Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 23, No.8, Oct-Nov 2015
Pages: 760-769

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۳، شماره ۸، آبان ۱۳۹۴
صفحه: ۷۶۰-۷۶۹

# فراوانی ژن‌های کرباپنماز blaVIM، blaIMP، blaKPC و blaNDM در جدایه‌های بالینی کلبسیلا پنومونیه در مراکز درمانی کرمانشاه

ابوالفضل زارع[۱]، علیشا اکیا*[۲]، پریسا نجات[۳]

**چکیده**

**مقدمه:** ژن های کرباپنماز در میان سویه‌های کلبسیلا پنومونیه انتشاریافته و موجب مقاومت به کرباپنم‌ها شده است. در این مطالعه شیوع ژن‌های کرباپنماز در میان ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه در مراکز درمانی کرمانشاه مورد بررسی قرار گرفت..

**روش بررسی:** تعداد ۶۰ ایزوله کلبسیلا پنومونیه جمع‌آوری و پس از تایید آنها به وسیله کیت API، سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها به روش دیسک دیفیوژن انجام شد. ایزوله‌های مقاوم به کرباپنم‌ها برای تولید کرباپنماز با روش MHT(Modified Hodge Test) غربالگری شدند در ادامه آزمایش PCR برای شناسایی ایزوله‌های مولد ژن‌های کرباپنماز blaVIM، blaIMP، blaKPC و blaNDM انجام شد.

**نتایج:** از میان ۶۰ ایزوله، ۴ ایزوله به آنتی‌بیوتیک‌های کرباپنم مقاوم بودند، ولی تست فنوتیپی MHT برای کرباپنمازها تنها در یک ایزوله مثبت بود. ژن کرباپنماز blaVIM در سه ایزوله به روش PCR یافت شد. نتیجه PCR برای سایر ژن‌های کرباپنماز در ایزوله‌ها منفی بود. ایزوله‌ها نسبت به آمپی‌سیلین و کرباپنم‌ها به ترتیب با ۱۰۰ و ۶/۶۷ درصد بیشترین و کمترین مقاومت را داشتند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد که انتشار ژن‌های کرباپنماز در میان ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه در شهر کرمانشاه زیاد نیست و تنها ژن blaVIM نسبت به سایر ژن‌ها با احتمال فراوانی بیشتری وجود دارد. نظر به اینکه بیشتر ایزوله‌های مورد بررسی در این مطالعه به آنتی‌بیوتیک‌های کرباپنم حساس بودند، این آنتی‌بیوتیک‌ها همچنان به عنوان داروهای موثری علیه عفونت‌های ناشی از کلبسیلا پنومونیه محسوب می‌شوند.

**واژه‌های کلیدی:** ژن‌های کرباپنماز، کلبسیلا پنومونیه، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

۱- دانشجوی دکترای داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه
۲- دانشیار میکروب شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات عفونت‌های بیمارستانی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه
۳- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۲۰- ۰۳۴۲۷۴۶۱۸، پست الکترونیکی: akya359@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۱۵

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-01-30 ]

**مقدمه**

کلبسیلا پنومونیه یکی از مهم‌ترین گونه‌های خانواده انتروباکتریاسه است که به طور طبیعی در روده انسان و جانوران وجود دارد(۱،۲). سویه‌های کلبسیلا پنومونیه باعث عفونت‌های مختلفی مانند عفونت مجاری ادراری، مجاری تنفسی، زخم، اسهال و عفونت‌های شدید بیمارستانی می‌شوند(۳). یکی از مشکلات درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط کلبسیلا پنومونیه، مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها است و در نتیجه داروهای بکار گرفته شده برای درمان عفونت‌های آن محدود است(۱).

در حال حاضر کرباپنم‌ها از داروهای انتخابی برای درمان عفونت‌های شدید ایجاد شده توسط باکتری‌های گرم منفی مانند کلبسیلا پنومونیه می‌باشند(۴). یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مقاومت در میان ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه نسبت به این داروها، تولید آنزیم‌های کرباپنماز است(۵). کرباپنمازها خانواده‌ای از بتالاکتامازهای طیف گسترده هستند که می‌توانند پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها، مونوباکتام‌ها و کرباپنم‌ها را هیدرولیز کنند(۱).

طبقه‌بندی آمبلر بتالاکتامازها را بر اساس توالی آمینواسیدی آنها، به چهار کلاس اصلی A تا D تقسیم‌بندی می کند. کلاس A، C و D بتالاکتامازهایی هستند که در جایگاه فعال خود اسید آمینه سرین دارند، درحالی‌که بتالاکتامازهای کلاس B که به متالوبتالاکتامازها نیز شهرت دارند، در جایگاه فعال خود فلز روی دارند. کرباپنمازها در کلاس‌های A، B و D بتالاکتامازها وجود دارند(۶).

