

دارای رتبه علمی-پژوهشی  
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

شیوع عفونت کلبسیلابی در بیمارستان ۵ آذر گرگان (سال ۱۳۹۰)

چکیده

**زمینه و هدف:** کلبسیلا پنومونیه از عوامل عفونت بیمارستانی است. شیوع عفونت با این باکتری در این گزارش ارائه شده است.

**روش بررسی:** فراوانی کلبسیلاها در نمونه های کشت میکروبی بیمارستان ۵ آذر گرگان طی سال ۱۳۹۰-۸۹ مورد بررسی قرار گرفت. بعد از تعیین گونه با استفاده از روش های بیوشیمیایی و تعیین مقاومت آن به سفالوسپورین های نسل سوم، وجود ژن های مسئول این مقاومت با استفاده از پرایمرهای اختصاصی بررسی شد. محصول PCR ژن CTX-M برای شناسایی نوع، تعیین توالی شد.

**یافته ها:** در طی مدت مطالعه ۷۰ جدایه کلبسیلا جدا گردید که ۵۱ مورد آن (۷۲٫۸٪) مربوط به سه ماهه آبان، آذر و دی می باشد. به جز یک مورد در مهر ماه بقیه جدایه های ESBL متعلق به این سه ماه می باشد. بررسی ملکولی ژن های ESBL نشان داد که این جدایه ها حداقل به سه نوع تقسیم می شوند و در بخش های داخلی زنان و اورژانس از شیوع بالایی برخوردار بود.

**نتیجه گیری:** گزارش حاضر بیانگر شیوع ناگهانی عفونت کلبسیلا پنومونیه ای است که به علت پیگیری صحیح عفونت کلبسیلابی در بیمارستان شناسایی و کنترل گردید.

**واژه های کلیدی:** کلبسیلا پنومونیه، ESBL، CTX-M

حدیثه محمودجانلو

کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

کیومرث قاضی سعیدی

استاد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

فاطمه شاکری

کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه پیام نور گلستان، گرگان، ایران

عزت الله قائمی

استاد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

نویسنده مسئول: عزت الله قائمی

پست الکترونیک: eghaemi@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۱۳۷۱۱۷۷۰

آدرس: گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

دریافت: ۹۲/۲/۴

ویرایش پایانی: ۹۲/۳/۲۸

پذیرش: ۹۲/۳/۴

آدرس مقاله

محمودجانلو ح، قاضی سعیدی ک، شاکری ف، قائمی ع<sup>۱</sup> "شیوع عفونت کلبسیلابی در بیمارستان ۵ آذر گرگان (سال ۱۳۹۰)"

مجله علوم آزمایشگاهی، زمستان ۱۳۹۳، دوره هشتم (شماره ۵): ۴۳-۴۸

## مقدمه

بتالاکتاماز را دارند می تواند باعث مشکلات و معضلات فراوانی در درمان بیماران بستری شوند (۵،۶). کنترل و پیشگیری از عفونت های بیمارستانی در بخش های مختلف بدون شناسایی وضعیت فعلی این عفونت ها و عوامل زمینه ساز آن ها ممکن نخواهد بود و گزارش های متعدد و متفاوتی در نقاط مختلف دنیا و حتی در بیمارستان های یک کشور در خصوص وضعیت این عفونت ها وجود دارد (۷). در این مطالعه، یک مورد شیوع عفونت ناشی از کلبسیلا پنومونیه و مقاومت آنتی بیوتیکی آن در بیمارستان ۵ آذر گرگان معرفی می گردد.

## روش بررسی

در طی یک مطالعه مقطعی یکساله از مهر ۱۳۸۹ تا مهر ۱۳۹۰ به بررسی وجود عفونت کلبسیلائی در بیماران بستری در بخش های بیمارستان ۵ آذر گرگان پرداخته شد، که در طی آن در محدوده زمانی آبان تا دی ۱۳۸۹ با افزایش ناگهانی آمار ابتلا به کلبسیلا برخورد شد. شناسایی باکتری و مقاومت آنتی بیوتیکی آن مطابق روش های استاندارد انجام شد. به طور خلاصه از تست های بیوشیمیایی مختلف مثل تخمیر لاکتوز، اوره، IMViC، و نیز هیدرولیز آمینواسیدهای آرژنین، لیزین، اورنیتین و تست ژلاتین استفاده شد (۸). برای تعیین ESBL بودن از تست تایید فنوتیپی (Phenotypic Confirmatory Test) با استفاده از دیسک سفوتاکسیم ۳۰ µg، سفوتاکسیم کلاولانیک اسید ۱۰/۳۰ µg شرکت MAST DIAGNOSTICS استفاده گردید (۹). در مرحله بعد به منظور بررسی وجود ژن های *TEM, SHV, CTX-M* در جدایه های ESBL، واکنش زنجیره ای پلیمرز (Polymerase Chain Reaction - PCR) با پرایمرهای اختصاصی (اطلاعات منتشر نشده) بر روی DNA استخراج شده از کلنی خالص باکتری انجام شد. محصول PCR به منظور مشخص شدن نوع ملکولی *CTX-M* نمونه ها برای Sequencing به ژن فن آوران ارسال گردید و نتیجه آن در NCBI بلاست گردید.

