مقاله پژوهشی

هایپر ویرولانس در گونه‌های کلبسیلا پنومونیه مولد کارباپنماز و بالاکتامازهای وسیع‌الطیف، جدا شده از بیمارستان‌های رشت

الهام اصل سلیمانی[۱]، علی مجتهدی*[۲]، فاطمه زابلی[۳]، حامی کابوسی[٤]

تاریخ دریافت ۱٤۰۲/۰٤/۱۲ تاریخ پذیرش ۱٤۰۲/۰۷/۱۸

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: ایزوله‌های جدید به شدت بیماری‌زا (هایپرویرولنت) در کلبسیلا پنومونیه در چند سال اخیر به وجود آمده‌اند و منجر به ایجاد عفونت‌های تهدیدکننده حیات در افراد جوان و سالم گردیده‌اند. در مطالعه حاضر فراوانی تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف و کارباپنماز در ایزوله‌های جدید با بیماری‌زایی بالا کلبسیلا پنمونیه جداشده از بیماران بررسی گردید.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مقطعی بر روی نمونه‌های بالینی جداشده از بیماران بستری در بیمارستان‌های رازی، پورسینا، رسول اکرم، گلسار و الزهرا شهر رشت انجام گردید. برای تأیید هویت باکتری‌های کلبسیلا پنومونیه از روش‌های استاندارد میکروبیولوژی و مولکولی استفاده گردید. برای شناسایی سویه‌های باکتری با بیماری‌زایی بالا از تست استرینگ استفاده شد. برای تعیین فنوتیپی سویه‌های تولیدکننده ESBL از تست CDT[5] استفاده شد. سپس تعیین حضور ژن کد کننده کارباپنماز (NDM-1) و همچنین توالی یابی سویه‌های به شدت بیماری‌زا به روش PCR انجام شد.

یافته‌ها: در این مطالعه، ۱۵۸ ایزوله کلبسیلا پنومونیه جداشده از نمونه‌های مختلف جمع‌آوری و موردبررسی قرار گرفتند. درمجموع تعداد ۵۵ ایزوله (۳۴/۸ درصد) دارای تست مثبت استرینگ بودند و به‌عنوان هایپرویروانت مشخص شدند. از مجموع ۵۵ سویه‌ی کلبسیلا پنومونیه جداشده، ۱۶ (۲۹/۱ درصد) ایزوله ازنظر فنوتیپی ESBL مثبت بودند. نتایج نشان داد که فقط ۲ ایزوله (۳/۶ درصد) دارای ژن NDM-1 بودند. نتایج، فراوانی توالی یابی شایع در ایزوله‌های به شدت بیماری‌زا را ۹/۱ درصد برای ST258، ۹/۱ درصد برای ST86 و ۳/۶ درصد برای ST23 نشان داد. همچنین ST65 در هیچ ایزوله‌ای مشاهده نگردید.

نتیجه‌گیری: مطالعه اخیر نشان داد که ایزوله‌های به شدت بیماری‌زای کلبسیلا پنومونیه با توانایی تولید آنزیم‌های ESBLs و کارباپنماز، فروانی قابل‌توجه ای دارند. بدون شک ظهور سویه‌های با ریسک بالا در منطقه در آینده تهدید جدی برای سیستم سلامت هست.

کلیدواژه‌ها: کرباپنماز، بتالاکتاماز وسیع‌الطیف، به شدت بیماری‌زا، کلبسیلا پنومونیه، توالی یابی

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و چهارم، شماره نهم، ص ٤۹٤-٤۸٦، آذر ۱٤۰۲

آدرس مکاتبه: تهران- بزرگراه شهید همت- دانشگاه علوم پزشکی ایران- دانشکده پزشکی- گروه میکروب‌شناسی، تلفن: ۰۹۱۱۳۴۵۲۰۷۶

Email: mojtahedii.ali@gmail.com

مقدمه

کلبسیلا پنومونیه از اعضای خانواده انتروباکتریاسه، یک باسیل گرم منفی بی‌هوازی اختیاری و اکسیداز منفی است. این باکتری یکی از علل عمده عفونت‌های بیمارستانی در سراسر جهان است و به‌طور گسترده‌ای در آب، فاضلاب، خاک، گیاهان و سطوح مخاطی پستانداران یافت می‌شود (۱). کلبسیلا پنومونیه عامل ایجادکننده عفونت‌های متعددی در انسان ازجمله پنومونی، سپسیس، عفونت مجاری ادراری، مننژیت و آبسه‌های شکمی است (۲). طی برآوردهای اخیر، شیوع جهانی این باکتری در عفونت‌های بیمارستانی چیزی حدود ۳۲ درصد است (۳). عوامل متعددی به‌عنوان ریسک فاکتور کسب عفونت بیمارستانی کلبسیلا پنومونیه شامل کهولت سن، بدخیمی، دیابت، بیماری مزمن کبد، پیوند اعضا و دیالیز گزارش شده‌اند. همچنین سایر فاکتورهای ریسک عفونت

[۱] گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی، آمل، ایران

[۲] گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

[۳] گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی، آمل، ایران

[٤] گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی، آمل، ایران

[5] Combined Disk Test

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-14]

[DOI: 10.61186/umj.34.9.486]

بیمارستانی شامل درمان با کورتیکواستروئیدها، شیمی‌درمانی و یا کاتترگزاری نیز در مواردی گزارش گردیده است (۴، ۵).