اعضای اصلی کرباپنمازهای سرینی کلاس A شامل NMC/IMI، SME و KPC هستند(۷). از نظر اهمیت بالینی KPC مهم‌ترین کرباپنماز کلاس A محسوب می‌شود(۷). نخستین عضو از خانواده KPC، KPC-2 بود که در سال ۱۹۹۶ از یک ایزوله بالینی کلبسیلا پنومونیه جداسازی شد و پس از آن در مدت کوتاهی ایزوله‌های مولد KPC به صورت گسترده در نقاط دنیا گسترش یافتند(۸).

کرباپنمازهای کلاس B(متالوبتالاکتامازها) شامل آنزیم‌های VIM(متالوبتالاکتاماز اینتگرونی ورونا)، IMP(موثر بر ایمی پنم) و اخیراً NDM-1(متالوبتالاکتاماز دهلی نو) هستند(۸،۹). نخستین عضو از آنزیم‌های این کلاس IMP-1 بود که در سال ۱۹۹۱ در ژاپن گزارش شد و پس از آن در نقاط مختلف جهان گزارش شده‌اند(۸).

آنزیم‌های نوع VIM و IMP اگرچه در بیشتر کشورها یافت شده‌اند اما به صورت اندمیک در یونان، تایوان و ژاپن وجود دارند(۸). متالوبتالاکتاماز NDM-1 عضو جدیدی از این خانواده است که در سال ۲۰۰۸ جداسازی شد که فعالیت آن به وسیله EDTA مهار می‌شود اما کلاولانیک اسید تاثیری روی آنها ندارد(۸). بیشتر گونه‌های مولد متالوبتالاکتاماز ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه جداشده از عفونت‌های بیمارستانی و دارای مقاومت دارویی چندگانه هستند(۸).

مکانیسم شایع مقاومت به کرباپنم‌ها در میان سویه‌های کلبسیلا، ناشی از تولید کرباپنمازهای کلاس A آمبلر به خصوص کرباپنماز کلبسیلا پنومونیه(KPC) و متالوبتالاکتامازهای نوع IMP و VIM است(۱۰). موسسه استانداردهای آزمایشگاه و بالین(Clinical and Laboratory Standards Institute = CLSI) پیشنهاد نموده است که تمام انتروباکتریاسه‌هایی که کمترین غلظت بازدارنده(MIC) آنها برای کرباپنم‌ها افزایش پیدا کرده و یا قطر هاله عدم رشد آنها در روش دیسک دیفیوژن کاهش یافته است، باید از نظر داشتن کرباپنمازها مورد بررسی قرار گیرند(۱۱).

با توجه به انتشار ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده کرباپنماز در مناطق مختلف جهان و چالش درمان عفونت‌های آنها، پایش انتشار ژن‌های کرباپنماز در این باکتری در مناطق مختلف کشور ضرورت دارد. بنابراین برای فراهم‌کردن اطلاعات بروز از انتشار این ژن‌ها در کرمانشاه، این مطالعه با هدف فراوانی ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه مولد ژن‌های blaVIM، blaIMP، blaKPC و blaNDM انجام شده.

**روش بررسی**

این مطالعه بر روی ۶۰ ایزوله کلبسیلا پنومونیه انجام شد. ایزوله‌ها از نمونه‌های بیماران در بیمارستان‌های امام رضا، امام خمینی، طالقانی و آزمایشگاه مرکزی شهر کرمانشاه در طی



[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-01-30 ]

سال‌های ۹۲-۱۳۹۱ جدا شده بودند. بعد از کشت، خالص‌سازی و شناسایی جنس و گونه ایزوله‌ها بر اساس خصوصیات بیوشیمیایی و با استفاده از کیتAPI20E (Biomerieux, France) انجام شد. بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش disk diffusion طبق دستور CLSI انجام شد(۱۱).

باکتری‌های مورد نظر ابتدا در محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شدند و در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴- ۱۸ ساعت انکوبه شدند. پس از رشد باکتری‌ها و تهیه سوسپانسیونی با کدورت معادل محلول استاندارد نیم مک فارلند برای هر نمونه، با استفاده از سواب استریل بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شدند. پس از دیسک‌گذاری، پلیت‌ها در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴– ۱۸ ساعت قرار داده شدند. از سویه E.coliATCC 25922 به عنوان کنترل کیفی استفاده گردید. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک مورد استفاده شامل آمپی‌سیلین، سفازولین، جنتامایسین، توبرامایسین، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون، سفپودوکسیم، آزترئونام، ارتاپنم، مروپنم، ایمی‌پنم، پی‌پیراسیلین-تازوباکتام، سیپروفلوکساسین و کوتریموکسازول بودند. در نهایت نتایج تست‌ها با استفاده از جداول CLSI ارزیابی شد.