## یافته ها

در مجموع ۷۰ کلبسیلا پنومونیه جدا گردید که ۷۲/۹ درصد آن در سه ماهه ی آبان تا دی جدا شد، ۸۸/۵ درصد

عفونت های بیمارستانی به علت افزایش طول مدت بستری و هزینه های درمان، از معضلات عمده بیماران بستری در بیمارستان ها می باشد. این عفونت ها با افزایش میزان عوارض و مرگ و میر، از عوامل مشکل ساز در درمان بیماران در بخش های بستری است (۱) گونه های کلبسیلا، به خصوص کلبسیلا پنومونیه (*Klebsiella pneumoniae*) از اعضای مهم خانواده انتروباکتریاسه بوده و عامل بیماری زای فرصت طلب مرتبط با عفونت های اکتسابی بیمارستانی مانند سپتی سمی، پنومونی و عفونت دستگاه ادراری هستند (۲) شیوع عفونت های مخاطره آمیز ناشی از این باکتری، در اکثر نقاط جهان در حال پیشرفت می باشد (۳،۴). به نظر می رسد بستری بودن طولانی مدت بیماران و مواجه بودن آن ها با گروه های مختلف آنتی بیوتیکی به ویژه سفالوسپورین های وسیع الطیف، هم چنین انجام فرآیندهای تهاجمی برای بیماران مانند استفاده از کاترها، خطر عوامل اصلی و مهم در ایجاد عفونت های ناشی از این باکتری ها باشند. مطالعات انجام شده، نشان دهنده روند افزایش مقاومت انتروباکتریاسه ها به خانواده بتالاکتام می باشد. پس از دهه ۸۰ میلادی و با ظهور سفالوسپورین های نسل سوم، مقاومت در برابر این آنتی بیوتیک ها نیز ظاهر گردید. مکانیسم عمومی مقاومت باکتری ها به این آنتی بیوتیک ها، تولید آنزیم های بتالاکتامازی است که می تواند سفالوسپورین های نسل سوم (سفالوسپورین های وسیع الطیف) را نیز تجزیه کرده و غیرفعال نماید. از جمله این آنزیم ها ESBL (Extended Spectrum Beta-Lactamase) ها هستند. ژن مسئول مقاومت به سفالوسپورین های وسیع الطیف اغلب در پلاسمید قرار دارند و به همین دلیل با سرعت بیشتری قابلیت انتشار در بین باکتری ها را دارند، از طرفی ممکن است در این پلاسمیدها ژن مقاومت به سایر آنتی بیوتیک ها بطور همزمان قرار گرفته و مقاومت همزمان باکتری به آنتی بیوتیک های مختلف را ایجاد نماید که در این صورت یافتن داروی مناسب برای درمان این باکتری ها بسیار دشوار و محدود خواهد بود و این از دلایل مهم نگرانی گسترش سویه های ESBL می باشد. از این رو عفونت های بیمارستانی ناشی از این گونه های باکتریال که توانایی تولید آنزیم های

ESBL بودند. به عبارت دیگر ۹۶ درصد از جدایه های ESBL مربوط به این دوره بودند. ۴۸ نفر از بیماران زن و ۴۱ نفر از بیماران سرپایی جدا شد. (جدول ۱)

نمونه ها از ادرار و بقیه از سایر نمونه های بالینی (E.T.T: ۵/۷٪، خون: ۲/۸٪، آبسه: ۱/۴٪ و زخم: ۱/۴٪) جدا شدند. از ۵۱ کلبسیلا پنومونیه ی جدا شده در این دوره ۲۴ مورد (۴۷.۱٪)

جدول ۱- توزیع پراکندگی کلبسیلا پنومونیه در بیمارستان ۵ آذر در طول دوره یکساله ۸۹-۹۰

