گسترش ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در ایزوله‌های بالینی کلبسیلا پنومونیه از مراکز پزشکی کرمانشاه

علی‌شا اکیا[۱]، رویا چگنه لرستانی[۲]، اعظم الهی[۲*]

۱. مرکز تحقیقات عفونت‌های بیمارستانی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۲. گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

* **عهده دار مکاتبات:** ایران، کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، دانشکده پزشکی، گروه میکروب‌شناسی

Email: azamelahi202@Yahoo.com

چکیده

زمینه: مقاومت کلبسیلا پنومونیه به آمینوگلیکوزیدها یک مشکل جدی درمانی بخصوص در مراکز بیمارستانی است. هدف این تحقیق تعیین مقاومت به آمینوگلیکوزیدها و فراوانی ژن‌های aac (3)-IIa، aac (6')-Ib، aac (3)-IV، aph (3')-Ia و ant (2")-Ia در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه از مراکز پزشکی کرمانشاه بود.

روش‌ها: کلاً تعداد ۱۶۵ نمونه مختلف بالینی بررسی شد و از میان آن‌ها ۱۰۰ ایزوله کلبسیلا پنومونیه توسط کیت API-20E تایید شد. آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی به آمینوگلیکوزیدها با روش انتشار دیسک انجام شد. پس از استخراج ژنوم باکتری‌ها، ژن‌های aac (3)- Ia ، aac (3)-IV، aph (3')- Ia، aac (6')-Ib و ant (2")-Ia با روش PCR مورد آزمایش قرار گرفتند. داده‌ها با روش آماری آنالیز شد.

یافته‌ها: از ۱۰۰ ایزوله، ۴۹ ایزوله (۴۹٪) به توبراماسین و یا جنتاماسین مقاوم بودند. فراوانی ژن‌های aac (6')-Ib، aph (3')-Ia و ant (2")-Ia در میان ایزوله‌ها به‌ترتیب۸۷/۷٪، ۴۲/۸٪ و ۲۴/۴٪ بود. اما ژن‌های aac (3)-IV و aac (3)- IIa در هیچ‌یک از ایزوله‌ها یافت نشد.

نتیجه‌گیری: ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه از نظر فنوتیپی در مقایسه با اکثر مطالعات پیشین مقاومت پایین‌تری به آمینوگلیکوزیدهای مورد آزمایش نشان دادند. با این وجود ژن‌های مقاومت aac (6')-Ib، aph (3')-Ia و ant (2")-Ia شیوع بالایی داشتند. این شیوع بالای ژن‌های مقاومت در کرمانشاه می‌تواند در نتیجه تجویز گسترده و غیر منطقی آمینوگلیکوزیدها و عدم بهره‌گیری از اقدامات مناسب کنترل عفونت در بیمارستان‌ها باشد.

کلید واژه: کلبسیلا پنومونیه، ژن‌های آمینوگلیکوزیدی، مقاومت

مقدمه:

کلبسیلا پنومونیه یکی از مهم‌ترین باکتری‌های بیماریزای فرصت طلب در ایجاد عفونت‌های خارج بیمارستانی و بیمارستانی از جمله پنومونی، سپسیس، عفونت‌های دستگاه ادراری و عفونت های داخل شکمی در بیماران بستری است[۱-۲]. میزان کلونیزه شدن این باکتری در بیماران بستری شده در بیمارستان بیش‌تر از بیماران سرپایی می‌باشد[۳]. به‌طوری‌که گونه-های کلبسیلا ۵٪ تا ۷٪ از کل عفونت‌های بیمارستانی را سبب می‌شوند[۴]. پیدایش سویه‌های کلبسیلا پنومونیه مقاوم به عوامل ضد میکروبی در جهان یک مشکل مهم پزشکی است[۲].

