

## مقاله اصلی

# فراوانی کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده کارباپنماز KPC در نمونه های بالینی

## مشهد

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۱۲ - تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۶

### خلاصه

#### مقدمه

امروزه تولید بتالاکتاماز توسط کلبسیلا پنومونیه، مشکلات زیادی در درمان این عفونت ها در دنیا ایجاد نموده است. هدف از این مطالعه شناسایی و تعیین شیوع کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده بتالاکتاماز های وسیع الطیف KPC در نمونه های بالینی شهر مشهد در سال ۱۳۹۳ می باشد.

#### روش کار

در این مطالعه مقطعی که در سال ۱۳۹۳ در بیمارستان قائم و امام رضا مشهد انجام شد، ۲۸۰ ایزوله کلبسیلا پنومونیه جدا شده از نمونه های بیماران پس از تعیین هویت با استفاده از روش های معمول و تست های بیوشیمیایی مورد مطالعه قرار گرفت. حساسیت این سویه ها در برابر ۱۰ آنتی بیوتیک مختلف با استفاده از روش دیسک دیفیوژن ارزیابی شد و به منظور بررسی وجود آنزیم کارباپنماز KPC از آزمون هاج تغییر یافته (MHT) به روش آگار دایلوژن برای مروپنم استفاده شد.

#### نتایج

بیشترین میزان مقاومت این باکتری در مقابل آنتی بیوتیک های سفازولین (۵۴،۴۴٪)، سفیم (۴۹،۴۶٪)، سفنازیدیم (۴۵،۱۹)، تری متوپریم سولفامتوکسازول (۴۶،۲۶٪) می باشد. در این بررسی ۱۳۶ نمونه کلبسیلا پنومونیه ESBL بود که ۲۰ عدد از آن ها دارای تست هاج مثبت بوده، ۳ نمونه MIC آن مساوی ۴ می باشد. ۱۵ نمونه MIC آن ها بیشتر یا مساوی ۸ است.

#### نتیجه گیری

به طور کلی، نتایج این تحقیق نشان می دهد که مقاومت آنتی بیوتیکی به خصوص مقاومت به کارباپنم ها در این باکتری به دلیل ظهور بتالاکتاماز روبه افزایش می باشد. لذا توجه جدی و پایش مستمر مقاومت جهت کنترل مقاومت ها ضرورتی انکارناپذیر است.

**کلمات کلیدی:** تست هاج تغییر یافته، کلبسیلا پنومونیه، کارباپنماز

**پی نوشت:** نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاههای مازندران و علوم پزشکی مشهد که امکان این تحقیق را فراهم آوردند سپاسگزاری می نمایند.

<sup>۱</sup>فاطمه رودباری

<sup>۲</sup>کیارش قزوینی

<sup>۳</sup>سمیه حیدری فورک

<sup>۴</sup>مهدی کوهی نقندر

<sup>۵</sup>سعید عامل جامه دار

<sup>۶</sup>مسعود یوسفی\*

۱- استادیار گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۲- دانشیار گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، مرکز تحقیقات مقاومت های میکروبی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۳- کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۴- کارشناس ارشد، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۵- استادیار گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، مرکز تحقیقات مقاومت های میکروبی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

\*مشهد- بیمارستان امام رضا، آزمایشگاه مرکزی، مشهد، ایران

تلفن: ۰۵۱-۳۸۰۲۲۲۰۶-۹۸+

email:youssefim@mums.ac.ir



## مقدمه

مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک ها جزء مهم ترین خطرات تهدید کننده ی سلامت انسانها توسط سازمان بهداشت جهانی معرفی شده است که درصد فراوانی از مرگ و میرهای سالانه ی در بیمارستان ها را به خود اختصاص می دهد. به نحوی که سازمان بهداشت جهانی سال ۲۰۱۱ را به عنوان سال مقاومت آنتی بیوتیکی نامید. (۱، ۲)

کلبسیلا پنومونیه یکی از شایع ترین پاتوژن های فرصت طلب گرم منفی است که دارای رابطه ژنتیکی نسبتا نزدیکی با سایر جنس های این خانواده نظیر اشیشیا، سالمونلا، شیگلا و یرسینیا است (۳، ۴). این ارگانسیم جزئی از میکروفلور طبیعی بدن انسان را تشکیل می دهد و حدود یک سوم افراد، ناقل روده ای این میکروب هستند، و یکی از عوامل شایع عفونت های بیمارستانی است (۵). کلبسیلا پنومونیه باعث ایجاد انواعی از عفونت ها در افراد مختلف به ویژه نوزادان می شود که می توان به پنومونی، سپتی سمی، اسهال، ایجاد آبسه در کبد، اندوفتالمیت، مننژیت، و عفونت های ادراری و باکتری می اشاره نمود که میزان مرگ و میر ناشی از آن بالا است (۵-۹).