در طی چند دهه گذشته، افزایش مقاومت در برابر طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها توسط سویه‌های کلاسیک کلبسیلا پنومونیه گزارش شده است. شواهد نشان داده‌اند که خطر مرگ ناشی از کلبسیلا پنومونیه مقاوم به کارباپنم در کلبسیلا پنومونیه خطر مرگ را به‌طور چشم‌گیری نسبت به کلبسیلا پنومونیه حساس به کارباپنم افزایش یافته است. همچنین گزارش شده است که مرگ‌ومیر ناشی از کلبسیلا پنومونیه مقاوم به کارباپنم در صورت همراهی با بیماری‌های همراه به‌صورت چشم‌گیری افزایش یافته است (۶). درنتیجه این مقاومت آنتی‌بیوتیکی، عوامل اتیولوژیک باکتریایی عفونت‌های دستگاه ادراری، تنفسی و گردش خون نسبت به درمان مقاوم شده‌اند. دو نوع عمده از مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های کلبسیلا پنومونیه مشاهده شده است. یکی از مکانیسم‌ها بیان بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف یا β- (Extended-spectrum lactamases= ESBLs) است که باعث می‌شود باکتری مقاوم به سفالوسپورین ها و مونوباکتام ها باشد (۷، ۸). مکانیسم دیگر مقاومت که حتی بیشتر نگران کننده است، بیان کارباپنماز توسط باکتری می‌باشد، که کلبسیلا پنومونیه را به تمام بتا لاکتام های موجود از جمله کارباپنم ها مقاوم می‌سازد. صرف نظر از نوع آنزیم کارباپنمازی که حمل می‌کنند، ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه مقاوم به کارباپنم را (Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* = CRKP) می‌نامند (۹). با توجه به کمبود درمان‌های مؤثر در دسترس، عفونت‌های حاصل از ایزوله‌های مولد ESBLs و آنزیم‌های کارباپنماز می‌توانند منجر به میزان قابل‌توجهی از و مرگ‌ومیر در مقایسه با عفونت با باکتری‌های غیرمقاوم شوند (۷، ۹).

در گذشته بیشتر عفونت‌های ایجاد شده توسط سویه‌های کلاسیک کلبسیلا پنومونیه در افراد بستری در بیمارستان به وقوع می‌پیوست. سویه‌های جدید به شدت بیماری‌زا در چند سال اخیر به وجود آمده‌اند و منجر به ایجاد عفونت‌های تهدیدکننده حیات در افراد جوان و سالم گردیده است. این سویه‌ها در ابتدا از کشور چین گزارش شدند اما بعد از آن در سایر کشورها نیز گزارش‌هایی دیده شد. سویه‌های به شدت بیماری‌زا به‌صورت بالینی تعریف شدند و از انواع ابتدایی این سویه‌ها که سویه‌های کلاسیک باشند جداسازی شدند. میزان مرگ‌ومیر بالایی برای سویه‌های به شدت بیماری‌زا نسبت به سویه‌های کلاسیک گزارش شده است. عوامل متعددی در افزایش شیوع این سویه‌ها نقش دارند نقش دارد که حاصل تغییر ژنتیک باکتری در تعامل با محیط است. این عوامل تحت تأثیر مصرف بیش‌ازحد و نادرست آنتی‌بیوتیک‌ها، انتقال در محیط‌های پر خطر مانند بیمارستان‌ها به افراد با شرایط ایمنی نامساعد، جابه جایی بین مناطق و کشورهای مختلف و درمان‌های ناکامل و ناصحیح عفونت می‌باشد (۱۰، ۱۱).

بیماریزایی شدیدتر سویه‌های به شدت بیماری‌زای کلبسیلا پنومونیه را به توانایی بالقوه بیشتر این سویه‌ها در تولید فاکتورهای بیماری‌زا و مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن نسبت می‌دهند. در این راستا نشان داده شده است که سویه‌های به شدت بیماری‌زا بیشتر در توالی یابی (Sequence type = ST)اپیدمیک خاصی مشاهده می‌شوند. این توالی بطور معمول شامل توالی اپیدمیک مقاوم به کارباپنم نوع ۲۸۵ (ST258) و نیز به جمعیت دیگر شامل ST23، ST86 و ST65 تعلق دارند (۱۰، ۱۲).

با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای مشابه جهت بررسی فراوانی تولید ESBLs و کرباپنماز ها در سویه‌های به شدت بیماری‌زا کلبسیلا پنومونیه در شمال ایران انجام نشده است، در مطالعه حاضر ضمن بررسی این موارد در سویه‌های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های آموزشی شهر رشت، شیوع توالی اپیدمیک نیز به روش مولکولی بررسی گردید. تعیین میزان شیوع این سویه‌ها ازنظر اپیدمیولوژی حائز اهمیت بوده و در کنترل عفونت‌های ناشی از این باکتری و استراتژی‌های درمان می‌تواند کمک کننده باشد.