از طرفی افزایش مصرف آمینوگلیکوزیدها به‌خصوص در درمان عفونت‌های شدید منجر به افزایش شیوع مقاومت و کاهش اثر درمانی این گروه دارویی شده است[۲]. سه مکانیسم مقاومت به آمینوگلیکوزیدها شامل تغییر در جایگاه ریبوزومی اتصال دارو، کاهش در نفوذپذیری داروها و یا غیرفعال سازی آنزیمی داروها هستند. تغییر و غیرفعال‌سازی آنزیمی دارو شایع‌ترین نوع مکانیسم مقاومت به آمینوگلیکوزیدها است. سویه‌های مقاوم توانایی تغییر در ساختار بیوشیمیایی آمینوگلیکوزیدها توسط آنزیم‌های تغییردهنده را دارا هستند و این تغییر منجر به سطح بالایی از مقاومت می‌شود[۵، ۶]. ژن‌های کدکننده این آنزیم‌های

تغییر دهنده، عمدتاً روی پلاسمید و یا ترانسپوزون قرار دارند[۶]. این آنزیم‌ها بر اساس فعالیت به سه رده مختلف طبقه بندی می‌شوند که شامل آمینوگلیکوزید استیل ترانسفرازها (Aminoglycoside acetyltransferases) AACs، آمینوگلیکوزید فسفریل ترانسفرازها (Aminoglycoside phosphotransferases) APHs و آمینوگلیکوزید نوکلئوتیدیل ترانسفرازها (Aminoglycoside nucleotidyltransferases) ANTs هستند[۷].

آنزیم AAC در گروه‌های آمینی و آنزیم‌های ANT یا APHدر گروه‌های هیدروکسیل آنتی‌بیوتیک‌ها تغییر ایجاد می‌کنند[۸]. ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها که روی پلاسمید حمل می‌شوند باعث گسترش مقاومت در میان گونه‌های مختلف باکتری‌ها از جمله کلبسیلا پنومونیه می‌گردد[۹-۱۰]. پایش منطقه‌ای گسترش ژن‌های مقاومت به‌خصوص در گونه‌های انتروباکتریاسه به شناخت بهتر الگوی مقاومت‌ها و به‌کار گیری تدابیر مناسب به‌خصوص در کنترل عفونت‌های بیمارستانی کمک می‌کند. هدف از این تحقیق شناسایی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در کلبسیلا پنومونیه‌های جدا شده از مراکز درمانی کرمانشاه بود.

مواد و روش‌ها:

در این مطالعه ۱۶۵ ایزوله غیر تکراری مشکوک به کلبسیلا پنومونیه از نمونه‌های مختلف بالینی در ۳ بیمارستان و یک آزمایشگاه تشخیص طبی شهر کرمانشاه در سال۹۳-۱۳۹۲ جمع آوری شد. با استفاده از روش‌های باکتری شناسی، تست‌های افتراقی و در نهایت کیت API-E20 (بیونومریکس، فرانسه) تعداد ۱۰۰ ایزوله به عنوان کلبسیلا پنومونیه تایید شد. از باکتری *E. coli* ATCC 25922 به منظور کنترل کیفی استفاده شد. سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی به دیسک‌های جنتامایسین ۱۰ میکروگرم و توبرامایسین۱۰ میکروگرم (شرکت مست، انگلستان) به منظور شناسایی ایزوله‌های مقاوم به آمینوگلیکوزیدها با استفاده از روش انتشار دیسک و بر اساس جداول Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) تعیین گردید[۱۱].

DNA الگو برای انجام PCR با روش جوشانیدن (boiling)استخراج و تهیه شد. به این منظور نمونه‌ها را از فریزر ۷۰- درجه سانتیگراد خارج شد و در پلیت‌های نوترینت آگار کشت و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. در مورد هر جدایه تعدادی از کلنی‌های رشد یافته در شرایط کاملاً استریل به لوله اپندرف ۱/۵ میلی‌لیتر استریل حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل انتقال داده شد، سوسپانسیون حاصل به خوبی ورتکس شد و سپس این سوسپانسیون میکروبی به مدت ۵ دقیقه در بن ماری در حال جوش قرار داده شد. بعد از گذشت این زمان به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردید. فاز رویی که حاوی DNA بود به لوله اپندرف ۱/۵ میلی‌لیتر دیگری انتقال و مورد استفاده قرار گرفت. PCR با پرایمرهای اختصاصی[۱۲] برای ژن‌های مورد بررسی انجام شد (شرکت سیناکلون، تهران) (جدول ۱). واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل: محلول Master Mix (شرکت سیناکلون، تهران) با غلظت X ۲ به مقدار ۱۲/۵ میکرولیتر (حاوی HotStar Taq DNA Polymerase، بافر PCR، مخلوط ۱/۵میلی مولار $MgCl_2$ و dNTPs)، آب مقطر دو بار تقطیر ۷/۵ میکرولیتر، پرایمر رفت و برگشت هرکدام ۱ میکرولیتر و DNA به مقدار ۳ میکرولیتر انجام گرفت. از ایزوله‌های حاوی ژن‌های فوق که قبلاً توسط سکونسینگ مورد تایید قرار گرفته بودند، به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