آنچه در مورد این باکتری بیشتر جلب توجه می کند، مقاومت بالای آن ها به آنتی بیوتیک های مختلف و گسترش سریع آن ها در بخش های مختلف به خصوص در بخش های مراقبت ویژه است که سبب سپتی سمی و مرگ و میر بالایی می گردند (۱۰، ۱۱). آنتی بیوتیک های مختلفی جهت درمان عفونت های این باکتری مورد استفاده قرار می گیرد. امروزه، ایزوله های کلبسیلا پنومونیه مقاوم به چندین دارو از علل مهم عفونت های اکتسابی در جامعه و بیمارستان محسوب می شوند. افزایش ظهور مقاومت چند دارویی در بین ایزوله های بیمارستانی به خصوص کلبسیلا پنومونیه گزینه های درمانی را برای درمان عفونت های ایجاد شده به وسیله این باکتری ها محدود ساخته است (۱۰، ۱۱). بر این اساس کاربایتم ها شامل مروپنم و ایمپی پنم تکیه گاه درمان عفونت های وخیم با این پاتوژن ها هستند. مطالعات مختلف نشان دادند که این باکتری

ها به این آنتی بیوتیک ها نیز مقاوم شده اند، که این خود زنگ خطری در درمان عفونت های ناشی از این ارگانسیم است (۸). بتالاکتامازها از مهمترین آنزیمهایی هستند که در ایجاد مقاومت دخیلند. در سالهای اخیر در برخی از باکتری ها، به ویژه کلبسیلا پنومونیه آنزیم های بتالاکتاماز متعددی از جمله: <sup>۱</sup>NDM-1، <sup>۲</sup>OXA-48، <sup>۳</sup>OXA-181، <sup>۴</sup>CTX-M-15 و <sup>۵</sup>KPC با طیف وسیع عملکردی دیده شده است (۷، ۱۲، ۱۳). در این بین اهمیت آنزیم KPC بیشتر است زیرا این آنزیم باعث هیدرولیز طیف وسیعی از داروهای بتالاکتام شامل: مونوباکتامها، کاربایتم ها و سفالوسپورین ها نسل سوم می شود. ژن تولید کننده آن نیز پلاسمیدی است و قادر به انتقال به بسیاری از باکتری ها است (۷، ۱۳). در سال ۲۰۱۱، روش فنوتیپی جهت شناسایی و غربالگری سویه های حامل KPC، به محققین معرفی شد. این روش به صورت استفاده از پلیت آگار حاوی ایمپی پنم در غلظت یک میلی گرم در لیتر می باشد، اما در همان سال <sup>۶</sup>CDC، استفاده از روش های مولکولی مانند Real-time PCR، PCR و تعیین توالی را به میکروبیولوژیست ها پیشنهاد کرد. از آنجا که گزارشات زیادی در مورد میزان شیوع مقاومت با مکانسیم آنزیم bla KPC در سویه های کلبسیلا پنومونیه در ایران وجود ندارد و در شمال شرق ایران نیز گزارشی در این مورد وجود ندارد. این مطالعه برای اولین بار در شمال شرق ایران با هدف تعیین فراوانی مقاومت دارویی و بررسی این مقاومت در سویه های کلبسیلا پنومونیه انجام شد (۱۴).

