

## **Emergence of multidrug resistant, extended-spectrum $\beta$ -lactamase and metallo- $\beta$ -lactamase strain of *Acinetobacter baumannii* in ICU ward of Kashan Beheshti Hospital during 2013-14**

**Bagheri-Joshegani S<sup>1</sup>, Moniri R<sup>2\*</sup>, Firoozeh F<sup>3</sup>, Sehhat M<sup>4</sup>, Ghenaat Ghamsari E<sup>1</sup>**

1- Student Research Committee, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

2- Anatomical Sciences Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

3- Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

4- Trauma Research Center, Shahid-Beheshti Hospital, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received April 12, 2014; Accepted November 11, 2015

### **Abstract:**

**Background:** *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) is a nosocomial opportunistic pathogen especially in intensive care unit (ICU) patients with innate resistance to many antibiotics. The aims of this study were to determine the antibiotic resistance patterns, the frequency of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) and metallo- $\beta$ -lactamase (MBL) enzymes among the *A. baumannii* isolated from tracheal tubes of hospitalized patients in ICU ward of Beheshti hospital (Kashan, Iran) during 2013-2014.

**Materials and Methods:** A descriptive cross-sectional study was performed on 40 isolates of *A. baumannii*. Antibiotic susceptibility test for seventeen antimicrobial agents was performed according to the CLSI guidelines. ESBL and MBL producing isolates were confirmed by double-disk diffusion test. The presence of *blaOXA51* gene was investigated using PCR.

**Results:** All of *A. baumannii* isolates were resistant to Piperacillin, Piperacillin-Tazobactam, Ceftazidime, Cefepime, Cefotaxime, Ceftriaxone, Meropenem, Imipenem, Ciprofloxacin, Levofloxacin, and Trimethoprim-Sulfamethoxazole; 100% of the isolates were multi-drug resistant (MDR). Two (5%) and 26 (65%) strains were ESBL- and MBL-positive, respectively. All isolates were positive for *blaOXA51* gene.

**Conclusions:** The study emphasizes the high frequency of MDR in Kashan Shahid Beheshti hospital. Since the resistance genes are located on mobile elements, to prevent further spread of the infection, rapid identification of the mentioned strains is essential.

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii*, Extended-spectrum beta-lactamase, Metallo- $\beta$ -lactamase, Multidrug resistant

**\* Corresponding Author.**

**Email:** moniri@kaums.ac.ir

**Tel:** 0098 913 361 2636

**Fax:** 0098 31 5554 1112

**Conflict of Interests: No**

*Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2016; Vol. 20, No 1, Pages 49-56*

**Please cite this article as:** Bagheri-Joshegani S, Moniri R, Firoozeh F, Sehhat M, Ghenaat Ghamsari E. Emergence of multidrug resistant, extended-spectrum  $\beta$ -lactamase and metallo- $\beta$ -lactamase strain of *Acinetobacter baumannii* in ICU ward of Kashan Beheshti Hospital during 2013-14. *Feyz* 2016; 20(1): 49-56.

# ظهور اسیتو باکتر بومانی مقاوم به چند دارو، مولد بتالاکتاماز و سیع الطیف و متالوبتاالاکتاماز در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان شهید بهشتی کاشان طی سال‌های

۱۳۹۲-۹۳

ساره باقری جوشقانی<sup>۱</sup> ، رضوان منیری<sup>۲</sup> ، فرزانه فیروزه<sup>۳</sup> ، مجتبی صحت<sup>۴</sup> ، الهام قناعت قمصی<sup>۵</sup>

## خلاصه:

سابقه و هدف: اسیتو باکتر بومانی یکی از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زای ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی به‌خصوص در بخش مراقبت‌های ویژه است که دارای مقاومت ذاتی نسبت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تولید بتالاکتاماز (MLB) و متالوبتاالاکتاماز (ESBLs) در ایزوله‌های اسیتو باکتر بومانی جداسده از نمونه‌های لوله تراشه بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان شهید بهشتی کاشان طی سال‌های ۱۳۹۲-۹۳.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مقطعی توصیفی بر روی ۴۰ ایزوله اسیتو باکتر بومانی جداسده از بیمارستان شهید بهشتی انجام گرفت. الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی نسبت به ۱۷ عامل ضد میکروبی، با روش دیسک دیفیوژن طبق معیار CLSI انجام پذیرفت. ایزوله‌های مولد (ESBLs) و MLB (MLB) توسط تست Double Disk Diffusion تأیید گردیدند. تشخیص ژن blaOXA-51 برای تایید اسیتو باکتر بومانی با روش PCR انجام گرفت.

نتایج: از تعداد ۴۰ ایزوله اسیتو باکتر بومانی همه نمونه‌ها به پیراسیلین، پیراسیلین تازو باکتر، سفتازیدیم، سفپیم، سفوتاکسیم، سفتراکسون، مروپن، ایمی‌پنم، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین، تری‌متوپریم سولفوماتکسازول مقاوم بودند. حد در حد ایزوله‌های اسیتو باکتر بومانی مقاوم به چند دارو (MDR) بودند. ۲۶ ایزوله (۵ درصد) ESBL مثبت و ۴۹ ایزوله (۶۵ درصد) MLB مثبت بودند.