مواد و روش‌ها

طراحی مطالعه:

این مطالعه از نوع مقطعی می‌باشد که ۱۵۸ ایزوله کلبسیلا پنومونیه از نمونه‌های بالینی (شامل: ادرار، خون، زخم و کاتتر (لوله‌ی تراشه)) بیماران بستری ۱ سال تا ۸۳ ساله در بیمارستان‌های رازی، پورسینا، رسول اکرم، گلسار و الزهرای شهر رشت در بازه‌ی زمانی از اول مهر ۱۳۹۸ تا پایان شهریور ۱۳۹۹ جدا شد و بر اساس پروتکل استاندارد در محیط انتقالی Tryptone soy agar (TSA) جهت بررسی و هویت یابی به آزمایشگاه مولکولی انتقال داده شد. طراحی و فرایند انجام این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گیلان مورد بررسی وتایید قرار گرفت (IR.GUMS.REC.1398.297).

نمونه‌گیری و تعیین هویت باکتریایی:

به منظور تأیید هویت باکتری‌ها، نمونه‌ها در محیط‌های کشت Blood agar و McConkey agar کشت داده شده و در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردیدند. روی کلنی-های ایجاد شده، رنگ‌آمیزی گرم انجام شد و باسیل‌های گرم منفی که ازنظر تست اکسیداز منفی بودند کشت خالص از آن‌ها به عمل آمده و در محیط‌های کشت افتراقی از قبیل TSI، Simmons' citrate، SIM، MR-VP، Urea و LIA کشت داده شد و در

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-14]

[DOI: 10.61186/umj.34.9.486]

انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید. سویه‌های کلبسیلا پنومونیه بر اساس نتایج واکنش‌ها در محیط‌های کشت افتراقی تعیین هویت و با شناسایی ژن 16s با تکنیک PCR تأیید گردید (۱۲).

تعیین سویه‌های به شدت بیماری‌زا:

برای انجام این تست لوپ استاندارد را بروی سطح کلنی در محیط آگار قرار داده و پس از جدا کردن لوپ از محیط و حرکت آن به سمت بالا روی محیط حاوی آگار، یک‌رشته چسبناک تولید شده که طول بیشتر از ۵ میلی‌متر را به‌عنوان تست استرینگ مثبت در نظر گرفته شد (۱۳). این سویه‌ها به‌عنوان غربالگری اولیه کلبسیلا پنومونیه به شدت بیماری‌زا در نظر گرفته شدند.

تعیین سویه‌های تولیدکننده‌ی ESBL به روش فنوتیپی:

برای تعیین سویه‌های تولیدکننده‌ی ESBL ازنظر فنوتیپی طبق دستورالعمل CLSI، از تست CDT استفاده شد. طبق این تست از یک دیسک آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم و یک دیسک سفوتاکسیم -کلاوولانیک اسید و سفتازیدم و سفتازیدیم - کلاوولانیک اسید استفاده شد. سویه‌هایی که هاله‌ی عدم رشدشان با دیسک حاوی کلاوولانیک اسید حداقل ۵ میلی‌متر یا بیشتر از دیسک بدون کلاوولانیک اسید بود به عنوان سویه‌های تولیدکننده‌ی ESBL شناسایی شدند (۱۴). از کلبسیلا پنومونیه ATCC 700603 به عنوان کنترل مثبت و از اشریشیا کلای ATCC 25922 به عنوان کنترل منفی برای تشخیص سویه‌های تولیدکننده ESBL استفاده شد.

استخراج ژنوم و روش‌های مولکولی:

ژنوم باکتریایی توسط روش جوشاندن بر اساس پروتک: ل معرفی شده توسط نوبری و همکاران (انتشار سلولی، لیز سلولی و جداسازی) صورت پذیرفت (۱۵). سپس تعیین حضور ژن کد کننده کرباپنماز NDM-1 و همچنین تایپینگ سویه‌های هایپر ویرولانت برای مشخص شدن سکانس تایپ‌های ST23، ST65، ST86 و ST258 به کمک پرایمرهای اختصاصی و به روش PCR در حجم واکنش ۱۵ میکرولیتر انجام پذیرفت (مرحله دناتوراسیون اولیه ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه، به دنبال آن ۳۵ چرخه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد برای ۳۰ ثانیه، ۶۰-۷۲ درجه سانتیگراد برای ۶۰-۳۰ ثانیه، و مرحله نهایی افزایش ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه) (جدول ۱) (۱۲، ۱۶). محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد حاوی Sybrsafe الکتروفورز گردیده و در دستگاه Gel doc زیر نور UV مشاهده‌گردید.

آنالیز آماری:

نتایج به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ آنالیز گردید. نتایج بصورت آمار توصیفی بیان گردید. درصد و فراوانی برای داده‌های کیفی و میانگین برای گزارش داده‌های کمی استفاده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۱۵۸ ایزوله کلبسیلا پنومونیه جدا شده از نمونه‌های مختلف جمع‌آوری و مورد بررسی قرار گرفت. همه جدایه‌ها به روش فنوتیپی مورد تأیید قرار گرفتند. پس از آن تمام ایزوله‌ها با استفاده از روش مولکولی ازنظر ژنوتیپی نیز مورد تأیید قرار گرفتند. درمجموع از ۱۵۸ ایزوله کلبسیلا پنومونیه جدا شده از بیماران در بخش‌های مختلف بیمارستان تعداد ۵۵ ایزوله (۳۴/۸ درصد) از ۵۵ بیمار بستری (۲۷ زن و ۲۸ مرد) استرینگ تست مثبت و به‌عنوان به شدت بیماری‌زا مشخص شدند.