برای غربالگری ایزوله‌ها از نظر تولید کرباپنماز ابتدا تست حساسیت به روش دیسک دیفیوژن به آنتی‌بیوتیک مروپنم یا ارتاپنم انجام شد. بر اساس دستورالعمل‌های CLSI، در صورتیکه قطر هاله عدم رشد برای ارتاپنم ۲۱ تا ۱۶ و برای مروپنم ۱۴ تا ۲۱ میلی‌متر بود، این ایزوله‌ها مشکوک به تولید کارباپنماز قلمداد شدند. تشخیص فنوتیپی تولید کرباپنماز برای سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های کرباپنم به وسیله تست Modified Hodge Test (MHT) و با استفاده از یک دیسک ارتاپنم 10 µg(یا مروپنم) بر طبق دستور CLSI انجام شد(۱۲).

ابتدا سوش باکتری استاندارد E.coliATCC 25922 کشت داده شد و غلظت معادل کدورت نیم مک‌فارلند تهیه شد و روی مولر هینتون آگار پخش گردید. پس از ۱۵ دقیقه یک دیسک آنتی‌بیوتیک ارتاپنم یا مروپنم 10 µg در وسط پلیت گذاشته شد. سپس ۳ ایزوله کلبسیلا پنومونیه به صورت خطی از لبه دیسک تا انتهای خارجی پلیت کشت داده شد. با توجه به الگوی رشد E.coli در اطراف دیسک و خط کشت ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه، نتیجه تست مشخص شد. به طوری‌که اگر سوش استاندارد E.coliATCC 25922 در حاشیه خط رشد ایزوله‌ها به سمت دیسک رشد داشت، مولد کرباپنماز قلمداد شد. تمام ۶۰ ایزوله برای وجود ژن‌های کرباپنماز VIM، IMP، KPC و NDM با PCR بررسی شدند. ابتدا DNA نمونه‌ها با استفاده از روش boiling استخراج و سپس PCR برای شناسایی ژن‌ها با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام شد(جدول ۱) (۸،۱۳).

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه

| ژن کارباپنماز | اندازه محصول PCR(bp) | دمای Annealing (°C) | توالی پرایمرها(´3 -´5) | رفرنس |
|---|---|---|---|---|
| blaKPC | ۹۰۰ | ۵۶ | F-TGTCACTGTATCGCCGTC<br>R-CTCAGTGCTCTACAGAAAACC | ۱۳ |
| blaIMP | ۲۳۲ | ۵۴ | F-GGAATAGAGTGGCTTAAYTC<br>R-TCGGTTTAAYAAAACAACCACC | ۸ |
| blaVIM | ۳۹۰ | ۵۳ | F-GATGGTGTTTGGTCGCATA<br>R-CGAATGCGCAGCACCAG | ۱۳ |
| blaNDM | ۶۲۱ | ۵۶ | F-GGTTTGGCGATCTGGTTTTC<br>R-CGGAATGGCTCATCACGATC | ۱۳ |

PCR با حجم نهایی ۲۵µl شامل Master mix۱۲/۵µl (سیناکلون، ایران)، DNA ۲µl باکتری، ۱µl از هر پرایمر(سیناکلون، ایران) و ۸/۵µl آب مقطر استریل برای هر ژن جداگانه و در ۳۰ سیکل انجام شد. الکتروفورز نمونه‌ها در ژل آگارز ۱ درصد انجام و



[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-01-30 ]

پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید، با دستگاه GelDoc( BioRad, USA) مشاهده شد. از سویه‌های آزمایشگاهی شناخته شده کلبسیلا پنومونیه و سودوموناس ائروژینوزا دارای ژن‌های blaVIM، blaIMP، blaKPC و blaNDM به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. در پایان داده‌های حاصل بررسی و تحلیل شد و برای مقایسه داده از تست Chi Square استفاده گردید.

## نتایج

از بین ۶۰ ایزوله کلبسیلا پنومونیه، ۲۲ ایزوله(۳۶/۶۷ درصد) مربوط به بیماران سرپایی و ۳۸ ایزوله(۶۳/۳۷ درصد) متعلق به بیماران بستری بودند. بیشترین ایزوله‌ها از نمونه‌های عفونت ادراری بیماران(۶۳/۳۳ درصد) و کمترین آنها از نمونه خلط بیماران(۳/۳۳ درصد) جدا شدند(جدول ۲).

جدول ۲: توزیع فراوانی ایزوله‌ها بر حسب نوع نمونه بالینی، بیماران سرپایی و بستری

| نوع نمونه | تعداد ایزوله | درصد ایزوله | بستری تعداد | بستری درصد | سرپایی تعداد | سرپایی درصد |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ادرار | ۳۸ | ۶۳/۳۳ | ۱۶ | ۴۲/۱۰ | ۲۲ | ۵۷/۹ |
| عفونت سوختگی | ۸ | ۱۳/۳۳ | ۸ | ۱۰۰ | ۰ | ۰ |
| ترشحات تنفسی | ۵ | ۸/۳۳ | ۵ | ۱۰۰ | ۰ | ۰ |
| ترشحات زخم | ۴ | ۶/۶۷ | ۴ | ۱۰۰ | ۰ | ۰ |
| خون | ۳ | ۵ | ۳ | ۱۰۰ | ۰ | ۰ |
| خلط | ۲ | ۳/۳۳ | ۲ | ۱۰۰ | ۰ | ۰ |
| جمع | ۶۰ | ۱۰۰ | ۳۸ | ۶۳/۳۳ | ۲۲ | ۳۶/۶۷ |