داده‌های حاصل از نتایج آزمایش‌های مختلف و به همراه مشخصات نمونه‌های مورد بررسی در یک فایل اکسل(Excel) وارد گردید و سپس با استفاده از نرم افزارSPSS نسخه ۲۰ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و با استفاده از آزمون مجذور کای (chi-square) تجزیه و تحلیل شدند و مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج:

از مجموع صد نمونه کلبسیلا پنومونیه، (٪)۷۰ ایزوله از ۳ بیمارستان (نمونه های بیماران بستری) و (٪)۳۰ ایزوله از نمونه-

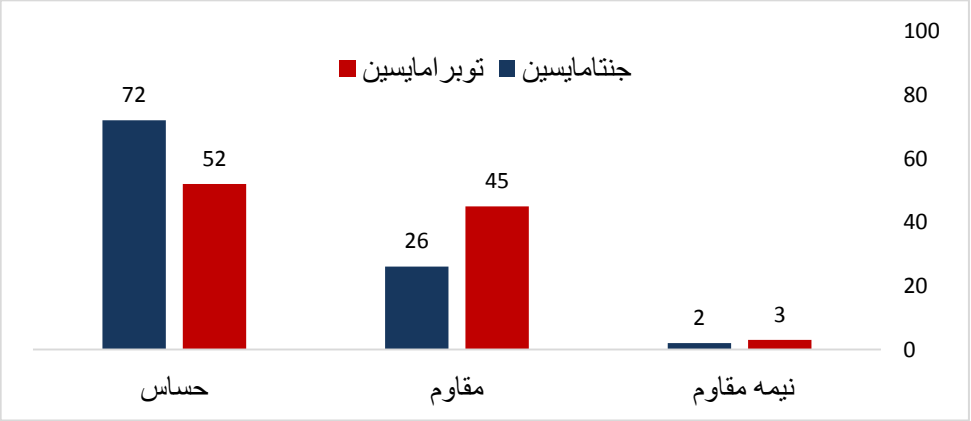
های آزمایشگاه (بیماران سرپایی) جداسازی شدند. ایزوله‌ها از نمونه‌های ادرار (۵۸ نمونه)، سوختگی (۱۶ نمونه)، تراشه (۱۴ نمونه)، خون (۵ نمونه)، زخم (۲ نمونه)، مایع آسیت (۳ نمونه)، تخت پانسمان سوختگی (۱ نمونه) و تخت برانکارد (۱ نمونه) بدست آمد. هم‌چنین از مجموع بیماران ۵۹ نفر زن، ۳۹ نفر مرد و ۲ نمونه مربوط به تخت بیماران یکی از بیمارستان‌ها بود. میانگین سنی بیماران۲۶/۲± ۳۹/۵سال، حداکثر سن ۸۵ سال و حداقل سن یک ماه بود. چهل و نه ایزوله (۴۹٪) به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و یا توبرامایسین مقاومت نشان دادند (نمودار۱). نتایج PCR برای ژن‌های آمینوگلیکوزیدی در جدول ۲ آمده است. بیش‌ترین شیوع ژن aac(6')-Ib و aph(3')-Ia در بخش مراقبت ویژه (ICU) و سوختگی بود. هم‌چنین بیش‌ترین شیوع ژن ant(2")-Ia بطور مساوی در بخش سوختگی و بیماران سرپایی مراجعه کننده به آزمایشگاه مشاهده شد (جدول ۳).

هیچ ارتباط معناداری میان ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزید و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و توبرامایسین و نیز میان ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزید و بخش‌های بیمارستان وجود نداشت (p>۰/۰۵). هم چنین رابطه معناداری بین بخش‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین (p=۰/۸۸۹) و توبرامایسین(p=۰/۶۸) یافت نشد.