از مجموع ۵۵ ایزوله کلبسیلا پنومونیه هایپرویرولانت، ۲۸ (۵۰/۹ درصد) ایزوله از مردان و ۲۷ (۴۹/۱ درصد) ایزوله از زنان جدا شد. محدوده سنی بیماران ۱ سال تا ۸۳ ساله (میانگین سنی ۳۷/۵ سال) بود. تست CDT بر روی ۵۵ جدایه کلبسیلا پنومونیه انجام شد و از مجموع ۵۵ سویه‌ی کلبسیلا پنومونیه جدا شده ۱۶ (۲۹/۱ درصد) ایزوله ازنظر فنوتیپی ESBL مثبت بودند. نتایج حاصل از تکثیر ژن bla_{NDM-1} بر روی ۵۵ ایزوله کلبسیلا پنومونیه هایپر ویرولانت نشان داد که فقط ۲ ایزوله (۳/۶ درصد) دارای ژن تولیدکننده کرباپنماز NDM-1 بودند. نتایج مولکولی فراوانی سکانس تایپ‌های شایع در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه هایپرویرولانت را ۹/۱ درصد برای ST258، ۹/۱ درصد برای ST86 و ۳/۶ درصد برای ST23 نشان داد. همچنین ST65 در هیچ ایزوله‌ای مشاهده نگردید. جدول ۲ فراوانی ایزوله‌های ایزوله‌های تولیدکننده ESBL و کرباپنماز NDM-1 را به تفکیک ساکانس تایپ‌های اپیدمیک نشان می‌دهد.

جدول (۱): پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن‌های مورد مطالعه

نام	Nucleotide (5' to 3')	رفرانس
Khe (16S)	CCGGAGCGTTTTTCAATCGGCG	
	CGCTTCGCCCCTCACCTGAAAT	12
pilV	CGATGGCGCTGGCGACGATTAT	

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-14]

[DOI: 10.61186/umj.34.9.486]

رفرانس	Nucleotide (5’ to 3’)	نام
	CCCGATGGGCAAGAACATGCGT	
	TGGCGGGTAATGCCCGATCAGT	kphp
	AGGCCGCTTTCCATAAGCCGTT	
	CGGTATTTGCTCTGCGTGATAG	pilL
	TGGTTATACAGAACGGCATTGG	
	GCTATGCCAATGCCGGAACCGT	ST65
	ACCCACCCCCGTAAAGATGGCA	
	ACGCATGCCTACAGGACATCGAA	ST23
	TCCAGTAGGAGCAGACAGCGGA	
	TATTCTTTCTAGGGGCCGAATG	ST86
	TCACCAGCTCACTTGAACATTA	
16	GGTTTGGCGATCTGGTTTTC	NDM
	CGGAATGGCTCATCACGATC	

جدول (۲): شیوع ESBL و bla_{NDM-1} در انواع مختلف توالی

مجموع	bla_{NDM}-1 Positive	ESBL Positive	STs
5	0	0	ST258
5	0	2	ST86
2	2	1	ST23
0	0	0	ST65
12/55 (21.8%)	2/2 (100%)	3/16 (18.75%)	Total

بحث و نتیجه‌گیری

عفونت‌های تهاجمی کلبسیلا پنومونیه هایپر ویرولانت نسبت به نوع کلاسیک خطرات بسیار بیشتری دارند (۱۷). این ویژگی‌های پاتوژنیک در سویه‌های به شدت بیماری‌زا ممکن است در ابتدا مربوط به ویژگی‌های ویرولانس این باکتری‌ها باشد ولی مکانیسم دقیق آن هنوز ناشناخته باقی مانده است. در مطالعه حاضر ۳۴/۸ درصد از ایزوله‌ها به شدت بیماری‌زا به حساب آمدند. مطالعه‌ای در ایران (کرمان) در سال ۲۰۱۹ شیوع سویه‌های به شدت بیماری‌زای جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان را ۱۵/۱ درصدگزارش کرد (۱۸). در مطالعه شجاع و همکاران که در جنوب ایران انجام شد، نتایج نشان داد که فقط ۴ درصد از جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از نمونه‌های بالینی، به عنوان به شدت بیماری‌زا شناسایی شدند (۱۹). که این نتیجه کمترین درصد گزارش شده از مطالعات انجام شده در ایران می‌باشد. بر اساس مطالعه تبریزی و همکاران ۹/۴ درصد جدایه‌ها سویه به شدت بیماری‌زا کلبسیلا پنومونیه جدا شده از پنومونی مرتبط با ونتیلاتور را تشکیل دادند که در بین بیمارانی که با مسمومیت حاد دارویی در بخش مراقبت‌های ویژه بستری شده بودند، جداسازی شدند (۲۰). نتایج ترقیان و همکاران در شهر اصفهان نشان داد که ۱۶/۸ درصد از جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه پس از بررسی‌های فنوتیپی و ژنوتیپی به عنوان به شدت بیماری‌زا شناسایی شدند (۲۱).