تمامی ایزوله‌ها از نظر حضور ژن blaOXA-51 مثبت بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که فراوانی اسیتو باکتر بومانی مقاوم به چند دارو در بیمارستان شهید بهشتی کاشان بالا است. از آنجایی که ژن‌های مقاومت بر روی عناصر متحرک قرار دارند، شناسایی سریع این سویه‌ها جهت جلوگیری از انتشار بعدی این میکروب، ضروری می‌باشد.

وازگان کلیدی: اسیتو باکتر بومانی، بتالاکتاماز و سیع الطیف، متالوبتاالاکتاماز، مقاوم به چند دارو

دو ماهانه علمی-پژوهشی فیض، دوره بیست، شماره ۱، فوردهن و اردیبهشت ۱۳۹۵، صفحات ۵۶-۴۹

این پنومونی با عوارض جدی همراه است و به دنبال افزایش طول مدت بستری در ICU و استفاده مداوم از دستگاه تهویه مصنوعی ایجاد می‌شود [۱]. در این پنومونی عامل عفونی از لوله تراشه به داخل برونش‌ها آسپیره شده و به دنبال آن تکثیر و تهاجم باکتری‌ها در پارانشیم ریه ایجاد می‌گردد. در چند دهه اخیر اسیتو باکتر بومانی، از مهم‌ترین عوامل جدی عفونت‌های بیمارستانی از قبیل عفونت‌های ادراری، باکتریمی، عفونت پس از عمل جراحی، و پنومونی ایجاد شده به دنبال ونتیلاسیون (VAP) Ventilator Associated Pneumonia است [۲]. بیمارانی که از دستگاه تهویه مصنوعی، کاتر وریدی و ادراری استفاده نموده و آنها بیکه تحت عمل جراحی قرار گرفته‌اند، بیشتر در معرض عفونت با این باکتری قرار دارند [۳]. متأسفانه به دلیل مصرف بی‌رویه این آنتی‌بیوتیک‌ها شیوع سویه‌های مقاوم چند دارویی در سال‌های اخیر در حال افزایش است [۴]. تشخیص سریع این باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها به منظور کنترل و جلوگیری از انتشار سویه‌های مقاوم به داروها در مراکز درمانی و همچنین کمک به پزشکان جهت

## مقدمه

پنومونی یکی از مهم‌ترین عفونت‌های بیمارستانی ایجاد شده ناشی از لوله تراشه و تهویه مکانیکی است. پنومونی بیمارستانی ناشی از عوامل عفونی حداقل ۴۸ ساعت بعد از بستری شدن در بیمارستان ایجاد می‌شود و از مشکلات جدی و پرهزینه در بیمارستان‌ها است.

دانشجویی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۲ استاد، مرکز تحقیقات علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی کاشان  
۳ استادیار، گروه میکروب شناسی و اینمولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۴ استادیار، مرکز تحقیقات ترومما، بیمارستان شهید بهشتی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان  
۵ دانشجویی کارشناسی علوم آزمایشگاهی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

## \*نشانی نویسنده مسئول:

کاشان، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی و اینمولوژی  
تلفن: ۰۳۱ ۵۵۵۴۱۱۱۲، دورنیوس: ۹۱۲۳۶۱۲۶۳۶

پست الکترونیک: moniri@kaums.ac.ir

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۴/۸/۲۰، تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۲۳

متابالاکتامازها برای فعالیت کاتالیتیکی خود نیاز به کوفاکتور فلزی روی دارند که توسط EDTA مهار می‌شوند. ژن‌های کلاس blaOXA24 از خانواده D-سرین بتالاکتاماز شامل blaOXA23، blaOXA51 و blaOXA58 بوده که دارای فعالیت هیدرولیز کاربپن می‌باشند. در میان این چهار گروه اصلی ژن blaOXA-51 با توجه به مطالعات مختلف در سویه‌های اسیتوپاکتر بیومانی به طور ذاتی وجود دارد و می‌تواند روش سریع برای تشخیص اسیتوپاکتر بیومانی باشد [۱۲]. انتقال ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی اسیتوپاکتر بیومانی از طریق کروموزومی، پلاسمیدها و ترانسپوزن‌ها انجام می‌پذیرد. با افزایش و ظهور این سویه‌های مقاوم، درمان عفونت‌های ناشی از اسیتوپاکتر به عنوان مشکل مهم بهداشتی در بسیاری از کشورها مورد توجه است [۱۳]. با توجه به عدم آگاهی نسبت به شیوه عفونت اسیتوپاکتر بیومانی در بخش مراقبت‌های ویژه در بیمارستان شهید بهشتی کاشان و به منظور تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی، تولید آنزیم بتالاکتاماز‌های وسیع الطیف (ESBLs) و متالوبالتاکتاماز (MBL) در ایزوله‌های اسیتوپاکتر بیومانی جدا شده از نمونه‌های لوله تراشه بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان شهید بهشتی کاشان طی سال‌های ۱۳۹۲-۹۳ انجام پذیرفت.

