مجتبی نیکبخت سرداری خیاوی، دکترای تخصصی(PhD) باکتری شناسی پزشکی،
دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
تاج الدین اکبرزاده خیاوی، کارشناس ارشد میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

گذری بر کارباپنمازها

کارباپنم‌ها آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام قوی هستند که برای درمان عفونت‌های سخت و تهدید کننده زندگی در بیمارستان‌ها بکار گرفته می‌شوند.کارباپنم‌ها در مقایسه با پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها یا بتالاکتام‌های حاوی مهارکننده بتالاکتاماز، طیف اثر ضدمیکروبی وسیعی دارند، که شامل باکتری‌های گرم مثبت (مثل ایمی‌پنم، دوری‌پنم) و گرم منفی (مثل مروپنم، ارتاپنم) هستند. ایمی‌پنم و مروپنم فعالیت بهتری روی سودوموناس ائروجینوزا دارند در حالیکه ایمی‌پنم و دوری‌پنم فعالیت کشندگی بهتری بر روی اسینتوباکتر بوومانی نسبت به مروپنم دارند. دوری‌پنم کمترینMIC علیه سودوموناس ائروجینوزا و اسینتوباکتر در مقایسه با ایمی‌پنم و مروپنم دارد و نیز کمترین حساسیت در برابر هیدرولیز به وسیله کارباپنمازها را دارا است. برای عمل روی PBP_s، کارباپنم‌ها باید از طریق OMP (پورین‌ها) به دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی وارد شوند. آنها با پیوند به PBP_sاز سنتز دیواره سلولی جلوگیری کرده وسرانجام مایه ی مرگ سلول باکتری می‌شوند.

مقاومت به کارباپنم‌ها در باکتری‌های گرم منفی می‌تواند نتیجه تولید یک بتالاکتاماز، بیان پمپ‌های افلوکس، از دست دادن پورین‌ها و تغییر در PBP_s باشد. از آنجایی که بتالاکتام‌ها، شامل ترکیبات شبه کارباپنم محصولات طبیعی باکتری‌ها و قارچ‌های محیطی گوناگون هستند، گمان بر این است که در دیگر باکتری‌هایی که دست به کار ساخت بتالاکتامازهای ذاتی خودشان هستند، این پدیده به آنها برتری گزینشی برای ماندن می‌دهد، بنابراین ژن‌های گوناگون کارباپنمازها می‌تواند در باکتری‌های محیطی همانند باسیلوس آنتراسیس، سراشیا، سودومونس سپاسیا و آسینتوباکتر به عنوان بخشی از کروموزم‌های آنها وجود داشته باشد. ژن‌های کدکننده کارباپنمازها از راه عناصر ژنتیکی متحرک مثل پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها بین جنس‌های گوناگون باکتری‌ها انتقال داده می شود. امروزه کارباپنمازها یک چالش درپزشکی جهان به شمار می آید.

طبقه بندی کارباپنمازها

دردسته‌بندیAmbler، که بر پایه ی همسانی های ساختمانی است، کارباپنمازها دارای کلاس‌های A,B,D هستند.

کارباپنمازهای کلاس A

این گروه دارای سرین در جایگاه فعال خود هستند و قادر به هیدرولیز کردن تمام بتالاکتام‌ها مثل آزترونام می‌باشند. در این گروه از کارباپنمازها آنزیم‌های Sme(Sme-۱ تا Sme-۳)، IMI (IMI-۱ تاIMI-۳)، NmcA و SFC-۱ ، بیشتربا کروموزم کد می‌شوند، اما KPC (KPC-۲ تا KPC-۳۱) و GES (GES-۱ تاGES-۲۰) با پلاسمید کد می‌شوند. کارباپنماز در این گروه KPC است که در سال ۱۹۹۶ در کارولینای شمالی شناسایی شد و امروزه در بسیاری از مناطق گسترش دارد. همچنانکه، بومی شمال شرقی آمریکا، اسرائیل، چین، پورتوریکو و یونان بوده و نیز در سراسر اروپا در حال گسترش است. علاوه بر کلبسیلا پنومونیه که توسط یک کلون غالب بنام ST۲۵۸ تولید می‌شود، در سایر آنتروباتریاسه‌ها و همچنین در سودوموناس و اسینتوباکتر بومانی و کالکواستیکوس نیز یافت شده است.