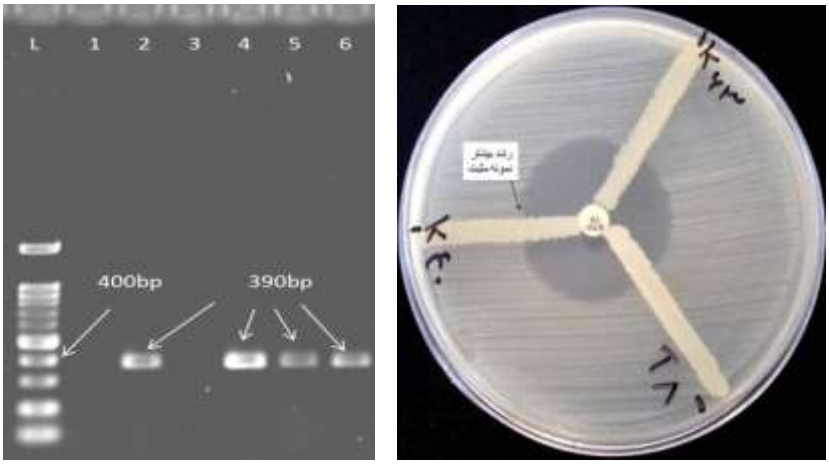
مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳: فراوانی (درصد) حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله های کلبسیلا پنومونی

| آنتی‌بیوتیک | مقاوم تعداد (درصد) | میزان حساسیت: نیمه حساس تعداد (درصد) | میزان حساسیت: حساس تعداد (درصد) |
|---|---|---|---|
| آمپی سیلین | ۶۰ (۱۰۰) | ۰ | ۰ |
| سفازولین | ۴۰ (۶۶/۶۷) | ۱۴ (۲۳/۳۳) | ۶ (۱۰) |
| سفپودوکسیم | ۳۶ (۶۰) | ۰ | ۲۴ (۴۰) |
| سفتازیدیم | ۳۶ (۶۰) | ۰ | ۲۴ (۴۰) |
| سفوتاکسیم | ۳۴ (۵۶/۶۷) | ۱ (۱/۶۷) | ۲۵ (۴۱/۶۷) |
| سفتریاکسون | ۳۴ (۵۶/۶۷) | ۱ (۱/۶۷) | ۲۵ (۴۱/۶۷) |
| توبرامایسین | ۳۴ (۵۶/۶۷) | ۱ (۱/۶۷) | ۲۵ (۴۱/۶۷) |
| کوتریموکسازول | ۳۳ (۵۵) | ۳ (۵) | ۲۴ (۴۰) |
| آزترئونام | ۳۳ (۵۵) | ۰ | ۲۷ (۴۵) |
| جنتامایسین | ۲۰ (۳۳/۳۳) | ۱ (۱/۶۷) | ۳۹ (۶۵) |
| سیپروفلوکساسین | ۱۹ (۳۱/۶۷) | ۴ (۶/۶۷) | ۳۷ (۶۱/۶۷) |
| پی‌پراسیلین - تازوباکتام | ۸ (۱۳/۳۳) | ۱۰ (۱۶/۶۷) | ۴۲ (۷۰) |
| ارتاپنم | ۴ (۶/۶۷) | ۱ (۱/۶۷) | ۵۵ (۹۱/۶۷) |
| مروپنم | ۴ (۶/۶۷) | ۳ (۵) | ۵۳ (۸۸/۳۳) |
| ایمی‌پنم | ۴ (۶/۶۷) | ۱ (۱/۶۷) | ۵۵ (۹۱/۶۷) |

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-01-30 ]

از میان باکتری‌های جدا شده، چهار ایزوله(۶/۶۷ درصد) به کرباپنم‌ها مقاوم بودند که از بیماران بستری و مربوط به بخش‌های مراقبت‌های ویژه و سوختگی بودند. از میان ایزوله‌های مقاوم به کرباپنم‌ها، با روش فنوتیپی تنها یکی از ایزوله‌ها برای کرباپنماز مثبت بود( شکل ۱)، اما در بررسی ژن‌های کرباپنماز VIM، IMP، KPC و NDM با روش PCR، ژن blaVIM برای سه ایزوله مثبت بود که نمونه فنوتیپ مثبت یکی از آنها بود( شکل ۱).




شکل ۱: در تصویر راست، تست فنوتیپی MHT برای تشخیص تولید کرباپنماز : K40، مثبت; T8 و K63، منفی.
در تصویر چپ، یافته‌های PCR برای ژن *blaVIM*: چاهکL، Ladder 100 bp; چاهک ۱، کنترل منفی; ۲، کنترل مثبت; ۳، نمونه منفی; ۴، ۵ و ۶، دارای ژن *bla*VIM

اما ژن‌های دیگر در ایزوله‌ها یافت نشدند. در مقایسه مقاومت ایزوله‌های بیمارستانی از سرپایی بیشتر و از نظر آماری معنی‌دار بود(p=۰/۰۱۲). به علت کم بودن موارد مثبت ژن‌های کارباپنماز ارتباط آنها با دیگر خصوصیات ایزوله‌ها از نظر آماری قابل مقایسه نبود.