جدول ۱: توالی پرایمر های بکار رفته و اندازه محصولات آن

پرایمر	توالی پرایمر (3'←5')	اندازه محصول (bp)
Ant (2´´)-Ia	F: TCCAGAACCTTGACCGAAC R:GCAAGACCTCAACCTTTTCC	۷۰۰
Aac (3)-IIa	F: CGGAAGGCAATAACGGAG R: TCGAACAGGTAGCACTGAG	۷۴۰
Aph (3´)-Ia	F: ATGGGCTCGCGATAATGTC R: CTCACCGAGGCAGTTCCAT	۶۰۰
Aac (3)-IV	F: GTGTGCTGCTGGTCCACAGC R: AGTTGACCCAGGGCTGTCGC	۶۲۷
Aac (6´)-Ib	F: TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA R: CTCGAATGCCTGGCGTGTTT	۴۸۲

نمودار ۱. درصد مقاومت به آنتی بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه



جدول۲. فراوانی(٪) مقاومت به ژن‌های آمینوگلیکوزیدها در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه

ژن‌های آمینوگلیکوزیدی	تعداد ایزوله‌ها	فراوانی(٪)
aac(6')-Ib	۴۳	۸۷/۸
aph(3')-Ia	۲۱	۴۲/۸
ant(2")-Ia	۱۲	۲۴/۴
aac(3)-IIa	۰	۰
aac(3)-IV	۰	۰
aac(6')-Ib+aph(3')-Ia	۲۰	۴۰/۸
aac(6')-Ib+ant(2")-Ia	۱۰	۲۰/۴
aph(3')-Ia+ant(2")-Ia	۵	۱۰/۲
aac(6')-Ib+aph(3')-Ia+ant(2")-Ia	۳	۶/۱

جدول۳. فراوانی ژن‌های آمینوگلیکوزیدی در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه به تفکیک بخش‌های بیمارستانی

بخش بستری	ژن‌های آمینوگلیکوزیدی		
	aac(6')-Ib	aph(3')-Ia	ant(2")-Ia
ICU	۱۴	۹	۱
سوختگی	۱۲	۹	۴
سرپایی	۸	۲	۴
سایر(جراحی، عفونی، داخلی و ...)	۹	۱	۳
جمع	۴۳	۲۱	۱۲

بحث:

آمینوگلیکوزیدها با وجود داشتن عوارض جانبی هم‌چنان در درمان عفونت‌های شدید باکتریایی باارزش هستند. دلیل این امر اثر سینرژیستیک خوب آن‌ها با آنتی‌بیوتیک‌های گروه بتالاکتام در برابر پاتوژن‌های مهم گروه انتروباکتریاسه از جمله کلبسیلا پنومونیه است[۱۳]. متاسفانه با تداوم استفاده گسترده از آنتی-بیوتیک‌ها، میزان مقاومت کلبسیلا پنومونیه به آمینوگلیکوزیدها رو به فزونی گذاشته است. نتایج ما نشان داد که میزان مقاومت به توبرامایسین و جنتامایسین در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه با نتایج مطالعه Peerayeh و همکاران قابل مقایسه است. در مطالعه آن‌ها ۳۶٪ ایزوله ها به جنتامایسین و ۳۲٪ ایزوله‌ها به توبرامایسین مقاوم بودند، هرچند مقاومت به جنتامایسین اندکی بالاتر و به توبرامایسین اندکی پایین‌تر از نتایج ما می‌باشد[۱۴]. میزان مقاومت در مطالعه ما کمتر از نتایج مطالعاتی بود که در سال‌های ۱۹۹۸-۲۰۱۵ در کشورهای هند، ترکیه، پاکستان و چین انجام شد[۲،۱۵-۱۷]. یکی از دلایل این امر را احتمالاً می توان تفاوت در گسترش ژن‌های مقاومت در نقاط مختلف دنیا و میزان استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در این مناطق ذکرکرد. نتایج ما نشان داد aac (6')-Ib ژن غالب در میان ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه مقاوم به آمینوگلیکوزیدها در کرمانشاه است. در مطالعاتی که طی سال‌های ۱۹۹۵ تا ۲۰۱۴ در نقاط مختلف جهان از جمله کانادا، دانمارک، ترکیه، نروژ، اسپانیا، مصر، ایران و