## مواد و روش‌ها

جامعه مورد بررسی و نمونه‌ها:

این مطالعه مقطعی توصیفی طی یک دوره شش ماهه از آبان ۱۳۹۲ تا فروردین ۱۳۹۳ انجام گرفت. نمونه‌های جمع‌آوری شده بعد از کشت در محیط Trypticase soy broth (TSB) به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پزشکی کاشان منتقل شده و ایزوله‌ها با تست‌های بیوشیمیایی استاندارد مورد تأیید قرار گرفت. تعداد ۴۰ سویه اسیتوپاکتر بیومانی از ترشحات لوله تراشه بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان آموزشی شهید بهشتی کاشان جدا گردید.

## کشت و جدا سازی:

نمونه‌ها در محیط مک‌کانکی و بلاد آگار کشت داده شده، سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. در صورت مشاهده رشد، پس از رنگ‌آمیزی گرم و مشاهده کوکسی و کوکوباسیل گرم منفی با تست اکسیداز تایید شدند. در مرحله بعد نمونه‌های اکسیداز منفی با استفاده از API شدند. در مرحله بعد نمونه‌های اکسیداز منفی با استفاده از Microgen Bioproducts Co.UK (Microgen Bioproducts Co.UK) تعیین هویت شدند.

انتخاب آنتی بیوتیک مناسب جهت درمان بیماران حائز اهمیت می‌باشد [۵]. در مطالعه‌ای که بین سال‌های ۲۰۰۴ تا ۲۰۰۳ در یک بیمارستان در ایتالیا صورت گرفت نشان داده شد که ۵۹ درصد ایزوله‌های اسیتوپاکتر جدا شده، اسیتوپاکتر بیومانی مقاوم به چند دارو (MDR) بوده‌اند، به طوری که به همه عوامل آمینوگلیکوژیدها و کاربپن‌ها مقاوم بوده‌اند [۶]. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۶ در فرانسه در یک اپیدمی ایزوله‌های آنتی بیوتیک صورت گرفته، نشان داده شد که ۲۶ درصد مرگ و میر ناشی از این سویه بوده است. در مقایسه‌ای که بین این سویه و یک سویه حساس به آنتی بیوتیک صورت گرفت، مشخص شد که سویه MDR در یک ناحیه ژئومی ۸۶kb چندین ژن مقاومت را هم‌زمان حمل می‌کند که همین امر باعث مقاومت این سویه نسبت به چندین خانواده آنتی بیوتیک شده که سبب ایجاد مشکل درمانی و محدود شدن انتخاب آنتی بیوتیک مناسب در درمان بیماران در آن کشور شده است [۷]. ۱۰۰ درصد از ایزوله‌های اسیتوپاکتر بیومانی مورد بررسی در مطالعه‌ای که توسط بازرگانی و همکاران در سال ۲۰۱۰ در شیراز انجام داده شد فنوتیپ مقاومت به چند دارو را دارا بودند [۸]. در مطالعه‌ای که فراهانی و همکاران او در سال ۱۳۸۶ روی نمونه‌های اسیتوپاکتر انجام دادند میزان سویه‌های MDR ۱۵ درصد گزارش شده است [۹]. انتقال افقی اینتگرین‌ها موفق‌ترین راه انتشار ژن‌های مقاومت و پیدایش گونه‌هایی با مقاومت چندگانه است. یکی از عوامل مهم ایجاد کننده مقاومت چند دارویی در جنس اسیتوپاکتر در محیط بیمارستان در پاسخ به افزایش فشار آنتی بیوتیکی ایجاد شده است. بنابراین کنترل مصرف آنتی بیوتیک یک نقش مهم در جهت جلوگیری از ظهور عفونت اسیتوپاکتر دارا می‌باشد. سویه‌های مقاوم اسیتوپاکتر بیومانی در بیمارستان‌ها باعث پیامدهای نامطلوب می‌شود؛ این سویه‌های مقاوم به چند دارو به سرعت در بین بیماران بستری در بیمارستان در حال گسترش می‌باشند [۱۰]. مکانیسم‌های مقاومت اسیتوپاکتر بیومانی شامل تولید بتالاکتامازها، پمپ‌های ترشحی و تغییرات غشای خارجی می‌باشد. مکانیسم مقاومت به بتالاکتام در اسیتوپاکتر بیومانی تجزیه آنزیمی توسط بتالاکتامازها می‌باشد. آنزیم‌های بتالاکتاماز بر اساس ساختمان اولیه‌شان به چهار دسته (A تا D) تقسیم‌بندی می‌شوند که آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف جزء گروه A بوده و موجب هیدرولیز سفالوسپورین‌های نسل اول، دوم، سوم و مونوباتام‌ها شده، اما توسط مهارکننده بتالاکتامازها از جمله کلاروینیک اسید مهار می‌شوند [۱۱]. متالوبالتاکتامازها جزء گروه B بتالاکتامازها هستند. متالوبالتاکتامازها توانایی غیرفعال کردن تمامی آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام به جز مونوباتام را دارند.