## روش کار:

در این مطالعه مقطعی ۲۸۰ سویه کلبسیلا پنومونیه از بیماران بستری و سرپایی مبتلا به عفونت های ادراری، ریوی، خون و... در سال ۱۳۹۳ از بیمارستان های دانشگاهی قائم و امام رضا در

<sup>1</sup> New-Delhi-methallo-β -lactamase-1

<sup>2</sup> Oxacillinase-48

<sup>3</sup> Oxacillinase181

<sup>4</sup> Cefotaximase-M-15

<sup>5</sup> *Klebsiella Pneumoniae* Producing Carbapenemase

<sup>6</sup> Centre for Disease Control

شد و دیسک آنتی بیوتیکی مروپنم ۱۰ میکروگرم در مرکز محیط قرار داده شد (۴). در مرحله بعد؛ از باکتری های جدا شده مشکوک به وجود آنزیم کارباپنماز (ESBL<sup>V</sup>)، به کمک سواب از لبه ی دیسک مروپنم (گذاشته شده در مرکز) تا لبه ی پلیت به صورت یک خط مستقیم کشیده شد و در نهایت، پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه ی سانتی گراد انکوبه شدند. سویه های تولید کننده ی آنزیم کارباپنماز باعث می شوند که هاله ی عدم رشد اطراف دیسک مرکزی به صورت شکل نمای برگ شبدری درآید در حالی که سویه های منفی تغییری در این هاله به وجود نمی آورند و هاله ی اطراف آن ها یکدست باقی می ماند (شکل شماره ۱، ۲) (۴، ۷، ۱۲).

پس از انجام تست هاج تغییر یافته به منظور تایید سویه های تولیدکننده کارباپنماز، حداقل غلظت مهار (MIC)<sup>۸</sup>، به کمک روش رقت در آگار (Agar dilution) تعیین گردید. به این صورت که با آماده سازی سوسپانسیون باکتری مطابق با کدورت نیم مک فارلند، باکتری به محیط های مولر هیتون آگار حاوی غلظتهای مختلف مروپنم (۲ و ۴ و ۸ میکروگرم بر میلی لیتر) تلقیح شد. نتایج بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۵ درجه سانتی گراد بررسی و مطابق با استاندارد<sup>۹</sup> CLSI تفسیر شد. سویه هایی که بر روی ۲ میکروگرم بر میلی لیتر مروپنم رشد نکند، نسبت به مروپنم نسبتاً مقاوم (Intermediate Resistant) می باشند. و سویه هایی که فقط در غلظت ۴ میکروگرم بر میلی لیتر به بالا رشد کنند، مقاوم به مروپنم می باشند و مشکوک به تولید کارباپنماز می باشند.

### نتایج

در این تحقیق از ۴۳۰ نمونه کلبسیلا ایزوله شده از هزار نمونه بیماران بستری، ۲۸۰ نمونه (۶۵/۱۱٪) به عنوان کلبسیلا پنومونیه و ۱۵۰ نمونه (۳۴/۸۸٪) به عنوان کلبسیلا اکسی توکا تعیین هویت شدند. در بررسی انجام شده از ۲۸۰ سویه کلبسیلا

مشهد جمع آوری شدند. برای شناسایی و تایید این سویه ها بررسی میکروسکوپی، ویژگی های کلنی و رشد در محیط کشت مک کانکی و همچنین آزمایش های بیوشیمیایی شامل توانایی تخمیر لاکتوز و گلوکز، توانایی مصرف سترات در محیط سیمون سترات، MRVP، حرکت، احیاء گوگرد، تولید اندول، آنزیم اوره آز، لیزین دکربوکسیلاز و اورنین دکربوکسیلاز انجام گرفت. سپس همه ایزوله های کلبسیلا پنومونیه در (۷۰-) درجه سلسیوس در محیط BHI با ۱۵٪ گلیسرول تا زمان انجام آزمایشات بعدی نگهداری شدند (۱۲، ۱۳).

الگوی مقاومت به آنتی بیوتیک در سویه های جداسازی شده نسبت به آنتی بیوتیک های جنتامایسین، آمیکاسین، نیتروفوراتونین، سیپروفلوکساسین، تری متوپریم-سولفامتوکسازول، سفازولین، سفپیم، سفنازیدیم، سفنازیدیم + کلاوولانیک اسید و ایمی پنم به روش دیسک دیفیوژن (دیسک های خریداری شده از شرکت Rosco) بر روی محیط مولر هیتون آگار و با روش استاندارد Kirby-Bauer بر اساس راهنمای موسسه استاندارد آزمایشگاهی و کلینیکی (CLSI) یا Clinical and Laboratory Standards Institute تعیین شد. براساس پیشنهاد CLSI، در سویه های جداسازی شده، عدم حساسیت به یکی یا بیشتری از آنتی بیوتیک های خانواده کارباپنم از جمله ایمی پنم، ارتاپنم، مروپنم و یا مقاومت به یکی یا تعداد بیشتری از سفالوسپورین های نسل سوم از جمله سفوتاکسیم و سفنازیدیم برای شناسایی اولیه ی باکتری های احتمالی دارای مقاومت KPC مورد توجه قرار گرفت (۱۲، ۱۳).