آمریکا انجام شد، فراوانی ژن aac (6')-Ib در ایزوله‌های کلبسیلای مقاوم به آمینوگلیکوزیدها از صفر تا ۹۸٪ (بطور میانگین ۳۶/۷٪) گزارش شده است[۱۴،۱۷-۲۴]. در تایید نتایج ما در دو مطالعه در ایران و آمریکا در سال ۲۰۱۴، aac (6')-Ib به عنوان ژن غالب گزارش شده است[۱۴،۲۴]. لازم به ذکر است که ژن aac (6')-Ib شایع‌ترین زیر تایپ aac (6')-I می‌باشد و در ۷۰/۶٪ ایزوله‌هایی که مقاوم به آمینوگلیکوزید هستند بیان می‌شود[۲۵]. این ژن مقاومت به توبرامایسین، آمیکاسین و نتیل مایسین را کد می‌کند[۲۵]. فراوانی ژن aph(3')-Ia در تعدادکمی از مطالعات مورد بررسی قرار گرفته است، اما بطور کلی ژن aph(3')-I روی ترانسپوزون Tn9O3 حمل می‌شود و در ۴۶٪ باکتری‌های گرم منفی گزارش شده که با یافته‌های ما هم‌خوانی دارد[۲۵]. هم‌چنین در مطالعه‌ای که در آمریکا در سال ۲۰۱۴ انجام گرفت ۵۶٪ ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه مقاوم به آمینوگلیکوزیدها دارای ژن aph (3')-Ia بودند[۲۴] که این یافته به نتایج مطالعه ما نزدیک می‌باشد.

ژن ant (2")-Ia در مطالعه ما شیوع کمتری (۲۴/۴٪) را در میان ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه داشت. بر اساس مطالعه‌ای که در سال‌های ۱۹۹۵ تا ۲۰۱۴ بر روی ایزوله‌های کلبسیلای مقاوم به آمینوگلیکوزید در کانادا، دانمارک، ترکیه، نروژ و آمریکا انجام شد، فراوانی این ژن بین صفر تا ۹٪ گزارش شد[۲۴،-۱۷-۱۹،۲۱]. تنها در یک مطالعه در مصر در سال ۲۰۱۳ شیوع بالایی (۷۰٪) داشت[۲۳]. ژن ant(2")-Ia رایج‌ترین زیرتایپ ژن ant (2")-I است که مقاومت به جنتامایسین، توبرامایسین و کانامایسین را درمیان آنتی‌بیوتیک‌های رایج کد می‌کند[۲۵].

در نتایج ما ژن‌های aac (3)-IIa و aac (3)-IV در هیچ‌یک از ایزوله‌ها یافت نشد. این دو ژن مقاومت به جنتامایسین و توبرامایسین را درمیان آنتی‌بیوتیک‌های رایج کد می‌کند[۲۵]. فراوانی ژن aac (3)-IIa در مطالعاتی که در ترکیه و نروژ در سال‌های ۲۰۰۱ و ۲۰۱۳ بر روی ایزوله‌های کلبسیلای مقاوم به آمینوگلیکوزیدها صورت گرفت از ۱/۷٪ تا ۴٪ گزارش شده است که با مطالعه ما هم‌خوانی دارد[۱۷،۲۱]. اما در سایر مطالعات در کشورهای کانادا، نروژ، مصر و ایران بین ۳۵٪ تا ۷۹٪ شیوع برآورد شد که بسیار بالا تر از نتایج مطالعه ما می باشد[۱۴،-۱۸،۲۰،۲۳]. یکی از دلایل این تفاوت فاحش می‌تواند گسترش بالای ژن‌ها در ایزوله‌ها در برخی مناطق باشد[۱۸،۲۰،۲۳].

شیوع ژن aac (3)-IV در بسیاری از مطالعات مورد بررسی قرار نگرفته است[۲،۱۴،۱۷،۲۱] که به نظر می‌رسد به دلیل شیوع پایین آن باشد که در مطالعه ما نیز در ایزوله‌ها یافت نشد. در یک مطالعه در کانادا در سال ۱۹۹۵ شیوع این ژن در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه مقاوم به آمینوگلیکوزیدها صفر گزارش شده است[۱۸] اما در مطالعه جدیدی که در سال ۲۰۱۴ در آمریکا انجام گرفت شیوع این ژن در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه مقاوم به آمینوگلیکوزید ۳۸٪ برآورد شده است که نشان دهنده افزایش شیوع این ژن در قاره آمریکا می‌باشد[۲۴]. به طور کلی تفاوت در فراوانی ژن‌ها عمدتاً به دلیل تفاوت در توزیع فراوانی کلون‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و هم‌چنین گونه‌های مختلف از باکتری کلبسیلا، حجم نمونه‌های مورد آزمایش و نیز محاسبه فراوانی ژن‌ها در کل ایزوله‌ها و یا فقط در ایزوله‌های مقاوم می‌باشد.

