

دراسة مقاومة بكتريا *Klebsiella pneumoniae* للمضادات الحيوية باستخدام

جهاز Vitek2 المعزولة من عينات سريرية

تساهيل حامد كاظم الدليمي

كلية العلوم للنبات-جامعة بابل

htsahel@yahoo.com

الخلاصة

نفذت هذه الدراسة للتحري عن دور جرثومة *Klebsiella pneumoniae* بوصفها عاملاً مرضياً في أحداث أخماج المجاري البولية والاسهال في الإنسان فضلاً عن المسببات البكتيرية الأخرى ولقد شملت الدراسة التحري عن هذه الجرثومة في عينات سريرية من مرضى يعانون من حالات التهاب المجاري البولية والاسهال راقدين والمراجعين الى مستشفى الهاشمية العام من كلا الجنسين ولمختلف الاعمار .

اذ تهدف الدراسة الحالية الى تحديد الحساسية الدوائية للجرثومة المعزولة من العينات السريرية لأصناف مضادات مختلفة باستخدام تقنية Vitek2. تضمنت الدراسة جمع 222 عينة من المرضى المخرجين بالتهاب المجاري البولية والاسهال فكانت 42 عينة تعود الى بكتريا *Klebsiella pneumoniae* و 162 عينة تعود للمسببات البكتيرية الأخرى و 18 عينة سالبة للزرع البكتيري. تم اختبار حساسية ومقاومة عزلات جرثومة *Klebsiella pneumoniae* لعدد من المضادات الحيوية باستخدام تقنية Vitek2 حيث أظهرت نتائج فحص الحساسية للمضادات الحيوية مقاومة معظم هذه العزلات لمضادات (100%) Ticarcillin, 42 (71.4%) Aztreonam, 30 (71.4%) Cefepime, 30 (71.4%) Ceftazidime, 30 (71.4%) Piperacillin, 42 (100%) و (57.2%) Trimethoprim\Sulfament 24 كما بينت الدراسة إن أكثر المضادات الحيوية فعالية تجاه العزلات هو (85.7%) Imipenem 36 (100%) Amikacin 42 (100%) Ciprofloxacin 42 (100%) Tobramycin 42 (85.7%) Meropenem 36 (71.4%) Gentamycin 30 (71.4%) Piperacillin\Tazobactam 30 (71.4%) و (71.4%) ولذلك من الافضل اعتبارها العلاج الامثل لأخماج جرثومة *Klebsiella pneumoniae*. الكلمات المفتاحية: جرثومة *Klebsiella pneumoniae*، اخماج، تقنية Vitek2، العزلات.

Abstract

This study was carried out to investigate the role of the bacterium *Klebsiella pneumoniae* as a pathogenic bacterium in the urinary tract infections and diarrhea in humans as well as other bacterial etiology. The study included screening for this bacteria in clinical samples from patients suffering from urinary tract infection and diarrhea ,for both gender and different ages and outpatients to the Hashemiya General Hospital.

The current study aims to determine the antibiotics sensitivity of the bacterial isolates isolated from clinical samples against of different classes of antibiotics using Vitek2 technique. A total of 222 samples were collected from patients with urinary tract infections and diarrhea 42 samples were found to *Klebsiella pneumoniae* and 120 samples were found due to other samples bacterial pathogens and other 18 samples were negative for bacterial culture. The isolates of the bacteria *Klebsiella pneumoniae* was detected against to a number of antibiotics using Vitek2 system. The results of sensitivity to antibiotics showed That most of isolates were resistant to Ticarcillin 42(100%), Piperacillin 42(100%), Ceftazidime30(71.4%), Cefepime30(71.4%), Aztreonam 30 (71.4%) and Trimethoprim\Sulfament 24 (57.2%). The study also showed that the most effective antibiotics against isolates were Tobramycin42(100%), Ciprofloxacin 42 (100%),Amikacin 42 (100%),Imipenem 36(85.7%), Meropenem 36 (85.7%), Piperacillin\Tazobactam 30(71.4%),Gentamycin 30 (71.4%), and Minocycline 30 (71.4%) ,Therefore it is considered to be typical treatment to *Klebsiella pneumoniae* infections.