آزمون تاییدی تولید آنزیم کارباپنماز مورد نظر توسط آزمون هاج تغییر یافته انجام شد. در این روش، ابتدا سوسپانسیونی از باکتری استاندارد E. coli ATCC 25922 که به غلظت معادل کدورت نیم مک فارلند رسیده بود، تهیه گشت و به کمک نرمال سالین به ۰/۱ رقیق شد. سپس با استفاده از سوآب در سطح محیط مولر هیتون آگار به صورت چمنی کشت داده

<sup>7</sup> Extended-spectrum beta-lactamase

<sup>8</sup> minimal inhibitory concentration

<sup>9</sup> Clinical and Laboratory Standards Institute

در مرحله بعد، الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله ها به روش دیسک دیفیوژن به انجام رسید. الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی برای این باکتری به صورت زیر می باشد: میزان مقاومت آنتی بیوتیکی به آنتی بیوتیک های سفنازیدیم، سفنازیدیم+کلاوولانیک، جنتامایسین، نیتروفورانتوئین، سیپروفلو کساسین، تری متوپریم سولفامتوکسازول، سفازولین، آمیکاسین، ایمی پنم، سفپیم به ترتیب  $45/19\%$ ،  $36/65\%$ ،  $41/63\%$ ،  $31/67\%$ ،  $35/23\%$ ،  $46/26\%$ ،  $54/44\%$ ،  $31/31\%$ ،  $24/91\%$ ،  $49/46\%$  می باشد.

در این مطالعه نشان داده شد که  $136$  ( $48/57\%$ ) مورد از نمونه ها ESBL بودند. این باکتری های ESBL برای انجام تست هاج انتخاب شدند،  $17$  نمونه تست هاج آن ها مثبت شده، (شکل شماره ۲) و  $3$  نمونه از نظر تست هاج نامشخص (Indeterminate) بوده است. در مرحله بعد نمونه هایی که تست هاج آن ها مثبت بوده را تست آگار دایلوژن انجام داد، که MIC  $3$  سویه مساوی  $2$  بود.  $2$  سویه دارای MIC مساوی  $4$  بود.  $15$  سویه دارای MIC بیشتر یا مساوی  $8$  بود (جدول شماره ۱).

### بحث

درسال های اخیر، گزارش های زیادی از سویه های انتروباکتریاسه تولید کننده ی آنزیم های KPC در جهان گزارش شده است و هرچند که این آنزیم ها اغلب در کلبسیلا پنومونیه یافت شده اند، اما گزارش هایی از این آنزیم ها در سایر باکتری های خانواده انتروباکتریاسه از جمله در انتروباکتر، سالمونلا و سراسیا وجود دارد. با توجه به این که این دسته از آنزیم های مقاومت بر روی پلاسمیدهای قابل انتقال وجود دارند و اغلب با عفونت های بیمارستانی همراه می شوند، بنابراین می توانند به سرعت گسترده شوند و باعث ایجاد مقاومت وسیع گردند ( $15$ ،  $16$ ). از طرف دیگر، با توجه به این که باکتری های خانواده انتروباکتریاسه هنوز به عنوان شایع ترین عفونت های انسانی در بین باکتری ها شناخته می شوند و ایجاد مقاومت در