نتیجه‌گیری:

در این مطالعه کلبسیلا پنومونیه نسبت به اکثر مطالعات پیشین، از نظر فنوتیپی مقاومت پایین‌تری به آمینوگلیکوزیدها را داشتند. هر چند ژن‌های مقاومت aac (6')-Ib، aph (3')-Ia و ant (2")-Ia شیوع بالایی داشتند. این شیوع بالای ژن‌های مقاومت در کرمانشاه می‌تواند در نتیجه تجویز گسترده و غیر منطقی آمینوگلیکوزیدها و عدم بهره‌گیری از اقدامات مناسب کنترل عفونت در بیمارستان باشد.

References:

1. Struve C, Krogfelt KA. Pathogenic potential of environmental Klebsiella pneumoniae isolates. Appl Environ Microbiol. 2004 Jun;6(6):584-90.
2. Liang C, Xing B, Yang X, Fu Y, Feng Y, Zhang Y. Molecular epidemiology of aminoglycosides resistance on Klebsiella pneumonia in a hospital in China. Int J Clin Exp Med. 2015;8(1):1381-5.
3. Feiz Sardhar MH and Akya A. The Frequency of Extended Spectrum β-Lactamase Genes of SHV-2a, SHV-5 and SHV-12 in Clinical

Isolates of Klebsiella Pneumoniae Isolated from Kermanshah Medical Centers in 2014. Arak Uni Med Sci. 2016; 19(107): 59-67.

4. Podschun R, Ullmann U. Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev. 1998 Oct;11(4):589-603.

5. Murray BE. Diversity among multidrug-resistant enterococci. Emerg Infect Diseases. 1998 Jan-Mar;4(1):37-47.

6. Ramirez MS, Tolmasky ME. Aminoglycoside modifying enzymes. Drug Resist Updat. 2010 Dec;13(6):151-71.

7. Mingeot-Leclercq MP, Glupczynski Y, Tulkens PM. Aminoglycosides: activity and resistance. Antimicrob Agents Chemother. 1999 Apr;43(4):727-37.

8. Cosgrove SE, Vigliani GA, Fowler VGJ, Abrutyn E, Corey GR, Levine DP, et al. Initial low-dose gentamicin for Staphylococcus aureus bacteremia and endocarditis is nephrotoxic. Clin Infect Dis. 2009;48(6):713-21.

9. Nicas TI, Iglewski BH. Isolation and characterization of transposon-induced mutants of Pseudomonas aeruginosa deficient in production of exoenzyme S. Infect Immun. 1984 Aug;45(2):470-4.

10. Vasil ML, Ochsner UA. The response of Pseudomonas aeruginosa to iron: genetics, biochemistry and virulence. Mol Microbiol. 1999 Nov;34(3):399-413.

11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2011. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. CLSI, Wayne, PA. 2011; 31(1): M100-S21.

12. Maynard C, Bekal S, Sanschagrin F, Levesque RC, Brousseau R, Masson L, et al. Heterogeneity among virulence and antimicrobial resistance gene profiles of extraintestinal Escherichia coli isolates of animal and human origin. J Clin Microbiol. 2004 Dec;42(12):5444-52.

13. Gonzalez LS, 3rd, Spencer JP. Aminoglycosides: a practical review. Am Fam Physician. 1998 Nov 15;58(8):1811-20.

14. Peerayeh SN, Rostami E, Siadat SD, Derakhshan S. High rate of aminoglycoside resistance in CTX-M-15 producing Klebsiella pneumoniae isolates in Tehran, Iran. Lab Med. 2014 Summer;45(3):231-7.

15. Ullah F, Malik SA, Ahmed J. Antimicrobial susceptibility pattern and ESBL prevalence in Klebsiella pneumoniae from urinary tract infections in the North-West of Pakistan. Afr J Microbiol Res. 2009;3(11):676-80.

16. Revathi G, Puri J, Jain BK. Bacteriology of burns. Burns. 1998 Jun;24(4):347-9.

17. Over U, Gur D, Unal S, Miller GH, Aminoglycoside Resistance Study G. The changing nature of aminoglycoside resistance mechanisms and prevalence of newly recognized resistance mechanisms in Turkey. Clin Microbiol Infect. 2001 Sep;7(9):470-8.

18. Levesque C, Piche L, Larose C, Roy PH. PCR mapping of integrons reveals several novel combinations of resistance genes. Antimicrob Agents Chemother. 1995 Jan;39(1):185-91.