Keywords: bacterium *Klebsiella pneumoniae*, infections , Vitek2 technique, isolates.

المقدمة

تعود جرثومة *Klebsiella pneumoniae* الى العائلة المعوية (Enterobacteriaceae) وهي غير متحركة و عصوية الشكل وسالبة لصبغة كرام لاهوائية اختيارية . تسبب الجرثومة العديد من الامراض مثل ذات الرئة , التهاب المجاري البولية (Wen-Chien *et al* .,2002). كما تكتسب الاصابة بالجرثومة من

المستشفيات Nosocomial Infection بصورة شائعة وتسبب Intra-abdominal infection (Abbott,2003) وخراجات الكبد (Yang et al,2004). وتسبب امراض القناة المعوية Gastrointestinal tract (Podschun& Ullmann,1998). وتمتلك انزيمات البييتالاكتيميز التي كما تمتلك العديد من الجينات التي تكسبها صفة المقاومة للمضادات الحيوية والتي يمكنها الانتقال بواسطة طرق انتقال المعلومات الوراثية وتكون هذه الجينات محمولة على لبلازميدات المقاومة R-plasmide المشفرة لمقاومة العديد من المضادات الحيوية (Gascon,2000).

يُعد التهاب المجاري البولية (UTI) Urinary Tract Infection من أكثر الأمراض الالتهابية البكتيرية شيوعاً ويكتسب هذا المرض من المستشفيات Nosocomial Infection ، كما يكتسب من المجتمع Community-Acquired Infection (Hryniewicz et al.,2000) . إن العامل المسبب لهذا المرض هو الجراثيم Bacteria والفطريات Fungi ونادراً ما تشترك الطفيليات والفيروسات في الإصابة ، أما الاسهال فيعد من الامراض الخطرة والشائعة في العالم ، اذ يتعرض الاطفال للإصابة بهذا المرض دون سن الخمس سنوات وتتركز الإصابة للأطفال الذين تتراوح اعمارهم بين ستة اشهر الى سنتين (AL-Kaby , 2000) كما يعتبر احد أسباب ارتفاع نسبة الوفيات في الأطفال وبالأخص في البلدان النامية اذ يتسبب بوفاة ملايين الاطفال سنويا (Behrman,2000) . وتكون مسببات المرض اما بكتيرية او طفيلية او فيروسية وتشكل المسببات البكتيرية النسبة الأكبر من بين تلك المسببات في الاطفال وبالأخص افراد العائلة المعوية (Enterobacteriaceae) اذ تكون اما ممرضات Pathogens او ممرضات انتهازية (Opportunistic) وكلاهما ينتجان عوامل الضراوة (Viulence factors) المهمة في احداث المرض مثل الذيفانات الداخلية . Endotoxins (اسماعيل واخرون , 2009) . اذ تتواجد جرثومة *Klebsiella pneumoniae* كفلورا طبيعية في الفم والجلد والامعاء (Ryan and Ray,2004) .

الهدف من البحث

تهدف الدراسة الحالية الى دراسة مقاومة بكتريا *Klebsiella pneumoniae* لبض المضادات الحيوية

المواد وطرق العمل

زرعت العينات المعزولة من المرضى المصابين بالاسهال والتهاب المجاري البولية على بعض الأوساط الزرعية الانتخابية (اكار الدم و المانيتول الملحي و أزرق المثيلين والماكونكي) وحضنت بدرجة (37) م لمدة (24) ساعة ثم شخصت العزلات التي تم الحصول عليها اعتمادا على الفحوصات الزرعية والمجهريّة وعدد من الاختبارات الكيموحيوية، فضلا عن بعض الاختبارات الكيميائية كالنمو في تراكيز ملحية مختلفة بالاعتماد على ما ورد في (Holt,1994) فضلا عن تأكيد التشخيص باستخدام نظامي API20E و VITEKA2 فوجد أن 42 عزلة تعود لبكتريا *Klebsiella pneumoniae* وتم دراسة التحري عن بعض عوامل الضراوة للجرثومة المتمثلة بالمحفظة و انتاج أنزيمي اليوريز و الهيموليسين .