کارباپنمازهای کلاس B

این دسته از کارباپنمازها نیز به عنوان متالوبتالاکتامازها شناخته شده‌اند (MBL)، زیرا دارای یون‌های فلزی در جایگاه فعال خود هستند. علاوه بر آنهایی که به صورت ژن‌های کروموزومی در باکتری‌های محیطی مثل Aeromonas spp CphA،Bacillus cereusBCI,BCII.– و S.maltophilia-L۱ وجود دارند، ژن‌های اکتسابی کدکننده MBL اغلب در کاست‌های ژن در داخل اینتگرون‌ها قرار گرفته‌اند که نخستین بار در سال ۱۹۹۱ در ژاپن توصیف شدند و آنزیم‌های IMP نام گرفتند. این دسته امروزه، شامل ۳۰ مشتق فرعی است و هنوز MBLهای غالب در قاره آسیا بوده و عامل شیوع‌های تکی اصلی هستند. VIM-enzymes (شامل بیش از ۳۰ مشتق فرعی) نخست در سودوموناس آئروجینوزا گزارش شدند، سپس در آنتروباکتریاسه‌ها پدیدار شدند، به گونه ای که به سرعت در سراسر اروپا پخش شدند و عامل شیوع‌ها در بسیاری از کشورهای مدیترانه‌ای مثل یونان، ایتالیا و ترکیه شدند. امروزه، اینها شایع‌ترین کارباپنمازهای پخش‌شونده جهانی بوده، ولی در پیوند با سودوموناس آئروجینوزا بسیار بیشتر از انتروباکتریاسه‌ها

از کشورهای مدیترانه‌ای مثل یونان و ترکیه یافت شده‌اند.

متالوبتالاکتاماز تازه دیگری از هندوستان در سال ۲۰۰۸ میلادی گزارش شده و NDM-۱ (New dehli MBL) نامیده شد، که سپس سال های دیگر، به سرعت در تمام نقاط هندوستان پخش شده است. تاکنون بیشتر از ۱۰ واریانت از آن گزارش شده است. این آنزیم‌ها (علاوه بر آنزیم‌هایی که در سویه‌های پخش‌شونده در محیط وجود داشته و در میان عموم مردم در فلورای طبیعی نیز هست) نه تنها با سویه‌های منسوب غیرکلون شده کلبسیلا پنومونیه و اشریشیا کولی همراه هستند بلکه در سودوموناس ائروجینوزا و آسینتوباکتر بوومانی هم گزارش شده‌اند، همچنین این آنزیم‌ها در ناحیه بالکان نیز گسترش دارد.

کارباپنمازهای کلاس D

اگزاسیلینازها از کلاس D بیشتر در گونه‌های آسینتوباکتر یافت شده‌اند. آنها به گروه OX-۲۳ تقسیم می‌شوند که در جهان بسیار شایع است. همچنین در ایزوله‌های محیطی گونه‌های اسینتوباکتر یافت شده‌اند. منبع ممکن طبیعی و غیربیمارستانی این ژن‌ها یعنی گروه OX-۲٤ به اندازه OX-۲۳ گستردگی جهانی نداشته و به طور عمده در اروپا و آمریکا گزارش شده است. چندین شیوع گروه OX-۵۸ در سراسر جهان گزارش شده‌است. OX-٤۸ در آنتروباکتریاسه بویژه در کلبسیلا پنومونیه و با شدت پایین‌تر در اشریشیاکولی کشف شده که در همه ی نقاط دنیا پخش شده‌اند، ولی ویژه ی محدوده کشورهای دریای مدیترانه است.

اهمیت بالینی کارباپنمازها

باکتری‌های گرم منفی مولد بتالاکتاماز می‌تواند باعث طیف وسیعی از عفونت‌ها باشد، مانند باکتریمی، پنومونی بیمارستانی، عفونت‌های زخم، آندوکاردیت و عفونت‌های دستگاه ادراری. این عفونت‌ها اغلب با شکست‌های درمانی و با بستری طولانی مدت در بیمارستان و با میزان‌های بالای مرگ‌ومیر همراه است. برای نمونه دامنه مرگ‌ومیر ناشی از عفونت‌های سودوموناس آئروجینوزای مقاوم به کارباپنماز بین ۵۱/۲ درصد تا ۹۵ درصد متغیر است.