**بحث**

مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های گروه کرباپنم ناشی از آنزیم‌های کرباپنماز در طول ده سال گذشته به وفور در اعضای مختلف خانواده انتروباکتریاسه گزارش شده است(۸،۱۴). نتایج این مطالعه بیانگر آن است که ایزوله‌ها نسبت به آمپی‌سیلین و سفازولین بالاترین مقاومت اما به ایمی‌پنم، مروپنم و ارتاپنم پایین‌ترین مقاومت را از خود نشان دادند که مشابه نتایج مطالعه‌ای در برزیل در مورد حساسیت به کارباپنم‌ها بود(۱۵). به نظر می‌رسد کرباپنم‌ها هنوز بیشترین اثر را روی ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه در کرمانشاه دارند. مقاومت ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، توبرامایسین، آزترئونام و سفپودوکسیم مشابه مطالعات دیگر بود(۱۹-۱۶).

در بررسی ما یک سوم از ایزوله‌ها از بیماران سرپایی بودند که به تمام آنتی‌بیوتیک‌های کرباپنم مورد استفاده حساسیت نشان دادند. همچنین این ایزوله‌ها نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های دیگر نیز حساسیت خیلی بالاتری نسبت به ایزوله‌های بیمارستانی داشتند که نشان‌دهنده انتشار ژن‌های مقاومت در محیط‌های بیمارستانی است.

با شناسایی کرباپنمازهایی مانند IMP و KPC الگوی انتشار کرباپنمازها بیشتر نمایان شد و امروزه با گسترش روزافزون این آنزیم‌ها به یک مسئله جدی تبدیل شده است(۷). در مطالعه ما، ژن blaIMP در هیچ کدام از نمونه‌ها یافت نشد که با مطالعات انجام شده در کشورهای آسیایی مانند عربستان، ژاپن، کره جنوبی و سنگاپور مطابقت دارد(۲۴-۲۱،۱۶). علاوه بر این در مطالعات مشابه انجام شده در سایر نقاط جهان مانند یونان، آلمان،آمریکا، و برزیل نیز ژن blaIMP در هیچ کدام از ایزوله‌های کلبسیلا پنمونیه مورد برررسی مشاهده نشده است(۲۸-۲۵،۱۵،۱۰،۴). نتایج این بررسی‌ها برای ژن blaIMP نشان‌دهنده شیوع پایین انتشار این ژن در میان ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه است. علاوه بر این ذکر این نکته ضروری است که فراوانی ژن‌های blaIMP در قاره آسیا به



[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-01-30 ]

صورت اندمیک بیشتر در کشورهای آسیای شرقی و هندوستان گزارش شده است(۸). در مطالعه ما هیچ‌کدام از ایزوله‌های مورد بررسی دارای ژن blaNDM نبودند که این مورد نیز در نتایج سایر مطالعات انجام شده در کشورهایی تایوان (۲۹)، عربستان(۲۲)، چین(۱)، ژاپن(۲۳)، یونان(۱۰)، برزیل(۴) و آمریکا(۲۷) اتفاق افتاده است.

از سال ۲۰۱۰ سویه‌های مولد ژن blaNDM در مناطق مختلف جهان و البته بیشتر در هندوستان گسترش یافته‌اند(۸). از آنجایی که ژن blaNDM چندسالی است که یافت شده است، بنابراین انتظار می‌رود انتشار آن نسبت به سایر ژن‌های کرباپنماز زیاد نباشد(۸).

با وجود اینکه ژن blaKPC یکی از اصلی‌ترین آنزیم‌های کرباپنمازهای کلاس A محسوب می‌شود که در انواع گونه‌های کلبسیلا گزارش شده است(۳۰)، در مطالعه ما هیچ‌کدام از ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه مورد بررسی دارای ژن blaKPC نبودند. البته در بررسی‌های مشابه انجام شده بر روی ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه در کشورهای دیگری مانند چین(۱)، یونان(۱۰)، عربستان(۲۱،۲۲)، تایوان(۲۹)، تایلند(۳۱)، برزیل(۲۸)، ژاپن(۲۳) و هندوستان(۳۲) نیز این ژن یافت نشده است. یک توجیه آن شاید موتاسیون‌هایی است که در این ژن‌ها اتفاق می‌افتد و در نتیجه ژن‌های دیگر جایگزین ژن‌های قبلی در ایزوله‌ها می‌شوند(۷).