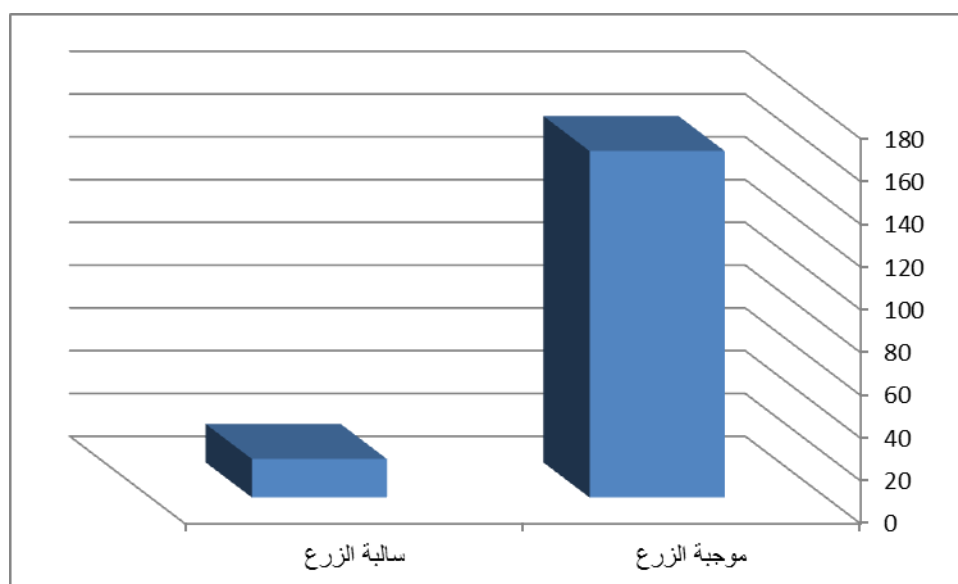
النتائج والمناقشة

تم عزل و تشخيص جرثومة *Klebsiella pneumoniae* المسببة للخمج بنسبة (25,9%) وكانت نسبة الممرضات البكتيرية الاخرى التي لم تشملها الدراسة (74,1%) من مجموع 162 عينة ايجابية للزرع البكتيري كما موضح في الجدول (1) الذي يوضح أعداد ونسب العزلات البكتيرية المعزولة من خمج المجاري البولية والاسهال.

جدول (1) أعداد ونسب العزلات البكتيرية المعزولة من خمج المجاري البولية والاسهال

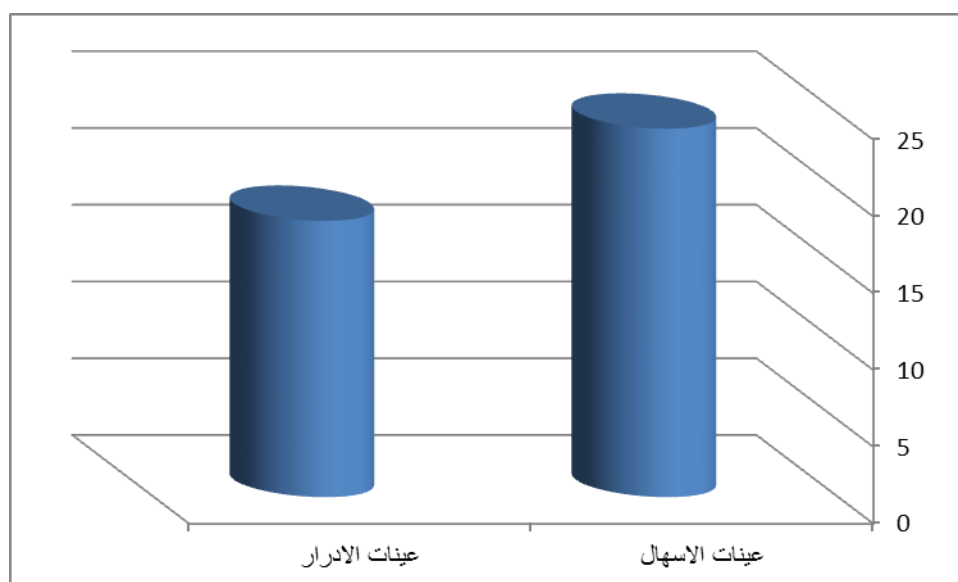
النسبة المئوية	العدد	البكتريا
%25,9	42	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
%74,1	120	Other causes
%100	162	المجموع