	مهر	آبان	آذر	دی	بهمن	اسفند	فروردین	اردیبهشت	خرداد	تیر	مرداد	شهریور	Total
	۸۹	۸۹	۸۹	۸۹	۸۹	۸۹	۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	
تعداد	۵	۲۱	۱۶	۱۴	۵	۴	۲	۲	۰	۱	۰	۰	۷۰
مقاومت ESBL	۱	۱۱	۸	۵	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲۵
Non-ESBL	۴	۱۰	۸	۹	۵	۴	۲	۲	۰	۱	۰	۰	۴۵
جنسیت زن	۴	۱۳	۱۲	۱۱	۳	۰	۲	۲	۰	۱	۰	۰	۴۸
مرد	۱	۸	۴	۳	۲	۴	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲۲
وضعیت بستری	۲	۱۰	۱۰	۱	۳	۳	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲۹
بیمار سرپایی	۳	۱۱	۶	۱۳	۲	۱	۲	۲	۰	۱	۰	۰	۴۱

جدول ۲- شناسایی ویژگی های جدایه های شایع شده در ماه های شیوع ناگهانی

	کلبسیلا پنومونیه های جدا شده طی ماه های شیوع	کلبسیلا پنومونیه های جدا شده در سایر ماه ها	مجموع
تعداد	۵۱ (۷۲/۸)	۱۹ (۲۷/۲)	۷۰
میزان ESBL	۲۴ (۴۷/۱)	۱ (۵/۲)	۲۵
میزان CTX-M15	۱۴ (۵۸/۳)	۱ (۱۰۰)	۱۵

جدول ۳- بررسی ژنوتیپی کلبسیلا پنومونیه های ESBL جدا شده در ماه های آبان، آذر و دی ۱۳۸۹ در بیمارستان ۵ آذر گرگان

مهر	آبان	آذر	دی	هر سه ژن مثبت	(CTX-M,SHV)+	سایر الگوهای ژنتیکی
۱	۴	۶	۱	۱۲	۰	۰
۰	۰	۰	۰	۰	۲	۵
۰	۰	۰	۰	۰	۲	۰
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰

دو بخش داخلی زنان و مردان و اورژانس بیمارستان و نوع دوم که دارای دو ژن CTX-M و SHV بودند از بخش داخلی زنان جدا شدند.

### بحث

در طی این مطالعه یک ساله مشخص شد که میزان جداسازی کلبسیلا پنومونیه در بیمارستان ۵ آذر گرگان به عنوان بیمارستان مرجع استان گلستان به طور ناگهانی طی ماه های آبان تا دی ۱۳۸۹ افزایش یافته است. از آنجایی که شیوع عفونت کلبسیلائی وابسته به فصل نبوده و نوع عفونتی که میکرووب طی این دوره از آن جدا شده است، متفاوت است (خون، ادرار، آبسه، زخم، E.T.T) بنابراین باید مخزنی در بیمارستان عامل این شیوع باشد که در این مطالعه امکان شناسایی وجود نداشت. اما این مطالعه نشان داد که تمامی

در بررسی وجود ژن CTX-M مشخص گردید که ۵۸/۳ درصد از جدایه های ESBL دارای این ژن بودند که همگی CTX-M15 بودند. از جدایه هایی که در ماه های دیگر جدا شدند فقط یک مورد ESBL بوده که آن هم دارای ژن CTX-M15 بود. (جدول ۳) یکی از ضروریات شناسایی موارد همه گیری یک باکتری در بیمارستان، تشابه ویژگی های ژنتیکی و فنوتیپی این باکتری می باشد. بررسی وجود ژن های مقاومت TEM, SHV, CTX-M نشان داد که جدایه ها از نظر خصوصیات ژنتیکی آن هم یکسان نیستند و می توان آنها را در چند گروه دسته بندی کرد. بر این اساس نوع ژنتیکی جدایه ی جدا شده در مهر، آبان و آذر افزایش پیدا کرده است، هم زمان دو نوع دیگر ESBL در این بیمارستان شناسایی شد. گروه اول که حاوی هر سه ژن بودند، عمدتاً از