۵'-TGGATTGCACCTCATCTGG-3' از شرکت بایونیر کشور کره تهیه شد [۱۶]. آزمون در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر با استفاده از Taq PCR Master Mix (از شرکت بایونیر کره)، ۱۰ پیکومول از هر پرایمر، ۱ میکرولیتر از DNA الگو تحت شرایط زیر با استفاده از دستگاه ترمال سیکلر (اپندورف آلمان) انجام شد: دناتوراسیون اولیه (۹۴ درجه به مدت ۵ دقیقه)، ۳۰ سیکل حرارتی شامل دناتوراسیون (۹۴ درجه به مدت ۲۵ ثانیه)، ۳۰ اتصال پرایمر (۴۰ درجه به مدت ۵۳ ثانیه) و تکثیر (۷۲ درجه به مدت ۶ دقیقه) ۵۰ ثانیه) و در نهایت تکثیر نهایی (۷۲ درجه به مدت ۶ دقیقه) ۱۶]. پس از انجام آزمون، محصول PCR در ژل آگاروز ۱ درصد الکتروفورز شد و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید تحت اشعه UV عکس برداری گردید. در این آزمون از سویه استاندارد /سیتوباکتر بومانی ATCC 19606 به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر به عنوان کنترل منفی استفاده شد [۱۴]. محصول PCR جهت تایید از نظر حضور ژن برای ترادف بیانی (Sequencing) به شرکت بایونیر کره ارسال شد. از مارکر ۱۰۰ bp تولید شرکت سیناژن برای شناسایی محصول PCR استفاده شد.

#### تعیین توالی و ترادف DNA و آنالیز داده‌ها:

محصول PCR به دست آمده برای ژن به شرکت تکاپو-زیست برای تعیین توالی فرستاده شد و توالی‌ها با استفاده از نرم-افزار Chromas ویرایش ۱/۷/۵ بررسی شدند.

#### نتایج

تعداد ۴۰ سویه /سیتوباکتر بومانی از نمونه‌های لوله تراشه جدا گردید. متوسط سن افراد مورد مطالعه  $22.62 \pm 8.85$  سال بود. از ۴۰ بیمار مورد مطالعه ۲۱ نفر (۵۲/۵ درصد) مرد بودند. صد درصد سویه‌ها به کلاس سفالوسپورین‌ها، کینولون‌ها و کارباپن‌ها مقاوم بودند و به تراسیکلین ۹۲/۵ درصد، آمپسی-سیلین/سوبلاتام ۹۰ درصد، آمیکاسین و جنتامایسین ۸۷/۵ و ۸۵ درصد مقاومت نشان دادند و تمامی سویه‌ها به کلیستین و پلی-میکسین حساس بودند (نمودار شماره ۱). صد درصد سویه‌های /سیتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو (MDR) بودند. سویه‌های /سیتوباکتر بومانی از نظر مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها تفکیک شدند؛ به طوری که ۲۸ سویه (۷۰ درصد) به ۱۵ آنتی بیوتیک و ۱۲ سویه (۳۰ درصد) به ۱۳ و ۱۴ آنتی بیوتیک مورد آزمایش مقاوم بودند. دو سویه (۵ درصد) و ۲۶ سویه (۶۵ درصد) به ترتیب تولید آنزیم بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) و متالوبتاکتاماژ (MBL) مثبت بودند. تمامی ایزوله‌ها از نظر حضور ژن blaOXA-51 مثبت بودند.

#### بررسی حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله‌ها:

بر روی سویه‌های /سیتوباکتر بومانی جدا شده تست حساسیت آنتی بیوتیکی با ۱۷ دیسک آنتی بیوتیک پیپراسیلین- (۱۰۰ µg)، آمپسی-سیلین/سوبلاتام (۱۰/۱۰ µg)، پیپراسیلین- /تازوبلاتام (۱۰۰/۱۰ µg)، سفتازیدیم (۳۰ µg)، سفپیم (۳۰ µg)، سفوتاکسیم (۳۰ µg)، سفتریاکسون (۳۰ µg)، مروپن (۱۰ µg)، ایمی-پن (۱۰ µg)، آمیکاسین (۳۰ µg)، جنتامایسین (۱۰ µg)، لووفلوكسازین (۵ µg)، سپروفلوكسازین (۵ µg)، تراسیکلین (۱/۲۵/۲۳/۷۵ µg)، تری متیوبریم سولفوماتاکسازول (۳۰۰ Unit) از شرکت Mast کلیستین (۱۰ µg)، پلی میکسین (۱۰ µg) از انگلیس به روش دیسک دیفیوژن طبق معیار CLSI (موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی) انجام پذیرفت. اشرشیا کلیسی ATCC 25922 به عنوان کنترل کیفی مورد استفاده قرار گرفت. سویه‌های مقاوم به حداقل سه کلاس آنتی بیوتیک (کارباپن‌ها، فلوروکوئینولون‌ها، پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها، مونوباکتام‌ها و آمینوگلیکوژیدها به عنوان سویه‌های مقاوم به چند دارو در نظر گرفته شدند [۱۴].