أظهرت العينات ايجابية الزرع البكتيري ل162 عينة بنسبة (90%) وسالبا ل 18 عينة بنسبة(10%) من مجموع العينات السريرية كما موضح في الشكل (1).



الشكل (1) العينات الموجبة وسالبة الزرع البكتيري

عزلت جرثومة *Klebsiella pneumoniae* من عينات التهاب المجاري البولية بنسبة 18(42.8%) في حين شكلت 24(57.1%) من عينات الاسهال من اصل 42 عينة للجرثومة كما موضح في الشكل (2)



الشكل (2) اعداد عزلات جرثومة *Klebsiella pneumoniae* حسب مصدر العينة

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن جرثومة *Klebsiella pneumoniae* شكلت نسبة 25.9% من مجموع العزلات البكتيرية التي تم الحصول عليها من عينات التهاب المجاري البولية والاسهال , أشارت العديد من البحوث الى اهمية الجرثومة كإحدى مسببات التهاب المجرى البولي وحالات الاسهال (Khadri et al.,2007) . اذ عزلت الجرثومة بنسبة 2.1% من عينات الاسهال (علي,2012). كما اظهرت دراسة التحري عن بعض عوامل الضراوة للجرثومة ان جميع العزلات قادرة على انتاج انزيم اليوريز وغير قادرة على انتاج انزيم الهيموليسين و محاطة بالمحفظة اذ تمتلك الجرثومة المحفظة او الكبسولة (متعدد السكريد الشحمي) والتي تعد احدى عوامل الضراوة المهمة لها (Wacharotayankun,1993) كما تكسبها خاصية للزوجة و المقاومة ضد الاليات الدفاعية للمضيف (Alvarez et al.,2000)

بينت نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية لجرثومة *Klebsiella pneumoniae* كما موضح في الجدول (2) انها مقاومة للمضادات Ticarcillin و Piperacillin بنسبة 100% و Trimethoprim\Sulfament بنسبة (57.2%) وحساسة للمضادات Tobramycin, Amikacin و Ciprofloxacin بنسبة 100% و Imipenem بنسبة (85.7%) , وكانت نتائج الدراسة الحالية مقارنة لما توصل اليه (Khalid&Ahmed,2014) اذ بين ان الجرثومة مقاومة لكل من Piperacillin بنسبة (92.3%) , Cefepime بنسبة (76.92%) و Trimethoprim\Sulfament بنسبة (61.53%) وحساسة لكل من Imipenem بنسبة (84.61%).

واشارت دراسة اخرى حول عزل الجرثومة من التهاب المجاري البولية انها اظهرت معدلات مقاومة عالية لمضادات sulfonamide, ampicillin, amoxicillin, cotrimoxazole, tetracycline و trimethoprim, streptomycin, carbenicillin (Atif & Ahmed, 2000) . في دراسة اخرى وجد ان الجرثومة مقاومة لمضاد Ceftazidime بنسبة (45.8%) وحساسة Ciprofloxacin بنسبة (76.4%) و مضاد Amikacin بنسبة (86.1%) و مضاد Gentamycin بنسبة (80.6%) والنساء اكثر عرضة للإصابة من الذكور (Manikandan &Amsath., 2013). كما عزلت بنسبة (6.9%) من حالات الاسهال وبنسبة حساسية لمضادات Ciprofloxacin و Gentamicin (86.7%), (60%) على التوالي (Clarence et al., 2007)