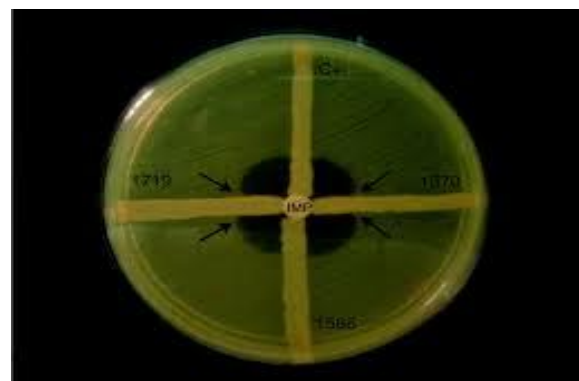
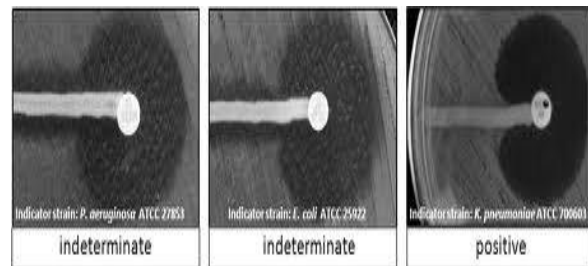
پنومونیه ایزوله شده،  $233$  مورد ( $80\%$ ) مربوط به عفونت های بیمارستانی (بیماران بستری) و  $56$  مورد ( $20\%$ ) مربوط به بیماران سرپایی بودند.

از میان  $10$  آنتی بیوتیک مورد بررسی، کلبسیلا پنومونیه های ایزوله شده به آنتی بیوتیک های سفنازیدیم و جنتامایسین و تری متوپریم سولفامتوکسازول و سفازولین و سفپیم بالاترین مقاومت و به ایمی پنم و نیتروفورانتوئین کمترین مقاومت را نشان دادند. هم چنین در این مطالعه مشخص گردید که  $20$  نمونه ( $7/14\%$ ) از کلبسیلا پنومونیه وجود دارند که به همه این ده آنتی بیوتیک مقاوم هستند.

### جدول ۱- حداقل غلظت مهاری مروپنم برای تعیین سویه های

تولید کننده کارباپنماز

حداقل غلظت مهاری		آنتی بیوتیک
مقاوم	نامشخص	مروپنم
$\geq 4$	$2$	$\leq 1$



شکل ۱- Modified Hodge test (MHT)

آن ها به خصوص اگر این مقاومت بر روی پلاسمید حمل شود، می تواند به سرعت در بین جوامع گسترده گردد. بنابراین بررسی مقاومت آن ها از اهمیت ویژه ای در کنترل عفونت های بیمارستانی برخوردار است. هدف از این مطالعه بررسی الگوی مقاومت کلبسیلا پنومونیه به آنتی بیوتیک های معمول تجویز شده به بیماران بستری و سرپایی می باشد تا اطلاعات لازم جهت سیاست گذاری مناسب برای تجویز آنتی بیوتیک و پیشگیری از افزایش مقاومتهای آنتی بیوتیکی حاصل شود. بدیهی است تعیین حداقل غلظت مهاری و بررسی مقاومت های آنتی بیوتیکی، در تجویز آنتی بیوتیک صحیح موثر است و تجویز آنتی بیوتیک صحیح، اهمیت ویژه ای در کنترل مقاومت های آنتی بیوتیکی در عفونت های بیمارستانی دارد (۴، ۱۲، ۱۳).

مطالعات تایید می کنند که مقاومت کلبسیلا پنومونیه به آنتی بیوتیک های روتین یکی از مشکلات مهم در کشور ما نیز می باشد.

در مطالعه دیگر که توسط امیر مظفری و همکاران در تهران در سال ۲۰۰۷ انجام شد، نرخ مقاومت چند دارویی در ۳۰۳ کلبسیلا پنومونیه، ۶۰٫۲٪ بوده و ۱۰۰٪ سویه ها به سفالوسپورین ها (سفالوتین، سفیکسیم، سفتریاکسون، سفوتاکسیم، سفنازیدیم و سفیتزوکسیم) مقاوم بوده. مقاومت به تتراسایکلین، نالیدیکسیک اسید، کوتریموکسازول، ایمپی پنم، سیروفلوکساسین، نیتروفورانتوئین به ترتیب ۸۰٪، ۴۰٪، ۵۳٪، ۵۶٪، ۲۴٪، ۲۳٪ بوده (۷).

در یک مطالعه مشابه دیگر توسط نسترن زاده در سال ۲۰۱۰ در تهران، مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری کلبسیلا پنومونیه برای ۷۶۵۵ نمونه ادرار مورد آزمایش قرار گرفت. بالاترین نرخ مقاومت به آنتی بیوتیک به آموکسی سیلین (۹۸٪) بود. مقاومت به کوتریموکسازول، نیتروفورانتوئین، سفنازیدیم، سفاتوئین، جنتامایسین، تتراسایکلین، نالیدیکسیک اسید،

کلرامفنیکل، نورفلوکساسین، آمیکاسین، سیروفلوکساسین و ایمپی پنم به ترتیب ۹۵٪، ۹۴٪، ۸۰٪، ۷۷٪، ۶۷٪، ۷۳٪، ۷۲٪، ۵۸٪، ۴۸٪، ۴۳٪، ۲۰٪ بود (۷).