جدایه ها گونه ی یکسانی دارند. همگی کلبسیلا پنومونیه بوده و همه جدایه های مقاوم به سفالوسپورین های نسل سوم (ESBL) بودند. در حالیکه تنها ۲۰ درصد جدایه های جدا شده در ماه مهر ESBL بودند فراوانی آن در ماه آبان به ۱۱ مورد (۵۲/۴٪) رسید، در ماه آذر و دی به ترتیب به ۵۰ و ۳۵/۷ درصد کاهش یافت و در ماه های بعد جدایه ی کلبسیلا ESBL جدا نشد. این مسئله نشان می دهد که احتمالاً آراگانسیم ESBL جدا شده در ماه مهر به سرعت در بیمارستان گسترش پیدا کرده و تا ماه های آذر و دی عفونت آن ادامه پیدا کرد که این می تواند نشانگر وجود یک کانون عفونت و بروز شیوع ناگهانی بیمارستانی باشد. استفاده از روش های ملکولی برای ردیابی این جدایه ها در مرحله بعد مورد توجه قرار گرفت. برای این منظور بررسی ژن های کد کننده مقاومت بتالاکتامازی وسیع الطیف ESBL هدف قرار گرفت ولی بعد از آنالیز این ژن ها مشخص گردید که تمامی جدایه ها دارای نوع یکسان نیستند و حداقل دو نوع شایع در این دوره شناسایی شد. یکی نوعی که حاوی هر سه ژن کد کننده ESBL می باشد و دیگری نوعی که حداقل دارای دو ژن *CTX-M15* , *SHV* می باشد. این دو نوع در دو بخش زنان و نیز اورژانس بیمارستان از شیوع بالاتری برخوردار بودند. از طرفی تعیین توالی ژن *CTX-M* نشان داد که تمامی جدایه های دارای این ژن از نوع *CTX-M15* بوده که این نوع شایع ترین نوع در منطقه خاور میانه می باشد (۱۰). بر اساس یافته های این تحقیق مشخص می شود که حداقل دو کانون عفونت کلبسیلابی در ماه های آبان تا دی فعال بوده که سبب افزایش عفونت

کلبسیلابی در بیماران این بیمارستان شده است. بیمارستان ها و کارکنان همواره باید توجه داشته باشند که ممکن است یک باکتری به طور ناگهانی در یک بخش یا محیط بیمارستانی پخش شود و سبب افزایش شیوع عفونت در افراد بستری و ایجاد مشکلات درمانی به ویژه در افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف تر و بخش های مراقبت ویژه شود (۱۱ و ۱۲). بنابراین تاکید می شود که کارکنان در حین کار در این بخش ها دقت بیشتری بر رعایت بهداشت فردی و از همه مهم تر شستشوی مرتب دست ها و استفاده از دستکش استریل و همچنین رعایت تمام شرایط استریل به هنگام نصب کاتتر درون بدن بیمار داشته باشند (۱۳ و ۱۴ و ۱۵ و ۱۶).

### نتیجه گیری

یافته های این تحقیق اهمیت توجه مضاعف در کنترل و پیشگیری از عفونت های بیمارستانی را یادآوری می نماید. برای ما مشخص نشده است که چه مداخله ای منجر به توقف شیوع ناگهانی عفونت در بیمارستان شده است. پیشنهاد می گردد در برنامه بخش کنترل عفونت های بیمارستانی، بررسی جامعی در زمینه شیوع های ناگهانی و عوامل زمینه ساز آن در الویت قرار گیرد و به همراه آن راهکارهایی که منجر به حذف این همه گیری می شود جهت انتقال اطلاعات علمی به دیگران ثبت و منتشر گردد.

### تشکر و قدردانی

از مرکز تحقیقات عفونی و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گلستان بابت حمایت مالی بسیار سپاسگزاریم.

### References

1. Digiovine B, Chenoweth C, Watts C, Higgins M. *The attributable mortality and costs of primary nosocomial bloodstream infections in the intensive care unit.* Am J Respir Crit Care Med. 1999; 160(3): 976-81
2. Babic M, Hujer MA, Bonomo AR. *What's new in antibiotic resistance? Focus on beta-Lactamases.* Drug Resistance Updates. 2006; 9(3): 142-56.
3. Khalaf NG, Eletreby MM, Hanson ND. *Characterization of CTX-M ESBLs in Enterobacter cloacae, Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae clinical isolates from Cairo, Egypt.* BMC Infect. 2009; 9: 84.
4. Hoffmann H, Stürenburg E, Heesemann J, Roggenkamp A. *Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases in isolates of the Enterobacter cloacae complex from German hospitals.* Clin Microbiol Infect. 2006; 12(4): 322-30.