در مطالعه ما هر چند تعداد موارد مثبت به طورکلی کم بود، ولی فراوانی ژن blaVIM بیشتر از بقیه ژن‌ها بود و همه ایزوله‌های دارای ژن blaVIM به تمام آنتی‌بیوتیک‌های کرباپنم مورد بررسی مقاوم بودند، که این یافته در مطالعات دیگر نیز آمده است(۲۵،۲۷،۳۳،۳۴). همچنین ایزوله‌های دارای این ژن به سایر آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی از جمله آمپی‌سیلین، سفازولین، جنتامایسین، توبرامایسین، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون، سفپودوکسیم، آزترئونام، پی‌پیراسیلین-تازوباکتام، سیپروفلوکساسین و کوتریموکسازول نیز مقاومت نشان دادند(۴،۲۵،۲۶،۳۳).

از طرف دیگر، ایزوله‌های فاقد این ژن به آنتی‌بیوتیک‌های کرباپنم و بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های دیگر حساس بودند. این موضوع اهمیت این ژن را در ایجاد مقاومت در کلبسیلا پنومونیه به آنتی‌بیوتیک‌ها را نشان می‌دهد.

بیشترین شیوع ایزوله‌های حاوی ژن blaVIM در مطالعه ما مربوط به نمونه‌های ادراری بود که با نتایج مطالعات دیگر(۱۷،۲۵،۳۱) مطابقت دارد. علاوه بر این بیشترین ایزوله‌های حاوی ژن blaVIM مربوط به بیماران بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه بود که مشابه نتایج مطالعات دیگر(۲۱،۳۲،۳۵) می‌باشد.

این موضوع اهمیت کنترل عفونت و پیشگیری از انتشار سویه‌های مقاوم در بیمارستان‌ها به خصوص در بخش‌های مراقبت‌های ویژه را نشان می‌دهد. نتایج این مطالعه نشان داد که روش فنوتیپی برای شناسایی ایزوله‌های دارای ژن‌های کرباپنماز از حساسیت کمتری برخودار است که ممکن است به علت عدم بیان کامل این ژن‌ها در همه ایزوله‌ها بخصوص در شرایط آزمایشگاهی باشد.

## نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان انتشار ژن‌های کرباپنماز در میان ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه در شهر کرمانشاه زیاد نیست و تنها ژن blaVIM نسبت به سایر ژن‌ها با فراوانی بیشتری وجود دارد. از سوی دیگر با توجه به اینکه بیشتر ایزوله‌های مورد بررسی در این مطالعه به آنتی‌بیوتیک‌های کرباپنم حساس بودند، این آنتی‌بیوتیک‌ها همچنان داروهای موثری علیه عفونت‌های ناشی از کلبسیلا پنومونیه محسوب می‌شوند. نتایج مطالعه نشان‌دهنده دقت کم روش فنوتیپی برای شناسایی ایزوله‌های مولد آنزیم‌های کرباپنماز بود و بنابراین استفاده از روش‌های ژنوتیپی همراه روش فنوتیپی پیشنهاد می‌شود.

## سپاسگزاری

این نوشته بر گرفته از پایان‌نامه دانشجوی دکترای داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه می‌باشد و هزینه آن به وسیله دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه فراهم شده است.

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-01-30 ]

## *References:*


1- Xia Y, Liang Z, Su X, Xiong Y. ***Characterization of carbapenemase genes in Enterobacteriaceae species exhibiting decreased susceptibility to carbapenems in a university hospital in Chongqing, China.*** Ann Lab Med. 2012; 32(4): 270-75.

2- Chang WN, Huang CR, Lu CH, Chien CC. ***Adult Klebsiella pneumoniae meningitis in Taiwan: An Overview.*** Acta Neurol Taiwan 2012; 21(2): 87-96.

3- Aladag MO, Durak Y. ***Investigation of some antibiotic susceptibilities, plasmid pofiles and ESBL characteistic of Klebsiella pneumoniae isolated fom urinary system infections.*** World Appl Sci J 2009; 6(5): 630-36.

4- Peirano G, Seki LM, Val Passos VL, Pinto MC, Guerra LR, Asensi MD. ***Carbapenem-hydrolysing -β-lactamase KPC-2 in Klebsiella pneumoniae isolated in Rio de Janeiro, Brazil.*** J Antimicrob Chemother 2009; 63(2): 265-68.

5- Ro KH, Lee CK, Sohn JW, Song W, Yong D, Lee K. ***Isolation of a Klebsiella pneumoniae isolate of sequence type 258 producing KPC-2 carbapenemase in Korea.*** Korean J Lab Med 2011; 31(4): 298-301.

6- Hirsch EB, Tam VH. ***Detection and treatment options for Klebsiella pneumoniae carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection.*** J Antimicrob Chemother 2010; 10: 1119-25.

7- Queenan AM, Bush K. ***Carbapenemases: The versatile beta-lactamases.*** Clin Microbiol Rev 2007; 20(3): 440–58.

8- Nordmann P, Naas T, Poirel L. ***Global Spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae.*** Emerg Infect Dis 2011; 17(10): 1791-98.