در مطالعه دیگر که توسط امینی زاده و همکارانش در سال در تهران ۲۰۱۱ انجام شد، مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری کلبسیلا پنومونیه مورد بررسی قرار گرفت. که از ۵۶ نمونه کلبسیلا پنومونیه ۳۲ نمونه مقاوم به چند دارو می باشد، که مقاومت به سیروفلوکساسین، سولفامتوکسازول، سفنازیدیم، ایمپینم، آمیکاسین، جنتامایسین، نورفلوکساسین به ترتیب ۶۴٪، ۸۷٪، ۲٪، ۳۶٪، ۶۳٪، ۴۲٪ بوده (۱۲).

در گزارشی از بیمارستان امام خمینی در تهران در سال ۲۰۱۲، شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی در ۱۴۵ سویه کلبسیلا پنومونیه جدا شده به شرح زیر است: کاربنی سیلین ۹۴٪، پیراسیلین ۵۵٪، سفوتاکسیم ۳۳٪، سفنازیدیم ۳۱٪، سفتریاکسون ۲۷٪، سفیتزوکسیم ۲۲٪، سیروفلوکساسین ۱۸٪، جنتامایسین ۱۷٪، آمیکاسین ۱۴٪ و ایمپی پنم پایین ترین نرخ مقاومت را در مقایسه با دیگر آنتی بیوتیک ها دارد (۷).

در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۱۳ توسط هاشمی زاده و همکارانش در شهر کرد انجام شد، مقاومت کلبسیلا پنومونیه به آنتی بیوتیک های آمیکاسین، نیتروفورانتوئین، سفازولین، تری متوپریم سولفامتوکسازول، سفنازیدیم، تتراسایکلین، سفوتاکسیم، سفتریاکسون، آزترئونام، جنتامایسین، آمیکاسین، ایمپینم، مروپنم، سیروفلوکساسین به ترتیب ۸۱٪، ۱۰٪، ۴٪، ۵۳٪، ۲٪، ۴۳٪، ۴۰٪، ۴۰٪، ۳۲٪، ۴۰٪، ۴۶٪، ۴۱٪، ۳۱٪ بوده است (۲۲).

در مطالعه دیگری که در تهران در سال ۲۰۱۱ انجام شد، مقاومت به ایمپینم ۹٪ گزارش شده در صورتیکه مقاومت به

توسط پاناگه آ و همکارانش در سال ۲۰۱۱ انجام شد به بررسی دو روش کروم آگار و پلیت مک کانگی آگار حاوی یک میلی گرم برلیتر ایمی پنم پرداختند که اختصاصیت و حساسیت روش کروم آگار را به ترتیب ۱۰۰ و ۹۸/۸٪ و برای پلیت مک کانگی حاوی ایمیپنم اختصاصیت و حساسیت روش ۹۴/۷ و ۸۸/۶٪ گزارش شد (۷، ۱۹-۲۱، ۲۴).

### نتیجه گیری

ما در این مطالعه به بررسی میزان مقاومت کلبسیلا پنومونیه به روش MHT و آگار دایلوژن پرداخته شد. در این مطالعه از ۲۰ سویه ای که تست هاج تغییر یافته آن ها مثبت بوده، ۱۷ سویه MIC آن ها در محدوده مقاوم بوده، در نتیجه اختصاصیت و حساسیت این روش بسیار بالا می باشد. اما امروزه توجه زیادی به مطالعات مولکولی ژن مقاومت KPC در باکتری ها شده است. اگرچه روش های مولکولی حساسیت و اختصاصیت خیلی بالایی دارند، اما به دلیل اینکه این راهکارها در هر آزمایشگاهی در دسترس نیست و نیاز به مهارت خاص و استانداردهایی دارد، کاربرد آنها محدود است. پس علاوه بر روش های مولکولی به عنوان روش های استاندارد جهانی، استفاده از روش MHT می تواند یک روش مناسب در تشخیص باکتری های مقاوم به کاربایتم باشد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاههای مازندران و علوم پزشکی مشهد که امکان این تحقیق را فراهم آوردند سپاسگزاری می نمایند. همچنین از کارکنان بخش میکروب شناسی بیمارستان های پژوهشی- درمانی قائم (عج) و امام رضا(ع) مشهد نهایت تشکر و قدردانی می شود.