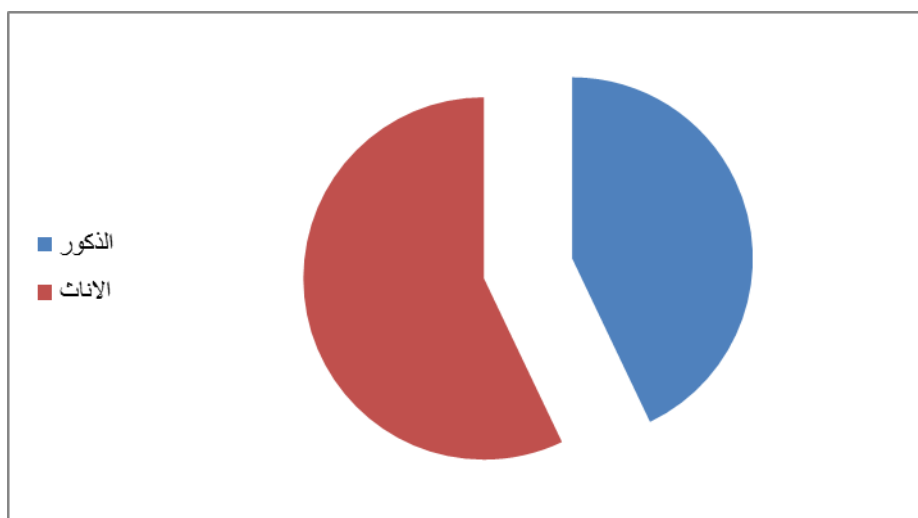
إن دراسة تأثير المضادات الحيوية تهم المختصين في المجال الطبي والصيدلاني والعلوم , وتختلف كفاءة المضادات الجرثومية بمدى تعرض الجراثيم للمضادات الحيوية وبحسب الزمان والمكان كما تختلف نسب المقاومة للمضادات الحياتية من بلد الى اخر (Kahan *et al.*,2006) . يقتصر استعمال المضاد الحيوي Gentamycin على الجراثيم السالبة لصبغة جرام باستثناء المكورات العنقودية حيث تكون حساسة له وهو من المضادات القاتلة للجراثيم من خلال تثبيطه صنع البروتينات الجرثومية. تمتلك جراثيم العائلة المعوية لانزيمات البييتالاكتيميز التي تمكنها من مقاومة العديد من المضادات الحيوية (Saves,1995) كما تمتلك جينات المقاومة لمضادات Ttracyclines ,Macrolides, Sulfonamides و Aminoglycosides (Ramirez) (*Klebsiella pneumonia* & Tolmasky, 2010) . كما وجد ان جرثومة *Klebsiella pneumonia* من اهم الاجناس الجرثومية المنتجة لانزيمات البييتالاكتيميز ESBLs (Bradford, 2001). تمتلك جرثومة *Klebsiella pneumoniae* انزيمات carbapenemases والتي تثبط عمل مضادات Carbapenem مثل imipenem و meropenem ومضادات penicillins و azet-reonam fluoroquinolones و cephalosporins و aminoglycosides وتسمى (KPCs) *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases , كما وجدت دراسات اخرى ان الجرثومة مقاومة لعدد من المضادات وخصوصا مضادات cephalosporin's و penicillin's والتي تعزى الى امتلاكها للبلازميدات التي تشفر انتاج انزيمات البييتالاكتيميز Extended spectrum beta lactamases (ESBL) (Lopes *et al.*, 2005) .