9- Horton LB, Shanker S, Mikulski R, Brown NG, Phillips KJ, Lykissa E, et al. ***Mutagenesis of zinc ligand residue cys221 reveals plasticity in the IMP-1 metallo-β-Lactamase active site.*** Antimicrob Agents Chemother 2012; 56(11): 5667-77.

10- Carvalhaes CG, Picao RC, Nicoletti AG, Xavier DE, Gales AC. ***Cloverleaftest (modified Hodge test) for detecting carbapenemase production in Klebsiella pneumoniae: Be aware of false positive results.*** J Antimicrob Chemother 2010; 65(2): 249-51.

11- ***Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 21th informational supplement.*** CLSI document M100-S21. 2011; 31(1).

12- Amjad A, Mirza IA, Abbasi SA, Farwa U, Malik N, Zia F. ***Modified Hodge test: A simple and effective test for detection of carbapenemase production.*** Iran J Microbiol 2011; 3(4): 189-93.

13- Doyle D, Periano G, Lascols C, Lloyd T, Church DL, Pitout JD. ***Laboratory detection of Enterobacteriaceae that produce carbapenemases.*** J Clin Microbiol 2012; 50(12): 3877-80.

14- Peter H, Berggrav K, Thomas P, Pfeifer Y, Witte W, Templeton K, et al. ***Direct detection and genotyping of Klebsiella pneumoniae carbapenemases from urine by use of a new DNA microarray test.*** J Clin Microbiol. 2012; 50(12): 3990-98.


[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-01-30 ]

*15*- Cabral AB, Melo RDCDA, Maciel MAV, Lopes ACS. ***Multidrug resistance genes, including blaKPC and blaCTX-M-2, among Klebsiella pneumoniae isolated in Recife, Brazil.*** Rev Soc Bras Med Trop 2012; 45(5): 572-78.

*16*- Kim MN, Yong D, An D, Chung HS, Woo JH, Lee K, et al. ***Nosocomial clustering of NDM-1-producing Klebsiella pneumoniae sequence type 340 strains in four patients at a South Korean Tertiary care hospital.*** J Clin Microbiol 2012; 50: 1433-36.

*17*- Bora A, Ahmed G. ***Detection of NDM-1 in clinical isolates of Klebsiella Pneumoniae from Northeast India.*** J Clin Diagn Resea 2012; 6(5): 794-800.

*18*- Samuelsen Ø, Naseer U, Tofteland S, Skutlaberg DH, Onken A, Hjetland R, et al. ***Emergence of clonally related Klebsiella pneumoniae isolates of sequence type 258 producing plasmid-mediated KPC carbapenemase in Norway and Sweden.*** J Antimicrob Chemother 2009; 63(4): 654-58.

*19*- Pournaras S, Protonotariou E, Voulgari E, Kristo I, Dimitroulia E, Vitti D, et al. ***Clonal spread of KPC-2 carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae strains in Greece.*** J Antimicrob Chemother 2009; 64(2): 348-52.

*20*- Marsik FJ, Nambiar S. ***Review of carbapenemases and AmpC-beta lactamases.*** Pediatr Infect Dis J 2011; 30(12): 1094-95.

*21*- Shib A, Al-Agamy M, Memish Z, Senok A, Khader SA, Assiri A. ***The emergence of OXA-48- and NDM-1-positive Klebsiella pneumoniae in Riyadh, Saudi Arabia.*** Int J Infect Dis 2013; 17(12): 1130–33.

*22*- Zaman T, Aldrees M, Al johani SM, Alrodayyan M, Aldughashem FA, Balkhy HH. ***Multi-drug carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infection carrying the OXA-48 gene and showing variations in outer membrane protein 36 causing an outbreak in a tertiary care hospital in Riyadh, Saudi Arabia.*** Int J Infect Dis 2014; 28: 186–192.

*23*- Saito R, Takahashi R, Sawabe E, Koyano S, Takahashi Y, Shima M, et al. ***First report of KPC-2 carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae in Japan.*** Antimicrob Agents Chemother 2014; 58(5): 2961-63.

*24*- Teo J, Ngan G, Balm M, Jureen R, Krishnan P, Lin R. ***Molecular characterization of NDM-1 producing Enterobacteriaceae isolates in Singapore hospitals.*** Western Pac Surveill Res 2012; 3(1): 19-24.

*25*- Ikonomidis A, Tokatlidou D, Kristo I, Sofianou D, Tsakris A, Mantzana P, et al. ***Outbreaks in distinct regions due to a single Klebsiella pneumoniae clone carrying a blaVIM-1 metallo-β-Lactamase Gene.*** J Clin Microbiol 2005; 43(10): 5344-47.

*26*- Steinmann J, Kaase M, Gatermann S, Popp W, Steinmann E, Damman M, et al. ***Outbreak due to a Klebsiella pneumoniae strain harbouring KPC-2 and VIM-1 in a German university hospital, July 2010 to January 2011.*** E Euro Surveill 2011; 16: 1-6.