ایمیپنم در این مطالعه ۲۴/۹۱٪ گزارش شده است که این افزایش مقاومت به کاربایتم ها را نشان می دهد (۲۳). طبق داده های گذشته و بررسی که در این مطالعه انجام شده، مقاومت به سفالوسپورین ها و کاربایتم ها، تتراسایکلین ها، نیتروفوراتوتوئین ... در حال افزایش می باشد. که این خود زنگ خطری برای سلامت بشر می باشد.

هم چنین از این داده های گذشته و نتایج به دست آمده در این مطالعه به این نتیجه می رسیم که کلبسیلا پنومونیه مقاوم به چند دارو روز به روز در حال افزایش است، که بیشترین نرخ آن هم مربوط به عفونت های بیمارستانی است و مقاومت به سفالوسپورین ها و کاربایتم ها که خط درمانی نهایی است، در حال افزایش است. که این برای عفونت های بیمارستانی بسیار نگران کننده می باشد (۴، ۱۳، ۱۷).

مقاومت در برابر کاربایتم ها یکی از مشکلات مهم در درمان عفونت های ناشی از سویه های مقاوم به چند دارو است. اگرچه سویه های KPC حساس به کلستین هستند، اما تجویز آن رایج نیست چون به دلیل عوارض جانبی آن تجویز نمی شود. بنابراین تعیین سویه های KPC به روش فنوتیپی یا ژنوتیپی یکی از وظایف اصلی در آزمایشگاه تشخیص طبی می باشد. هر روش یک سری مزایا و محدودیت دارد (۴، ۷، ۱۳، ۱۸). در مطالعه ای توسط سمرا و همکارانش در سال ۲۰۰۸ انجام شد، دو روش کروم آگار و MHT<sup>۱۰</sup> را برای تشخیص سویه های KPC مقایسه کرد (۲۵، ۲۶). که در این مطالعه ۴۳ سویه (۳۵/۲٪) از کلبسیلا پنومونیه های جدا شده با تست کروم آگار مقاوم گزارش شده اند، در حالی که روش MHT (۳۱/۱٪) دارای نتایج مثبت بودند (۷). در مطالعه ای دیگر که