توزيع الإصابة البكتيرية حسب الجنس

توزعت الإصابة البكتيرية لكلا الجنسين اذ بلغت نسبة الإصابة للذكور 18(42,9%)، أما نسبة الإناث فبلغت 24(57,1%) وتختلف بسبب التغيرات الهرمونية الدورية للنساء ومنها هرمون الاستروجين الذي يخفض المناعة عند النساء , وتكون النساء أكثر عرضة للإصابة بعدوى الجهاز البولي لأن الإحليل لديهن أقصر وأقرب إلى الشرج(Dielubanza& Schaeffer, 2011) . كما بين Miller وجماعته سنة 1996 ان نسبة إصابة الرجال به اقل من النساء . تعتبر عدوى الجهاز البولي بين الأطفال أكثر شيوعًا لدى الذكور غير المختونين ، ويليه في ذلك الإناث الأصغر من عام واحد من العمر(Katy *et al.* , 2011) بينت التقديرات العالمية الى ان مرض التهاب المجاري البولية يصيب 4% من البنات في سن الدراسة وحوالي 50 % من بقية الاعمار Sexual activity وخصوصا النساء الشابات كما ان مرض السكر young women والحمل من العوامل التي تزيد من مخاطر الإصابة بإنثان المجاري البولية (Ramzan *et al.*.,2004). تكون الاطفال اكثر عرضة للإصابة بمرض الاسهال دون سن الخامسة من العمر (Gupta, 1996).

Antibiotics	Resistance		Intermediate		Sensitive	
	No.	%	No.	%	No.	%
Ticarcillin	42	100	00	00.0	00	00.0
Piperacillin	42	100	00	00.0	00	00.0
Piperacillin\Tazobactam	6	14.3	6	14.3	30	71.4
Ceftazidime	30	71.4	00	00.0	12	28.6
Cefepime	30	71.4	00	00.0	12	28.6
Aztreonam	30	71.4	00	00.0	12	28.6
Imipenem	6	14.3	00	00.0	36	85.7
Meropenem	6	14.3	00	00.0	36	85.7
Amikacin	00	00.0	00	00.0	42	100
Gentamicin	12	28.6	00	00.0	30	71.4
Tobramycin	00	00.0	00	00.0	42	100
Ciprofloxacin	0	00.0	00	00.0	42	100
Minocycline	6	42.3	6	06.6	30	71.4
Trimethoprimel Sulfament	24	57.2	00	00.0	18	42.8

الجدول (2) فحص الحساسية للمضادات الحياتية لعزلات *Klebsiella pneumoniae*



الشكل (3): توزيع الإصابة البكتيرية حسب الجنس

المصادر العربية

منى جلال علي, (2012). دراسة انواع البكتريا المعزولة من الاطفال المصابين بالإسهال وحساسيتها للمضادات الحيوية. مجلة ديالى. المجلد (8) , العدد(1).
جميلة راضي إسماعيل, حسن علي عبد الرضا و عدنان حمد عبيد , (2009). دراسة لأهم مسببات الاسهال البكتيرية الهوائية في الاطفال في محافظة القادسية وحساسيتها لبعض المضادات الحياتية. المجلة الطبية البيطرية العراقية. المجلد (33) ، العدد(1).