#### تعیین ESBL با روش Double-disk-diffusion Test:

جهت انجام این تست، باکتری‌ها بر روی محیط مولر هیتون کشت داده شده و دیسک سفوتاکسیم (۳۰ µg) در مقابل دیسک ترکیبی سفوتاکسیم - کلاوونیک اسید (۳۰ µg+۱۰ µg) آن قرار داده شد. افزایش قطر هاله مهاری بیش از ۵ میلی‌متر در اطراف دیسک حاوی اسید کلاوونیک به عنوان سویه مولد ESBL تعیین شد [۱۵].

#### تعیین MBL با روش Double-disk-diffusion Test:

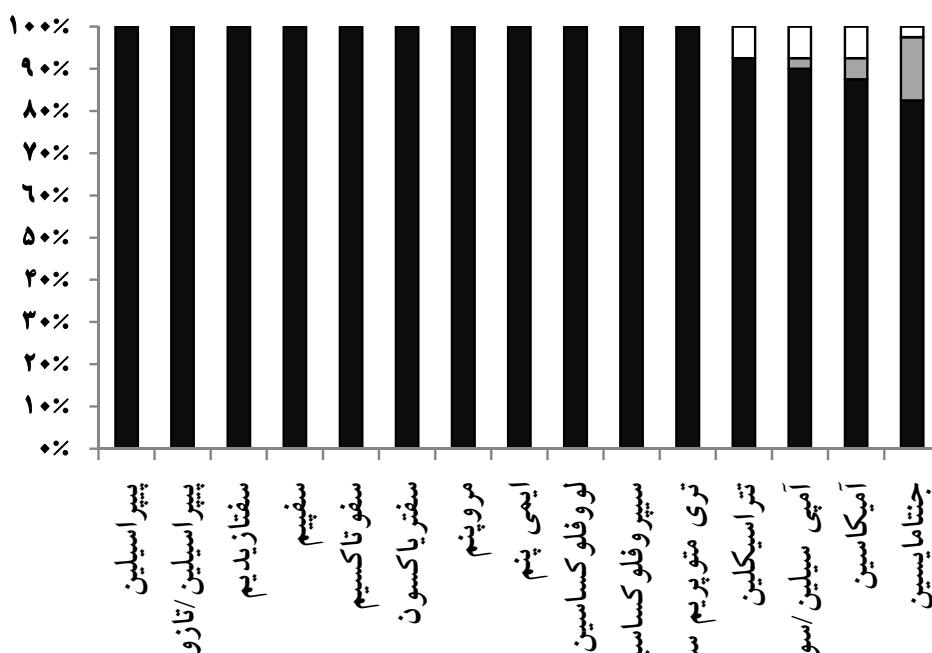
جهت انجام این تست، باکتری‌ها بر روی محیط مولر هیتون کشت داده شده و دیسک ایمی-پن (۳۰ µg) در مقابل دیسک ترکیبی ایمی-پن (۳۰ µg) EDTA (750 µg/disk) در مقابل دیسک ایمی-پن (۳۰ µg) EDTA نسبت به دیسک ایمی-پن به تنها یک به عنوان سویه MBL در نظر گرفته شد [۱۵].

#### تکثیر ژن blaOXA-51 به روش PCR:

در این مطالعه پس از تشخیص /سیتوباکتر بومانی با روش بیوشیمیابی برای تائید از ژن blaOXA-51 که اختصاص به گونه /سیتوباکتر بومانی دارد به روش PCR تعیین و استخراج ژن با روش boiling انجام پذیرفت. پرایمر مورد استفاده (353 bp) ۵'-TAATGCTTGATCGGCCTTG-3'

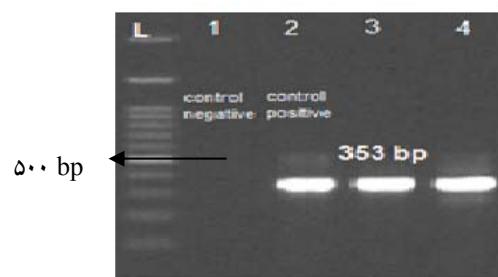
شماره ۱). نتایج ترادف یابی نیز حضور ژن مورد نظر را تایید کردند.