تشخیص آزمایشگاهی کارباپنمازها

۱- تست تغییریافته Hodge: این تنها تست توصیه شده توسط CLSI تشخیص فنوتیپیک فرایندهای کاباپنماز است، ولی اغلب فاقد حساسیت و اختصاصیت است.

۲- تست های با پایه مهارسازی با استفاده از مهارکننده‌های مختلف: EDTA و Phenantroline به عنوان مهارکننده‌های MBL_s، Phenylboronic acid به عنوان مهارکننده KPC) در ترکیب با کارباپنم (مثل مروپنم) یا سفالوسپورین (مثل سفتازیدیم) در اشکال مختلف انتشار دیسک یا رقت در محیط مایع یا E-TEST.

مهارکننده اختصاصی که بتواند در تشخیص کلاس D کارباپنمازها استفاده شود وجود ندارد، ولی گزارش‌هایی مبنی بر استفاده از دیسک Temocilidin (یا در ترکیب با Avibac-tam) برای این منظور در دست است.

۳-تست Carba NP: یک تست ساده بیوشیمیایی است که بر اساس هیدرولیز ایمی‌پنم است. این فرایند با یک تغییر رنگ در معرف در نتیجه کاهش PH قابل تشخیص است و در بیشتر آزمایشگاه‌های میکروبیولوژیکی کاربرد دارد. با وجود اینکه استاندارد مرجع در تشخیص محصول کارباپنمازها اندازه‌گیری اسپکتروفوتومتریک هیدرولیز کارباپنم در حضور یا عدم حضور مهارکننده است، ولی هنوز فقط در سطح آزمایشگاه‌های رفرانس قابل انجام است.

٤-استفاده از Mass spectrometry (MALDI-TOFF):

چند سالی است که استفاده از Mass spectrometry (MALDI-TOFF) بر اساس آنالیز تجزیه مولکول کارباپنم تشخیص سریع کارباپنماز KPC رادر ٤۵ دقیقه یا MBL را در ۱۵۰ دقیقه قادر ساخته است.

۵- تست های مولکولی مثل Simplex PCR یا multiplex PCR، Real-time PCR و تست‌های هیبریدیزاسیون:

این تست های مولکولی توانستند به طور موفقیت‌آمیزی تشخیص ژن‌های کارباپنمازها را در آزمایشگاه بالینی با رفع موانع و مشکلات مربوط به حساسیت و اختصاصیت در تست‌های فنوتایپک بهبود ببخشند. با این وجود روش‌های مولکولی مستلزم ابزارهای گران‌قیمت و آموزش کارکنان آزمایشگاه است.

منابع

1. K. M. Papp-Wallace, A. Endimiani, M. A. Taracila, and R. A. Bonomo, “Carbapenems: past, present, and future,” Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 55, no. 11, pp. 4943–4960, 2011.
2. A. M. Queenan and K. Bush, “Carbapenemases: the versatile β-lactamases,” Clinical Microbiology Reviews, vol. 20, no. 3, pp. 440–458, 2007.
3. S. M. Diene and J. M. Rolain, “Carbapenemase genes and genetic platforms in Gram-negative bacilli: Enterobacteriaceae, Pseudomonas, and Acinetobacter species (E.P.A),” Clinical Microbiology and Infection, 2014.
4. L. S. Munoz-Price, L. Poirel, R. A. Bonomo et al., “Clinical epidemiology of the global expansion of Klebsiella pneumoniae carbapenemases,” The Lancet Infectious Diseases, vol. 13, no. 9, pp. 785–796, 2013.
5. L. S. Tzouvelekis, A. Markogiannakis, M. Psichogiou, P. T. Tassios, and G. L. Daikos, “Carbapenemases in Klebsiella pneumoniae and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions,” Clinical Microbiology Reviews, vol. 25, no. 4, pp. 682–707, 2012.