المصادر الاجنبية

- Abbott SL. (2003). *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas and other Enterobacteriaceae*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. Manual of clinical microbiology. 8th ed. Washington DC: American Society for Microbiology Press, : 684–700.,
- AL-Kaby ,F.J.(2000).Astudy on diarrhea in relation to malnutrition in children under 2 years in Baghdad . ,M.se.Thesis stbmitted of the college of medicine university of AL Mustansiriya.
- Alvarez, D., Merino, S., Tomas, J. et al. (2000). Capsular polysaccharide is a major complement resistance factor in lipopolysaccharide O side chain-deficient *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. *Infect Immun* 68, 953-955.
- Atif, A.and Ahmed, ET.(2000). Antimicrobail Agent Resistance in bacterial isolates from patients with diarrhea and urinary tract infection in The Sudan.. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 63(5, 6), pp. 259–263
- Behrman, R.E.; Kligman, R.M. and Jonson, H.B. (2000). Nelson Textbook of Pediatrics. 16th Ed. W.B.Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney and Tokyo.
- Bradford PA,(2001). Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*;14:933-51.
- Clarence Suh ., et al.,(2007) Multi-antibiotics-resistance plasmid profile of enteric pathogens in pediatric patients from Nigeria. *Journal of Nigeria society for expermental biology*. 19(1):35-42
- Dielubanza, EJ. and Schaeffer, AJ (2011). "Urinary tract infections in women.". *The Medical clinics of North America* 95 (1): 27–41.
- Gascon J., Vargas M.,Schellenberg D.,Urassa H.,Casals C.,*et al.*(2000).Diarrhea in children under 5 years of age from Ifakara , Tanzania :a case-control study .*American Society for Microbiology* .38(12);4459-4462
- Gupta, S. (1996). The short Textbook of Pediatrics, 17th Ed. Brothers Medical Publishers (P) Ltd., India.
- Holt JC, Krieg NR, Sneath A, Stachley JT, William ST (1994). Bergy,s manual of determinative bacteriology, 9thed. USA.,
- Hryniewicz K, Szczypa K, Sulikowska et al.,(2000). Antibiotic susceptibilty of bacterial strains isolated from urinary tract infections in Poland. *J Antimicrob Chemother*;47: 773– 80.
- Kahan, N. P. Chinitz, D. A.*et al.*(2006). Empiric treatment of uncomplicated urinary tract infection with fluoroquinolones in older women in Israel :another lost option. *Ann. Pharmacother*. 40(12):2223 2227.
- Katy, TA, Place, FC ,Bhat RG. (2011). Pediatric urinary tract infections.. *Emergency medicine clinics of North America* 29 (3): 637–53
- Khadri, H.C., S. Surekha, S. Laksmi and G. Narasima,. (2007). Multidrug - resistance and beta-lactamase production by *Klebsiella pneumoniae*.*African J. Biotechnol.*, 6: 1791–1793.
- Khalid, A. A.; Abdel Rahim and Ahmed M. A. M. (2014).Prevalence of Extended Spectrum β -lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Clinical Isolates. *Jundishapur J Microbiol*. 7(11): e17114.
- Lopes, A.C.S., J.F. Rodriques and M.A.M. Junior.(2005). Molecular typing- of *Klebsiella pneumoniae* isolates from public hospitals in Recife. *Brazil Microbiol. Res.*, 160: 37–46
- Manikandan,C and A.Amsath.(2013). Antibiotic susceptibilty pattern of *Klebsiella pneumoniae* isolated from urine samples .*Int.J.Curr.Micr..App.Sci* 2(8): 330-337.

- Podschun, R. and Ullmann U.(1998) "*Klebsiella* spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors". *Clinical Microbiology Reviews*. V. 11(4) p. 589-603.
- Ramirez MS, Tolmasky ME (2010) Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resist Updat* 13: 151–171.
- Ramzan, M.; Bakhsh, S.; Salam, A.; Khan, G.M. and Mustafa, G. (2004). Risk factors in urinary tract Infection, Department of pathology women Medical collage, Abbottabad, Pakistan, *Gomal Journal of Medical scainces*, Vol.2 , No.2.
- Ryan, KJ; Ray, CG, eds. (2004). *Sherris Medical Microbiology* (4th ed.). McGraw.
- Saves, I.; Bulet-Schiltz, Samama, J. *et al.* (1995). The asparagine to aspartic acid substitution at position 276 of TEM-35 and TEM-36 is involved in the β -lactamase resistance to clavulanic acid. *J. BioI. Chern.*, 270(31): 18240-18245.
- Wacharotayankun, R.; Arakawa, Y; Ohta M, et al. (1993). Enhancement of extracapsular polysaccharide synthesis in *Klebsiella pneumoniae* by RmpA2, which shows homology to NtrC and FixJ. *Infect Immun*; 61:3164–74.
- Wen-Chien Ko, David L. *et al.*, (2002) "Community-Acquired *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia: Global Differences in Clinical Patterns". *Pubmed Central*. Vol. 8, No. 2.
- Yang CC, Yen CH, Ho MW, and Wang JH. (2004). Comparison of pyogenic liver abscess caused by non-*Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae*. *J Microbiol. Immunol. Infect*; 37:176–84.