مثبت بودند که نشان از تایید حضور اسیتوپاکتر بومانی است (شکل



نمودار شماره ۱- توزیع درصد فراوانی الگوی مقاومت و حساسیت آنتی بیوتیکی در ۴۰ ایزوله/اسیتوپاکتر بومانی جدا شده از نمونه لوله تراشه بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان شهدید بهشتی کاشان

سال ۱۳۸۶ روی نمونه‌های اسیتوپاکتر جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان شهدید بهشتی کاشان ایزوله‌های MDR ۱۵ درصد گزارش گردید [۱۸] که با نتایج این تحقیق مطابقت نداشت. این افزایش قابل توجه ممکن است ناشی از تفاوت در نمونه‌های بالینی مورد بررسی، زمان انجام مطالعه، تنوع در الگوی مصرف آنتی بیوتیک‌های مصرفی و عدم به کارگیری ابزارهای مناسب کنترل عفونت بیمارستان در سال‌های اخیر بوده که منجر به ظهور و انتشار باکتری‌های MDR در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان شده است. در این مطالعه بیشترین مقاومت به سفالوسپورین‌ها، کینولون‌ها و کارباپن‌ها مشاهده شد. با توجه به اینکه کارباپن‌ها داروهای انتخابی جهت درمان بیماران آلوده به ایزوله‌های اسیتوپاکتر بومانی با مقاومت دارویی چندگانه هستند، لذا آمار بالای مقاومت نسبت به این داروها نگران کننده بوده و نشان از محدود شدن گزینه‌های درمانی است [۱۶]. در مطالعه کاشان در سال ۸۶ مقاومت به ایمی‌پن ۲۵ درصد گزارش شده [۱۸] و در مطالعه حاضر مقاومت به ایمی‌پن ۱۰۰ درصد بود. از آنجایی که تمامی بیماران مورد مطالعه سابقه تجویز مصرف داروهای کارباپن را داشتند، یکی از دلایل افزایش مقاومت می‌تواند مصرف بی‌رویه این آنتی بیوتیک بدون توجه به نتایج آنتی بیوگرام در بیماران آلوده به اسیتوپاکتر باشد. سایر محققین در ایران مقاومت کارباپن را از



شکل شماره ۱- نتایج PCR ژن blaOXA51 سویه‌های اسیتوپاکتر بومانی جدا شده از نمونه لوله تراشه بیماران بستری در بیمارستان بهشتی کاشان

ستون‌های شماره ۳ و ۴ محصولات PCR مثبت ژن با اندازه ۳۵۳ bp هستند. باندهای شماره ۲ کنترل مثبت و باند شماره ۱ کنترل منفی است. چاکر L مارکر (ladder) ۱۰۰ bp است.

## بحث

اسیتوپاکتر بومانی MDR از مهم‌ترین عوامل خطر عفونت بیمارستانی بهشمار می‌آید [۱۲]. در این مطالعه شیوع اسیتوپاکتر بومانی MDR ۱۰۰ درصد بود؛ بدین صورت که به بتالاکتام‌های وسیع الطیف، فلورکینولون‌ها و آمینوگلیکوزیدها هم‌زمان مقاوم بودند. در مطالعه میرنژاد و همکاران در سال ۱۳۹۰ فنوتیپ مقاومت به چند دارو در ایزوله‌های اسیتوپاکتر بومانی ۸۲ درصد گزارش گردیده است [۱۷]. در مطالعه منیری و همکاران در

است. در سال ۱۹۹۸ Pino و همکارانش در فرانسه گزارش کردند که ۱۰ درصد ایزوله‌های اسیتو باکتر بومانی جدا شده از نمونه‌های بیماران بستری در چندین بیمارستان، متالوبتالاکتاماز مثبت بودند [۱۵]. در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۸۹ توسط پیمانی و همکاران در تبریز انجام شد، ۴۹ درصد از اسیتو باکتر بومانی‌های جدا شده از نمونه‌های کلینیکی متالوبتالاکتاماز تولید می‌کردند [۳۲]. در سال ۲۰۱۰ انور و همکاران گزارش نمودند که ۴۴/۸ درصد ایزوله‌های اسیتو باکتر بومانی جدا شده از نمونه‌های بیماران بستری در بیمارستان بنگلادش، متالوبتالاکتاماز مثبت بودند [۳۳]. به نظر می‌رسد افزایش این نوع مقاومت به دلیل تجویز بیش از اندازه ایمی-پن برای درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری باشد. در مطالعه ما ۵ درصد سویه‌ها ESBL مثبت بودند. در مطالعه اولیا و همکاران در سال ۲۰۱۱ در تهران میزان ESBL را در ایزوله‌های اسیتو باکتر بومانی جدا شده از بیماران سوختگی ۲۱ درصد گزارش کردند [۱۵]. این تفاوت‌ها ممکن است به دلیل الگوی مصرفی آنتی بیوتیک، روش مورد استفاده و نمونه‌های مختلف و تغییراتی که در سویه‌های باکتری ممکن است ایجاد شود، باشد [۱۸]. ژن‌های OXA تایپ از خانواده D-سرین بتالاکتاماز دارای فعالیت هیدرولیز کارباپن بوده و مقاومت به کارباپن‌ها از طریق این ژن‌ها صورت می‌گیرد [۱۳]. در این مطالعه میزان ژن blaOXA51 در بین تمامی سویه‌های اسیتو باکتر بومانی مشاهده شد. بروز این ژن از ایران و سایر نقاط جهان با شیوع بالا گزارش گردیده است. Turton و همکاران در سال ۲۰۰۶ [۱۳]، Walsh و همکاران در سال ۲۰۱۰ [۳۴]، Zavascki و همکاران در سال ۲۰۱۰ [۳۵] مروت و همکاران در تهران در سال ۲۰۰۹ [۳۶] و سهیابی و همکاران در بررسی ای که در سال ۲۰۱۲ در شمال ایران انجام دادند، این ژن را گزارش کردند [۳۷]. این مطالعه همانند سایر مطالعات تائید کرد که شناسایی ژن blaOXA51 می‌تواند راه ساده‌ای برای تشخیص اسیتو باکتر بومانی باشد. ژن مذکور بر روی ترانسپوزون، پلاسمید و یا ایتنگرون واقع شده است و چون این ساختارها به راحتی می‌توانند جایه‌جا شوند سبب انتشار جهانی آن گردیده است [۱۳].