علاوه بر این در مطالعه سانبخانی و همکاران در تهران، نتایج نشان داد که پس از بررسی‌های فنوتیپی و ژنوتیپی، ۱۰۲ ایزوله (۶۲/۶ درصد) از جدایه‌ها به عنوان به شدت بیماری‌زا شناسایی شدند (۲۲). همچنین نتایج نشان داد که بیش از ۵۰ درصد از جدایه‌ها از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه بستری بوده‌اند. همچنین در یک مطالعه متاآنالیزی که در توسط سانی خانی و همکاران سال ۲۰۲۱ انجام شد و به بررسی شیوع سویه‌های به شدت بیماری‌زای کلبسیلا پنومونیه پرداخت، نتایج نشان داد که از بین ۱۸۱۴ ایزوله مورد بررسی در ۱۴ مطالعه در سرتاسر دنیا، ۲۱/۷ درصد از ایزوله‌ها به عنوان به شدت بیماری‌زا گزارش شدند (۲۳). در حالیکه در سایر مناطق آسیا درصدهای بالاتری از شیوع به شدت

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-14]

[DOI: 10.61186/umj.34.9.486]

بیماری‌زا گزارش شده است. اگرچه عفونت اولیه با این گونه سویه‌ها در ابتدا در بیماران سرپایی دیده شده است؛ اما عفونت در سیستم‌های بهداشتی نیز توصیف شده است. بنابراین تماس داشتن با کارکنان مراکز بهداشتی و یا حتی اشیا و وسایل موجود در بخش‌های متفاوت مراکز بهداشتی مکانیزم های ممکن برای اکتساب این نوع از عفونت می‌باشند.

در بررسی‌های فنوتیپی تشخیص سویه‌های ESBL در مطالعه حاضر، ۲۹ درصد از جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه ESBL مثبت بودند. اولین مورد از شیوع ESBL ها در سویه‌های به شدت بیماری‌زا در سال ۲۰۱۴ از چین گزارش شد و ۲ سال بعد از آن در فرانسه نیز اولین مورد ابتلای همزمان سویه‌های هایپر ویرولانت ESBL مشاهده شد (۲۴، ۲۵). در مطالعات مشابه در چین در سال ۲۰۱۴، ۱۷ درصد از جدایه‌ها فنوتیپ ESBL را از خود بروز دادند (۲۶). همچنین در مطالعه دیگری در چین در همان سال شیوع ESBL در بین ایزوله‌های هایپر ویرولانت ۱۲/۵ درصد گزارش شد، که تا سال ۲۰۱۹ میزان شیوع ESBL ها در میان ایزوله‌های به شدت بیماری‌زا به ۱۶/۳ درصد رسیده بود (۲۷). در ایران در مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۱ در اصفهان، بین جدایه‌ها به شدت بیماری‌زا فروانی ESBL ها ۴۰/۵ درصد گزارش شد (۲۱). در مطالعه فرهادی و همکاران در شمال ایران (۲۰۲۱)، میزان شیوع ESBL در بین جدایه‌های کلاسیک کلبسیلا پنومونیه ۶۴ درصد گزارش شد که از نتایج مطالعه حاضر بیشتر می‌باشد (۲۸). ازنظر آماری شیوع ESBLs در ایران نسبت به سراسر کشورهای جهان و حتی آسیا چشمگیرتر است. یکی از مهم‌ترین دلایل آن می‌توان استفاده بیش‌ازحد و نابجا از داروهای بتا لاکتام بخصوص استفاده از سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف را نام برد. بنابراین یک اقدام مفید و مؤثر در زمینه کنترل عفونت‌های مقاوم به درمان می‌تواند کاهش مصرف نادرست‌های آنتی‌بیوتیک‌ها و استفاده اصولی از آن‌ها باشد.

بررسی STs یک روش مبتنی بر توالی نوکلئوتید است که برای توصیف روابط ژنتیکی بین جدایه‌های باکتریایی کفایت می‌کند (۲۹). این روش داده‌های قابل‌مقایسه و بدون ابهام در مکان‌های مختلف را ارائه می‌دهد تا بین افراد استفاده‌کننده از این روش در سراسر جهان قابل‌ارائه و بحث باشد (۲۹). سه نوع ST متفاوت در ایزوله‌های به شدت بیماری‌زا در این مطالعه حاصل شد که شایع‌ترین ST ها، ST86، ST23 و ST258 بودند. در یک مطالعه متاانالیز که در سال ۲۰۲۱ انجام گرفت، ۱۴ مطالعه بررسی شد و نتایج نشان داد که از بین ۳۹۴ ایزوله به شدت بیماری‌زا، ۵۰ توالی متفاوت شناسایی شده است. ازاین‌بین، ST23، ST11، ST65 و ST86 فراوان‌ترین ST ها بودند (۲۳). در مطالعه سهرابی و همکاران در سال ۲۰۲۲، نتایج نشان داد که از بین ۴ ایزوله به شدت بیماری‌زای کلبسیلا پنومونیه، سه ایزوله متعلق به ST23 و یک ایزوله متعلق به ST65 بود (۳۰). همچنین مشابه با نتایج مطالعه اخیر، بیش از این نیز در کشور انگلیس حضور ژن کارباپنماز $bla_{\text{NDM-1}}$ در ایزوله‌های هایپر ویرولانت کلبسیلا پنمونیه متعلق به توالی اپیدمیک ST23 گزارش شده است (۳۱).