19. Busch-Sorensen C, Sonmezoglu M, Frimodt-Moller N, Hojbjerg T, Miller GH, Espersen F. Aminoglycoside resistance mechanisms in Enterobacteriaceae and Pseudomonas spp. from two Danish hospitals: correlation with type of aminoglycoside used. APMIS. 1996 Oct;104(10):763-8.

20. Lindemann PC, Risberg K, Wiker HG, Mylvaganam H. Aminoglycoside resistance in clinical Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates from Western Norway. APMIS. 2012 Jun;120(6):495-502.

21. Haldorsen BC, Simonsen GS, Sundsfjord A, Samuelsen O, Norwegian Study Group on Aminoglycoside R. Increased prevalence of aminoglycoside resistance in clinical isolates of Escherichia coli and Klebsiella spp. in Norway is associated with the acquisition of AAC(3)-II and AAC(6')-Ib. Diagn Microbiol Infect Dis. 2014 Jan;78(1):66-9.

22. Miro E, Grunbaum F, Gomez L, Rivera A, Mirelis B, Coll P, et al. Characterization of aminoglycoside-modifying enzymes in enterobacteriaceae clinical strains and characterization of the plasmids implicated in their diffusion. Microb Drug Resist. 2013 Apr;19(2):94-9.

23. Hamed SM, Aboshanab KMA, Elkhatib WF, Ashour MS. Aminoglycoside Resistance Patterns of Certain Gram Negative Uropathogens Recovered from Hospitalized Egyptian Patients. Br Microbiol Res J. 2013;3(4):678-91.

24. Almaghrabi R, Clancy CJ, Doi Y, Hao B, Chen L, Shields RK, et al. Carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae strains exhibit diversity in aminoglycoside-modifying enzymes, which exert differing effects on plazomicin and other agents. Antimicrob Agents Chemother. 2014 Aug;58(8):4443-51.

25. Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. Microbiol Rev. 1993 Mar;57(1):138-63.

JCRPS Journal of Clinical Research in Paramedical Sciences, Vol 5, No 4, Winter 2017 Original Article

The spread of aminoglycoside resistant genes in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from Kermanshah medical centers

Alisha Akya[1], Roya Chegene Lorestani[2], Azam Elahi[2]*

1. Nosocomial Infection Research Center, Faculty of Medicine,Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.
2. Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

***Corresponding Author:**
Iran, Kermanshah, , Kermanshah University of Medical Sciences, Faculty of Medicine , Department of Microbiology. Student Research Committe.

Email:
azamelahi202@yahoo.com

Abstract

Introduction: Resistance of *Klebsiella pneumoniae* to aminoglycosides is a serious therapeutic problem, especially in hospitals. The aim of this study was to determine resistance to aminoglycosides and frequency of aac (3)-IIa, aac (6')- Ib, aac (3)-IV, aph (3')- Ia and ant (2")- Ia *K. pneumoniae* isolated from Kermanshah Medical Centers.

Methods: A total of 165 samples from different clinical samples were investigated and among them 100 isolates of *K. pneumoniae* by Keith API-20E was confirmed. The antibiotic sensitivity test to aminoglycosides by disk diffusion method was performed. After extraction the bacterial genome, the genes of aac (3)- Ia, aac (3)-IV, aph (3')-Ia, aac (6')- Ib and ant (2")- Ia were tested using PCR. Data are statistically analyzed.

Results: Of 100 isolates, 49 isolates (49%) were resistant to tobramycin and / or gentamycin. Frequency of aac (6')-Ib, aph (3')-Ia and ant (2")-Ia among isolates were 87.7%, 42.8% and 24.4%, respectively. But aac (3)-IV and aac (3)- IIa genes were not found in any of the isolates.

Conclusion: K.pneumoniae isolates phenotypically showed lower resistance aminoglyocosides tested in compared to the most previous studies. However, the aac (6 ') - Ib, aph (3') - Ia and ant (2 ") - Ia resistant genes had a high prevalence rate. The high prevalence of resistance genes in Kermanshah can be consequences of extensive and inappropriate prescribing of aminoglycosides and the lack of effective measures for infection control in hospitals.

Key words: Klebsiella pneumoniae, Aminoglycosides genes, Resistance

How to cite this article

Akya A, Chegene Lorestani R, Elahi A. The spread of aminoglycoside resistant genes in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from Kermanshah medical centers. J Clin Res Paramed Sci 2017; 5(4):381-387.