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-01-30 ]

*27*- Gootz TD, Lescoe MK, Dib-Hajj F, Dougherty BA, He W, Della-Latta P, et al. ***Genetic organization of transposase regions surrounding blaKPC carbapenemase genes on plasmids from Klebsiella strains isolated in a New York City Hospital.*** Antimicrob Agents Chemother 2009; 53(5): 1998-2004.

*28*- Correa L, Martino MDV, Siqueira I, Pasternak J, Gales AC, Silva CV, et al. ***A hospital-based matched case–control study to identify clinical outcome and risk factors associated with carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infection.*** BMC Infect Dis 2013; 13(1): 1-8.

*29*- Chiu SK, Wu TL, Chuang YC, Lin JC, Fung CP, Lu PL, et al. ***National surveillance study on carbapenem non- susceptible Klebsiella pneumoniae in Taiwan: The emergence and rapid dissemination of KPC-2 carbapenemase.*** PLOS ONE 2013; 8(1): 1-7.

*30*- Ramos PIP, Picão RC, de Almeida LGP, Lima NCB, Girardello R, Vivan ACP, et al. ***Comparative analysis of the complete genome of KPC-2-producing Klebsiella pneumoniae Kp13 reveals remarkable genome plasticity and a wide repertoire of virulence and resistance mechanisms.*** BMC Genomics 2014; 15(1): 1-16.

*31*- Rimrang B, Chanawong A, Lulitanond A, Wilailuckana C, Charoensri N, Sribenjalux P, et al. ***Emergence of NDM-1- and IMP-14a-producing Enterobacteriaceae in Thailand.*** J Antimicrob Chemother 2012; 67(11): 2626–30.

*32*- Nagaraj S, Chandran SP, Shamanna P, Macaden R. ***Carbapenem resistance among Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in a tertiary care hospital in south India.*** Indian J Med Micro 2012; 30(1): 93-95.

*33*- Robin F, Khinache NA, Delmas J, Naim M, Bonnet R. ***Novel VIM metallo-β-Lactamase variant from clinical isolates of Enterobacteriaceae from Algeria.*** Antimicrob Agents Chemother 2010; 54(1): 466–70.

*34*- Martinez JMR, Nordmann P, Fortineau N, Poirel L. ***VIM-19, a metallo-β-Lactamase with increased carbapenemase activity from Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae.*** Antimicrob Agents Chemother 2010; 54(1): 471–76.

*35*- Sánchez-Romero I, Asensio Á, Oteo J, Muñoz-Algarra M, Isidoro B, Vindel A, et al. ***Nosocomial outbreak of VIM-1-producing Klebsiella pneumoniae isolates of multilocus sequence type 15: Molecular basis, clinical risk factors, and outcome.*** Antimicrob Agents Chemother 2011; 59(11): 420–27.

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-01-30 ]

# *The Frequency of blaVIM, blaIMP, blaKPC and blaNDM Carbapenemase Genes in Clinical Isolates of Klebsiella Pneumoniae in Kermanshah Medical Centers*

***Zare A (PhD)[1], Akya A (PhD)[*2], Nejat P(MSc)[3]***

[1] *School of Pharmacy, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran*
[2] *Department of Medical Microbiology Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran*
[3] *Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran*

***Received:*** 2 May 2015 ***Accepted:*** 6 Aug 2015

## *Abstract*

***Background:*** Carbapenemase genes have been spread among strains of Klebsiella pneumoniae that make them resistant to carbapenems. Hence, the present study aimed to study the prevalence of carbapenmase genes within K. pneumoniae isolates in Kermanshah medical centers.

***Methods:*** Sixty isolates of K. pneumoniae were collected and identified using API kit. Then, antibiotic susceptibility of isolates was determined using a disk diffusion method. The carbapenems-resistant isolates were screened for carbapenemases production using the Modified Hodge Test (MHT). The carbapenemase genes of blaVIM, blaIMP, KPC and blaNDM were detected by PCR test .

***Results:*** Out of 60 isolates, 4 isolates were resistant to carbapenem antibiotics, but only one isolate was demonstrated to be positive for carbapenemases by MHT phenotypic testing. The gene of blaVIM was detected in three isolates by PCR, though other genes were not found in the isolates. Within the isolates, 6.67% and 100% were resistant to carbapenem and ampicillin, respectively.

***Conclusion:*** The study findings revealed that dissemination rate of carbapenemase genes was not reported to be high among isolates of K. pneumoniae in Kermanshah. Only blaVIM gene was probably more frequent than other tested genes. Since most isolates examined in this study were susceptible to carbapenem antibiotics, these antibiotics are still regarded as effective drugs against infections caused by K. pneumoniae.

***Keywords:*** Antibiotic resistance; Carbapenmase genes; Klebsiella pneumonia

***This paper should be cited as:***
Zare A, Akya A, Nejat P. ***The frequency of blavim, blaimp, blakpc and blandm carbapenemase genes in clinical isolates of klebsiella pneumoniae in kermanshah medical centers.*** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2015; 23(8): 760-69.

****Corresponding author: Tel: 034274618-20, Email: akya359@yahoo.com***

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-01-30 ]