<sup>10</sup> Modified Hodge test

**References:**

1. Fernández A, Pereira MJ, Suárez JM, Poza M, Treviño M, Villalón P, et al. Emergence in Spain of a multidrug-resistant *Enterobacter cloacae* clinical isolate producing SFO-1 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase. *J Clin Microbiol* 2011;49(3):822-828.
2. Jean S-S, Hsueh P-R. High burden of antimicrobial resistance in Asia. *Intl J Antimicrob Agents* 2011;37(4):291-295.
3. Al Sehlawi ZS, Almohana AM, AlThahab AA. Occurrence and Detection of Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates in Najaf Hospitals. *Al-Kufa J Biol* 2013;5(2):44-50.
4. Amjad A, Mirza I, Abbasi S, Farwa U, Malik N, Zia F. Modified Hodge test: A simple and effective test for detection of carbapenemase production. *Iranian J Microbiol* 2011;3(4):189-211.
5. Padilla E, Llobet E, Doménech-Sánchez A, Martínez-Martínez L, Bengoechea JA, Albertí S. *Klebsiella pneumoniae* AcrAB efflux pump contributes to antimicrobial resistance and virulence. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54(1):177-183.
6. Luo Y, Yang J, Zhang Y, Ye L, Wang L, Guo L. Prevalence of  $\beta$ -lactamases and 16S rRNA methylase genes amongst clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates carrying plasmid-mediated quinolone resistance determinants. *Int J Antimicrob Agents* 2011;37(4):352-355.
7. Haji Hashemi B, Farzanehkhah M, Dolatyar A, Imani M, Farzami M, Rahbar M, et al. A study on prevalence of KPC producing from *Klebsiella pneumoniae* using Modified Hodge Test and CHROMagar in Iran. *J Annals Biological Res* 2012; 3 (12):5659-5664.
8. Lye D, Kwa A, Chlebicki P. World health day 2011: antimicrobial resistance and practical solutions. *Ann Acad Med Singapore* 2011;40(4):156-152.
9. Roy S, Viswanathan R, Singh AK, Das P, Basu S. Sepsis in neonates due to imipenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* producing NDM-1 in India. *J Antimicrobial Chemother* 2011;66(6):1411-1413.
10. García-Sureda L, Juan C, Doménech-Sánchez A, Albertí S. Role of *Klebsiella pneumoniae* LamB porin in antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55(4):1803-1805.
11. Maham S, Fallah F, Eslami G, Shamsafar S, Radmanesh R, Pourkaveh B. The antimycobacterium activity of mentha piperita and mentha spicata ethanolic extract against mycobacterium Bovis in comparison with isoniazid. *Arch Clin Infect Dis* 2011;6(2):78-81.
12. Aminzadeh Z, Kashi MS. Prevalence of multi-drug resistance and pandrug resistance among multiple gram-negative species: experience in one teaching hospital, Tehran, Iran. *Int Res J Microbiol* 2011;2(3):90-95.
13. Azimi L, Lari AR, Alaghebandan R, Alinejad F, Mohammadpoor M, Rahbar M. KPC-producer gram negative bacteria among burned infants in Motahari Hospital, Tehran: first report from Iran. *Ann Burns fire Disast* 2012;25(2):74-78.
14. Falah F, Hakemi M, Hashemi A. The emergence of new plasmid B-lactamase in *Klebsiella pneumoniae*. *J Qom Med Sci* 2013;6(4):104-116.
15. Lu PL, Liu YC, Toh HS, Lee YL, Liu YM, Ho CM, et al. Epidemiology and antimicrobial susceptibility profiles of Gram-negative bacteria causing urinary tract infections in the Asia-Pacific region: 2009–2010 results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *Int J Antimicrob Agents* 2012;40:S37-S43.
16. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2007;20(3):440-458.
17. Villegas MV, Lolans K, Correa A, Suarez CJ, Lopez JA, Vallejo M, et al. First detection of the plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2 in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from South America. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(8):2880-2882.
18. Leavitt A, Chmelnitsky I, Ofek I, Carmeli Y, Navon-Venezia S. Plasmid pKpQIL encoding KPC-3 and TEM-1 confers carbapenem resistance in an extremely drug-resistant epidemic *Klebsiella pneumoniae* strain. *J Antimicrob Chemother* 2010;65(2):243-248.
19. Chen L, Mediavilla JR, Endimiani A, Rosenthal ME, Zhao Y, Bonomo RA, et al. Multiplex real-time PCR assay for detection and classification of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase gene (blaKPC) variants. *J Clin Microbiol* 2011;49(2):579-585.
20. Doern CD, Dunne WM, Burnham C-AD. Detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) production in non-*Klebsiella pneumoniae* Enterobacteriaceae isolates by use of the Phoenix, Vitek 2, and disk diffusion methods. *J Clin Microbiol* 2011;49(3):1143-1147.
21. Hindiyeh M, Smollen G, Grossman Z, Ram D, Davidson Y, Mileguir F, et al. Rapid detection of blaKPC carbapenemase genes by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2008;46(9):2879-2883.



22. Hashemizade F, Zaman Zade B, Jahadideh S, Ansari N, Qolipour A, Mirnejad R. Frequency of Klebsiella Pneumoniae Producing Carbapenemase KPC in Clinical specimens in iran. *Lorestan Med Sci J* 2013;15(1):105-114.
23. Naseh Z, Eftekhari F. Detection of Carbapenemase Production in Clinical Isolates of Klebsiella pneumoniae. *Ardabil Med Sci J* 2011;13(2):144-157.
24. Pangea T, Galani I, Souli M, Adamou P, Antoniadou A, Giamarellou H. *Int J Antimicrob Agents* 2011; 37(2):124-128.
25. Samra Z, Ofir O, Lishtzinsky Y, Madar-Shapiro L, Bishara J. *Int J Antimicrob Agents* 2008;30:525-529.
26. Hajia M, Rahbar M, Zadeh MM. A novel method "CHROMagar" for screening vancomycin – resistant Enterococci (VRE) isolates. *African J Biotech* 2012;11(41):9865-9868.