مطالعه حاضر نشان داد که ایزوله‌های به شدت بیماری‌زا کلبسیلا پنومونیه فروانی قابل‌توجه ای دارند. همچنین نتایج نشان داد که درصد قابل‌توجهی از ایزوله‌ها توانایی تولید آنزیم‌های ESBLs و کارباپنماز را دارند. بدون شک ظهور سویه‌های با ریسک بالا در منطقه در آینده باعث کاهش انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب برای درمان عفونت‌های شدید می‌شود و در نهایت تهدید جدی برای سیستم سلامت و بهداشت کشور می‌باشد. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌صورت ایمن و مؤثر از اهمیت بالایی برخوردار است. برای کنترل شیوع سویه‌های به شدت بیماری‌زای کلبسیلا پنومونیه، باید از آنتی‌بیوتیک‌ها به طریقی استفاده شود که عفونت‌ها کنترل شده و به‌طور همزمان مقاومت آنتی‌بیوتیکی کاهش یابد. برای این منظور، باید دستورالعمل‌های مقامات بهداشتی و داروسازی را رعایت کنید. این شامل تعیین درست نوع آنتی‌بیوتیک، مدت‌زمان استفاده مناسب، دوز و روش مصرف صحیح است .همچنین، استفاده غیرضروری یا نادرست از آنتی‌بیوتیک‌ها باید به حداقل رسانده شود تا مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین باکتری‌ها کاهش یابد. از طرف دیگر، ضروری است که سیستم نظارت مداوم و برنامه‌های شدید کنترل عفونت بیمارستانی برای جلوگیری از انتشار بیشتر در مراکز درمانی و جامعه به کار گرفته شود. برای این منظور، ارائه آموزش به کارکنان بهداشتی و پرستاران درباره خطرات و روش‌های پیشگیری از عفونت‌های سویه‌های به شدت بیماری‌زای کلبسیلا پنومونیه حائز اهمیت است. آموزش‌ها شامل استفاده صحیح از ضدعفونی کننده‌ها، بهداشت دست، مدیریت صحیح عفونت و روش‌های پیشگیری در بستر بیمارستان است. علاوه بر آموزش، کنترل عفونت‌های بیمارستانی نیز باید به‌طور جدی پیگیری شود. اتخاذ تدابیر مناسب برای کنترل و پیشگیری از عفونت‌های بیمارستانی در بخش‌های مختلف، از جمله عفونت‌های ناشی از کلبسیلا پنومونیه، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با همکاری تیم‌های بهداشتی و مدیریتی بیمارستان، پزشکان و کادر درمانی، می‌توان به عنوانی شیوع سویه‌های هایپر ویرولانت کلبسیلا پنومونیه را کاهش داد و محیطی ایمن‌تر را برای بیماران فراهم کرد.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه با شناسه اخلاق [IR.GUMS.REC.1398.297] در سامانه اخلاق پژوهشهای زیستی علوم پزشکی گیلان تصویب شد.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-14]

[DOI: 10.61186/umj.34.9.486]

حمایت مالی

این مطالعه تحت حمایت مالی هیچ سازمان و موسسه‌ای نبوده است.

تعارض منافع

هیچ تعارض منافعی توسط نویسندگان اعلام نشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله کمال تشکر را از تمامی کادر درمان بیمارستان جهت همکاری در این مطالعه را دارند.

References:

1. Calfee DP. Recent advances in the understanding and management of Klebsiella pneumoniae. F1000Res 2017;6:1760. https://doi.org/10.12688/f1000research.11532.1
2. Paczosa MK, Mecsas J. Klebsiella pneumoniae: Going on the Offense with a Strong Defense. Microbiol Mol Biol Rev 2016;80(3):629-61. https://doi.org/10.1128/mmbr.00078-15
3. Mohd Asri NA, Ahmad S, Mohamud R, Mohd Hanafi N, Mohd Zaidi NF, Irekeola AA, et al. Global Prevalence of Nosocomial Multidrug-Resistant Klebsiella pneumoniae: A Systematic Review and Meta-Analysis. Antibiotics (Basel) 2021;10(12). https://doi.org/10.3390/antibiotics10121508
4. Meatherall BL, Gregson D, Ross T, Pitout JD, Laupland KB. Incidence, risk factors, and outcomes of Klebsiella pneumoniae bacteremia. Am J Med 2009;122(9):866-73. https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2009.03.034
5. Chang D, Sharma L, Dela Cruz CS, Zhang D. Clinical Epidemiology, Risk Factors, and Control Strategies of Klebsiella pneumoniae Infection. Front Microbiol 2021;12:750662. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.750662
6. Karami-Zarandi M, Rahdar HA, Esmaeili H, Ranjbar R. Klebsiella pneumoniae: an update on antibiotic resistance mechanisms. Future Microbiol 2023;18:65-81. https://doi.org/10.2217/fmb-2022-0097
7. Samir A, Abdel-Moein KA, Zaher HM. The Public Health Burden of Virulent Extended-Spectrum β-Lactamase-Producing Klebsiella pneumoniae Strains Isolated from Diseased Horses. Vector Borne Zoonotic Dis 2022;22(4):217-24. https://doi.org/10.1089/vbz.2022.0004
8. Jiang W, Yang W, Zhao X, Wang N, Ren H. Klebsiella pneumoniae presents antimicrobial drug resistance for β-lactam through the ESBL/PBP signaling pathway. Exp Ther Med 2020;19(4):2449-56. https://doi.org/10.3892/etm.2020.8498
9. Elmanakhly AR, Bendary MM, Safwat NA, Awad EA, Alhomrani M, Alamri AS, et al. Carbapenem-Resistant Klebsiella pneumoniae: Diversity, Virulence, and Antimicrobial Resistance. Infect Drug Resist 2022;15:6177-87. https://doi.org/10.2147/idr.s387742
10. Russo TA, Marr CM. Hypervirulent Klebsiella pneumoniae. Clin Microbiol Rev 2019;32(3). https://doi.org/10.1128/cmr.00001-19
11. Choby JE, Howard-Anderson J, Weiss DS. Hypervirulent Klebsiella pneumoniae - clinical and molecular perspectives. J Intern Med 2020;287(3):283-300. https://doi.org/10.1111/joim.13007
12. Yu F, Lv J, Niu S, Du H, Tang YW, Pitout JDD, et al. Multiplex PCR Analysis for Rapid Detection of Klebsiella pneumoniae Carbapenem-Resistant (Sequence Type 258 [ST258] and ST11) and Hypervirulent (ST23, ST65, ST86, and ST375) Strains. J Clin Microbiol 2018;56(9). https://doi.org/10.1128/jcm.00731-18
13. Chang CY, Ong ELC. Positive string test in hypervirulent Klebsiella pneumoniae liver abscess. Oxf Med Case Reports 2022;2022(4):omac035. https://doi.org/10.1093/omcr/omac035
14. Wayne PA. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2022;32th

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-14]

[DOI: 10.61186/umj.34.9.486]

Informational Supplement. (M100-S28).

15. Nobari S, Shahcheraghi F, Rahmati Ghezelgeh F, Valizadeh B. Molecular characterization of carbapenem-resistant strains of Klebsiella pneumoniae isolated from Iranian patients: first identification of blaKPC gene in Iran. Microb Drug Resist 2014;20(4):285-93. https://doi.org/10.1089/mdr.2013.0074
16. Nordmann P, Poirel L, Carrër A, Toleman MA, Walsh TR. How to detect NDM-1 producers. J Clin Microbiol 2011;49(2):718-21. https://doi.org/10.1128/jcm.01773-10
17. Marr CM, Russo TA. Hypervirulent Klebsiella pneumoniae: a new public health threat. Expert Rev Anti Infect Ther 2019;17(2):71-3. https://doi.org/10.1080/14787210.2019.1555470
18. Rastegar S, Moradi M, Kalantar-Neyestanaki D, Ali Golabi D, Hosseini-Nave H. Virulence Factors, Capsular Serotypes and Antimicrobial Resistance of Hypervirulent Klebsiella pneumoniae and Classical Klebsiella pneumoniae in Southeast Iran. Infect Chemother 2019. https://doi.org/10.3947/ic.2019.0027
19. Shoja S, Ansari M, Bengar S, Rafiei A, Shamseddin J, Alizade H. Bacteriological characteristics of hypervirulent Klebsiella pneumoniae rmpA gene (hvKp-rmpA)-harboring strains in the south of Iran. Iran J Microbiol 2022;14(4):475-83. https://doi.org/10.18502/ijm.v14i4.10233
20. Mohammad Ali Tabrizi A, Badmasti F, Shahcheraghi F, Azizi O. Outbreak of hypervirulent Klebsiella pneumoniae harbouring bla(VIM-2) among mechanically-ventilated drug-poisoning patients with high mortality rate in Iran. J Glob Antimicrob Resist 2018;15:93-8. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.06.020
21. Taraghian A, Nasr Esfahani B, Moghim S, Fazeli H. Characterization of Hypervirulent Extended-Spectrum β-Lactamase-Producing Klebsiella pneumoniae Among Urinary Tract Infections: The First Report from Iran. Infect Drug Resist 2020;13:3103-11. https://doi.org/10.2147/idr.s264440
22. Sanikhani R, Moeinirad M, Solgi H, Hadadi A, Shahcheraghi F, Badmasti F. The face of hypervirulent Klebsiella pneumoniae isolated from clinical samples of two Iranian teaching hospitals. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2021;20(1):58. https://doi.org/10.1186/s12941-021-00467-2
23. Sanikhani R, Moeinirad M, Shahcheraghi F, Lari A, Fereshteh S, Sepehr A, et al. Molecular epidemiology of hypervirulent Klebsiella pneumoniae: a systematic review and meta-analysis. Iran J Microbiol 2021;13(3):257-65. https://doi.org/10.18502/ijm.v13i3.6384
24. Rafat C, Messika J, Barnaud G, Dufour N, Magdoud F, Billard-Pomarès T, et al. Hypervirulent Klebsiella pneumoniae, a 5-year study in a French ICU. J Med Microbiol 2018;67(8):1083-9. https://doi.org/10.1099/jmm.0.000788
25. Zhang Y, Ma Y, Ye L, Luo Y, Yang J. Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Hypervirulent Klebsiella pneumoniae isolates in China. Clin Infect Dis 2014;58(10):1493-4. https://doi.org/10.1093/cid/ciu110
26. Jian-Li W, Yuan-Yuan S, Shou-Yu G, Fei-Fei D, Jia-Yu Y, Xue-Hua W, et al. Serotype and virulence genes of Klebsiella pneumoniae isolated from mink and its pathogenesis in mice and mink. Sci Rep 2017;7(1):17291. https://doi.org/10.1038/s41598-017-17681-8
27. Zhao J, Liu C, Liu Y, Zhang Y, Xiong Z, Fan Y, et al. Genomic characteristics of clinically important ST11 Klebsiella pneumoniae strains worldwide. J Glob Antimicrob Resist 2020;22:519-26. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.03.023
28. Farhadi M, Ahanjan M, Goli HR, Haghshenas MR, Gholami M. High frequency of multidrug-resistant (MDR) Klebsiella pneumoniae harboring several β-lactamase and integron genes collected

