Wasfi R, Elkhatib WF, Ashour HM. Molecular typing and virulence analysis of multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates recovered from Egyptian hospitals. *Sci. Rep. 2016, 6, 38929.*

27. Bandeira M, Carvalho PA, Duarte A, Jordao L. Exploring Dangerous Connections between *Klebsiella pneumoniae* Biofilms and Healthcare-Associated Infections. *Pathogens 2014; 3, 720–731.*

28. Partridge SR, Tsafnat G, Coiera E, Iredell JR: Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons. *FEMS Microbiol Rev 2009; 33:757-784.*

29. Naqid IA, Hussein NR, Balatay AA, Saeed KA, Ahmed HA. The Antimicrobial Resistance Pattern of *Klebsiella pneumonia* Isolated from the Clinical Specimens in Duhok City in Kurdistan Region of Iraq, J Kermanshah Univ *Med Sci. 2020; 24(2):e106135.*

30. Magliano E, Grazioli V, Deflorio L, Leuci AI, Mattina R, Romano P, Cocuzza CE. Gender and age-dependent etiology of community-acquired urinary tract infections. *Sci World J. 2012; 2012:349597.*

31. Cristea OM, Avrămescu CS, Bălăşoiu M, Popescu FD, Popescu F, Amzoiu MO. Urinary tract infection with *Klebsiella pneumoniae* in Patients with Chronic Kidney Disease. *Curr Health Sci J. 2017; 43(2):137-148.*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.2.1]

32. Ding Y, Wang H, Pu S, Huang S, Niu S. Resistance Trends of *Klebsiella pneumoniae* Causing Urinary Tract Infections in Chongqing, 2011-2019. *Infect Drug Resist. 2021; 9;14:475-481*.

33. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, et al.: Antibiotic therapy for *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of production of extended-spectrum β-lactamases. *Clin Infect Dis. 2004; 1:31-7. 10.1086/420816.*

34. Yasin F, Assad S, Talpur AS, Zahid M, Malik SA. Combination Therapy for Multidrug-Resistant *Klebsiella Pneumoniae* Urinary Tract Infection. *Cureus; 2017; 22;9(7):e1503.*

35. Arana DM, Rubio M, Alós JI. Evolution of antibiotic multiresistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from urinary tract infections: A 12-year analysis (2003-2014). *Enferm Infecc Microbiol Clin. 2017; 35(5):293-298.*

36. Moini AS, Soltani B, Taghavi Ardakani A, Moravveji A, Erami M, Haji Rezaei M, Namazi M. Multidrug-Resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolated From Patients in Kashan, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2015; 25;8(10):e27517.

37. Ullah F, Malik SA, Ahmed J. Antimicrobial susceptibility pattern and ESBL prevalence in *Klebsiella pneumoniae* from urinary tract infections in the North-West of Pakistan. *Afr J Microbiol Res 2009; 3(11): 676-680.*

38. Mazzariol A, Bazaj A, Cornaglia G. Multi-drug-resistant Gram-negative bacteria causing urinary tract infections: a review. *J Chemother. 2017 ;29(sup1):2-9.*

39. Firoozeh F, Mahluji Z, Khorshidi A, Zibaei M. Molecular characterization of class 1, 2 and 3 integrons in clinical multi-drug resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Antimicrob Resist Infect Control. 2019; 29;8:59.*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.2.1]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.2.1]
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-29]