5. Mahmoudjanlou HK, Moradi A, Shakeri F, Babaii Koochaksarii M, Mansoor Samae N. *Minimum Inhibitory Concentration of Cefotaxime by E-test Method on Klebsiella in Gorgan.* mljgoums. 2012; 6(2): 16-20.[Persian]
6. Fraser LS, Cunha BA. *Enterobacter Infections.* Medscape. 2010. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/216845-overview>.
7. Nagata E, Brito AS, Matsuo T. *Nosocomial infections in a neonatal intensive care unit: incidence and risk factors.* Am J Infect Control. 2002; 30(1): 26-31.
8. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. *Baily & Scotts Diagnostic Microbiology.* Mosby Elsevier . 12<sup>th</sup> ed. 2007; 323- 332.

9. Wikler MA, Cockerill FR, Craig WA, Dudley MN, Eliopoulos GM, Hecht DW. et al. Performance standards for Antimicrobial susceptibility Testing .Clinical & Laboratory standards Institute. 2006; 26(3):124-127
10. Noha G Khalaf\*1, Mona M Eletreby2 and Nancy D Hanson3. Characterization of CTX-M ESBLs in *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates from Cairo, Egypt. BMC Infectious Diseases. 2009; 9(84): 1-5
11. Ylipalosaari P, Ala-Kokko T, Laurila J, Ohtonen P, Syrjala H. Intensive care acquired infection is an independent risk factor for hospital mortality: a prospective cohort study. *Critical Care*. 2006; 10(2): 42-48.
12. Lahsaeizadeh S, Jafari H, Askarian M. Healthcare-associated infection in shiraz, Iran 2004-2005. *J Hosp Infect*. 2008; 69: 283-287.
13. Scott LA, Carson DS, Greenwell IB. Disaster 101: a novel approach to disaster medicine training for health professionals. *The Journal of emergency medicine*. 2010; 39(2): 220-6
14. Lovedaya H.P , Wilsona J.A, Pratta R.J, Golsorkhia M, Tinglea A, Baka A, et al. National Evidence-Based Guidelines for Preventing Healthcare-Associated Infections in NHS Hospitals in England. *Journal of Hospital Infection*. 2014; 86: 1-70.
15. Mehdipour Rabori M, Khalooei A, Nakhaei Amroudi N, Nourmoradi H. Compliance with Environmental Health Standards in Educational Hospitals of Kerman University of Medical Sciences in 2009. *Journal of Health* .2014; 2(5): 159-169
16. Raad I, Hanna HA, Awad A, Alrahwan A, Bivins C, Khan A. Optimal frequency of changing intravenous administration sets: is it safe to prolong use beyond 72 hours? *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2001; 22: 136-9.

## Prevalence of *Klebsiella Pneumoniae* in Panje Azar Hospital of Gorgan, Iran, 2011

**Mahmoudjanlou, H. (MSc)**  
MSc of Microbiology, Golestan  
University of Medical Science,  
Gorgan, Iran

**Ghazisaeedi, K. (PhD)**  
Professor of Microbiology,  
Department of Microbiology,  
Golestan University of Medical  
Science, Gorgan, Iran

**Shakeri, F. (MSc)**  
MSc of Microbiology, Payame  
Noor University, Gorgan, Iran

**Ghaemi, EA. (PhD)**  
Professor of Microbiology,  
Department of Microbiology,  
Golestan University of Medical  
Science, Gorgan, Iran

**Corresponding Author:** Ghaemi, EA.

**Email:** eghaemi@yahoo.com

**Received:** 24 Apr 2013

**Revised:** 18 Jun 2013

**Accepted:** 25 May 2013

### Abstract

**Background and Objective:** *Klebsiella pneumoniae* is one of the agents causing nosocomial infection; therefore, we decided to report the prevalence of *Klebsiella pneumoniae* caused infection.

**Material and methods:** The frequency of *Klebsiella* in culture media samples of Panje Azar hospital was studied in 2011-2012. After determination of the species with biochemical methods and determination of resistance to third generation cephalosporins, the existence of responsible genes for this resistance was investigated using specific primers. The PCR product for *CTX-M* gene was sequenced.

**Results:** During the study, 70 isolates of *Klebsiella* were isolated in that 51 (72.8%) related to three months of November, December and January. Except for the one related to November, other ESBL cases belonged to these three months. Based on molecular investigation of ESBL genes, these isolates at least were in 3 types and had a high frequency in Internal, female and Emergency wards.

**Conclusion:** The present report implied a sudden prevalence of *Klebsiella pneumoniae* that detected and controlled by a correct monitoring.

**Keyword:** *Klebsiella Pneumoniae*, ESBL, CTX-M