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-14]

[DOI: 10.61186/umj.34.9.486]

from several hospitals in the north of Iran. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2021;20(1):70. https://doi.org/10.1186/s12941-021-00476-1

29. Turner KM, Hanage WP, Fraser C, Connor TR, Spratt BG. Assessing the reliability of eBURST using simulated populations with known ancestry. BMC Microbiol 2007;7:30. https://doi.org/10.1186/1471-2180-7-30

30. Sohrabi M, Alizade Naini M, Rasekhi A, Oloomi M, Moradhaseli F, Ayoub A, et al. Emergence of K1 ST23 and K2 ST65 hypervirulent klebsiella pneumoniae as true pathogens with specific virulence genes in cryptogenic pyogenic liver abscesses Shiraz Iran. Front Cell Infect Microbiol 2022;12:964290. https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.964290

31. Roulston KJ, Bharucha T, Turton JF, Hopkins KL, Mack DJF. A case of NDM-carbapenemase-producing hypervirulent Klebsiella pneumoniae sequence type 23 from the UK. JMM Case Rep 2018;5(9):e005130. https://doi.org/10.1099/jmmcr.0.005130

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-14]

[DOI: 10.61186/umj.34.9.486]

Studies in Medical Sciences, Vol. 34(9), December 2023

Original Article

HYPERVIRULENCE OF KLEBSIELLA PNEUMONIAE STRAINS PRODUCING CARBAPENEMASE AND EXTENDED-SPECTRUM BETA-LACTAMASE (ESBLS) ISOLATED FROM HOSPITALS OF RASHT, IRAN

*Elham Asl Soleimani[1], Ali Mojtahedi[*2], Fatemeh Zaboli[3], Hami Kaboosi[4]*

Received: 03 July, 2023; Accepted: 10 October, 2023

Abstract

***Background & Aim*:** New hypervirulent strains of *Klebsiella pneumoniae* have emerged in recent years and have led to life-threatening infections in young and healthy people. The aim of the present study was to determine the hypervirulence of Klebsiella Pneumoniae strains producing carbapenemase and Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBLs) isolated from hospitals of Rasht, Iran.

***Materials & Methods*:** This cross-sectional study was conducted on clinical samples isolated from inpatients in Razi, Poursina, Rasoul Akram, Golsar and Al-Zahra hospitals in Rasht. Standard microbiology and molecular methods were used to confirm the identity of *Klebsiella pneumoniae* isolates. String test was used to identify hypervirulent strains. CDT test was used to phenotypically determine ESBL producing strains. Then, determining the presence of the gene encoding carbapenemase (NDM-1) as well as typing of hypervirulent strains was done by PCR method.

***Results*:** In this study, 158 *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different samples were collected and analyzed. In total, 55 isolates (34.8%) had positive string test and were identified as hypervirulent. Among 55 *Klebsiella pneumoniae* isolated strains, 16 (29.1%) were determined phenotypically as ESBL producers. The results showed that only 2 isolates (3.6%) had NDM-1 gene. Also, the frequency of common sequence types in hypervirulent isolates were 9.1% for ST258, 9.1% for ST86 and 3.6% for ST23; ST65 was observed in none of the isolates.

***Conclusion*:** The present study showed significantly high prevalence of hypervirulent *Klebsiella pneumonia* strains with the ability to produce ESBLs and carbapenemase. Undoubtedly, the emergence of high-risk strains in the region in the future is a serious threat to the health system.

***Keywords*:** Carbapenemase, Extended-Spectrum Beta-Lactamase, Hyper virulent, *Klebsiella pneumoniae*, Sequence typing

Address: Department of Microbiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Tel: +989113452076
Email: mojtahedii.ali@gmail.com

SOURCE: STUD MED SCI 2023: 34(9): 494 ISSN: 2717-008X

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

[1] *Department of Microbiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran*

[2] *Department of Microbiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (Corresponding Author)*

[3] *Department of Microbiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran*

[4] *Department of Microbiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-14]

[DOI: 10.61186/umj.34.9.486]