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که صد درصد ایزوله‌های اسیتو باکتر بومانی جدا شده از لوله تراشه بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان مقاوم به چند دارو و مقاوم به کارباپن بودند که این مسئله زنگ خطری جدی در بیمارستان می‌باشد. لذا، لزوم توجه به معیارهای کنترل عفونت‌های بیمارستانی موثری نظیر

۲۵ تا ۹۷/۷ درصد گزارش کرده‌اند [۱۸-۲۵]. در سایر نقاط جهان نیز میزان مقاومت به کارباپن گزارش شده است. در مطالعه Hujer و همکاران بر روی سویه‌های اسیتو باکتر بومانی جدا شده از نمونه‌های کلینیکی بیماران در سال ۲۰۰۵ [۲۰] درصد سویه‌ها مقاوم بوده‌اند [۲۶]. در حالی که در مطالعه حاضر ۱۰۰ درصد از اسیتو باکترهای ایزوله شده نسبت به ایمی پن مقاومت نشان دادند. اختلاف مشاهده شده در نتایج می‌تواند به دلیل تفاوت در پروتکل درمانی استفاده شده در دو کشور باشد. مقاومت به کارباپن‌ها در مصر ۷۰ درصد [۲۷]؛ در عربستان سعودی ۳۲/۶ درصد [۲۸]، و در نیجریه ۶۴/۳ درصد گزارش شده است [۲۹]. به طور کلی بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق و سایر مطالعات، به دلیل تفاوت در سطح کیفی برنامه‌های حساسیت ضد میکروبی، الگوی مصرفی آنتی بیوتیکی، موقعیت جغرافیایی و عوامل محیطی، مقاومت ضد میکروبی متفاوت در بین سویه‌های اسیتو باکتر بومانی در هر کشور و یا مناطق جغرافیایی مختلف و حتی بیمارستان‌های مختلف یک کشور وجود دارد و از طرف دیگر این الگوهای مقاومتی به طور دائم در حال تغییر می‌باشد که باید مورد توجه قرار گیرد [۲۶]. در این مطالعه تمامی سویه‌های اسیتو باکتر بومانی به پلی میکسین و کلیستین حساسیت داشتند که این یافته‌ها با مطالعات قبلی مطابقت دارد. در مطالعات سایر کشورها میزان حساسیت به کلیستین در الجزایر ۱۰۰ درصد، در عربستان سعودی ۷۰/۹ درصد، و در کویت ۹۲/۵ درصد گزارش شده است [۳۰]. در یک مطالعه که توسط مهاجرانی و همکاران در سال ۲۰۱۱ در غرب ایران انجام شد میزان حساسیت به کلیستین و پلی میکسین ۸۹/۴ و ۸۶/۵ درصد گزارش شده است [۲۰]. هم‌چنین، در بررسی شاهجهانی و همکارانش ۹۵/۸ درصد سویه‌های اسیتو باکتر به کلیستین حساس بودند [۳۱]. دلیل احتمالی حساس بودن نسبت به این آنتی بیوتیک‌ها، تجویز کم این دو آنتی بیوتیک در دوره اخیر بوده است. لذا، به نظر می‌رسد کلیستین و پلی میکسین تنها انتخاب آنتی بیوتیکی در درمان این عفونت‌ها بوده، می‌تواند به صورت ترکیبی با سایر آنتی بیوتیک‌ها استفاده گردد [۲۶]. بنابراین، بررسی میزان مقاومت ایزوله‌های اسیتو باکتر بومانی در این تحقیق، اطلاعات کافی برای پژوهشکاران در زمینه دست‌یابی به روش‌های اسیتو باکتر بومانی را به همراه عفونت‌های ناشی از ایزوله‌های اسیتو باکتر بومانی را به همراه خواهد داشت. مقاومت به کارباپن‌ها به دلیل تولید دو بتالاکتاماز (متالوبتالاکتاماز و بتالاکتاماز هیدرولیز کننده کارباپن کلاس (D) می‌باشد [۱۲]. در مطالعه حاضر ۶۵ درصد از ایزوله‌های اسیتو باکتر بومانی مورد بررسی دارای آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز بودند که حاکی از گسترش شیوع این نوع مقاومت در این منطقه

معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان می‌باشد.  
پژوهشگران از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم  
پزشکی کاشان، گروه محترم میکروب شناسی و پرستل بیمارستان  
شهید بهشتی کاشان به ویژه آقای حسن کوشان که در پیش‌برد این  
تحقیق یاری ارزنده و سودمند داشته‌اند، قدردانی به عمل می‌آورند.

شناسایی بیماران آلوده، یافتن منبع کولونیزاسیون باکتری و کنترل  
صرف آنتی بیوتیک در بیمارستان را باید به کار برد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه مقطع کارشناسی  
ارشد میکروب شناسی و طرح تحقیقاتی شماره ۹۲۱۴۹، مصوب

### References:

- [1] Vincent JL. Nosocomial infections in adult intensive-care units. *Lancet* 2003; 361(9374): 2068-77.
- [2] Aybar Türkoğlu M, Topeli Iskit A. Ventilator-associated pneumonia caused by high risk microorganisms: a matched case-control study. *Tuberk Toraks* 2008; 56(2): 139-49.
- [3] Lambiase A, Rossano F, Piazza O, Del Pezzo M, Catania MR, Tufano R. Typing of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients with VAP in an intensive care unit. *New Microbiol* 2009; 32(3): 277-83.
- [4] Kluytmans-Vandenbergh MF, Kluytmans JA, Voss A. Dutch guideline for preventing nosocomial transmission of highly resistant microorganisms (HRMO). *Infection* 2005; 33(5-6): 309-13.
- [5] Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(10): 3471-84.
- [6] Zarrilli R, Casillo R, Di Popolo A, Tripodi MF, Bagattini M, Cuccurullo S, et al. Molecular epidemiology of a clonal outbreak of multi drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a university hospital in Italy. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13(5): 481-9.
- [7] Roberts MC. Multidrug-resistant genes are associated with an 86-kb island in *Acinetobacter baumannii*. *Trends Microbiol* 2006; 14(9): 375-8.
- [8] Bazargani A, Hashemizadeh Z. Bacteremia due to multidrug-resistant (MDR) and extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Acinetobacter baumannii*. *Afr J Microbiol Res* 2011; 5(21): 3483-6.
- [9] Farahani RK, Moniri R, Dastehgoli K. Multi-Drug Resistant *Acinetobacter*-Derived Cephalosporinase and OXAs-etC Genes in Clinical Specimens of *Acinetobacter* spp. Isolated From Teaching Hospital. *Jundishapur J Microbiol* 2013; 6(2): 181-5.
- [10] Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int J Antimicrob Agents* 2013; 41(1): 11-9.
- [11] Bradford PA. Extended-spectrum β-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14(4): 933-51.
- [12] Evans BA, Hamouda A, Towner KJ, Amyes SG. OXA-51-like β-lactamases and their association with particular epidemic lineages of *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14(3): 268-75.
- [13] Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. *J Clin Microbiol* 2006; 44(8): 2974-6.
- [14] Jorgensen JH, Hindler JF. New consensus guidelines from the Clinical and Laboratory Standards Institute for antimicrobial susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria. *Clin Infect Dis* 2007; 44(2): 280-6.
- [15] Owlia P, Azimi L, Gholami A, Asghari B, Lari AR. ESBL-and MBL-mediated resistance in *Acinetobacter baumannii*: a global threat to burn patients. *Infez Med* 2012; 20(3): 182-7.
- [16] Feizabadi MM, Fathollahzadeh B, Taherikalani M, Rasoolinejad M, Sadeghfard N, Aligholi M, et al. Antimicrobial susceptibility patterns and distribution of blaOXA genes among *Acinetobacter* spp. isolated from patients at Tehran hospitals. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61(4): 274-8.
- [17] Mirnejad R, Mostofi S, Masjedian F. Antibiotic resistance and carriage class 1 and 2 integrons in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from Tehran, Iran. *Asian Pac J Trop Biomed* 2013; 3(2): 140-5.
- [18] Moniri R, Farahani RK, Shajari G, Shirazi MN, Ghasemi A. Molecular epidemiology of aminoglycosides resistance in *acinetobacter* spp. With emergence of multidrug-resistant strains. *Iran J Public Health* 2010; 39(2): 63-8.
- [19] Khosrishi N, Sharifi M. Isolation of carbapenem resistant *acinetobacter baumannii* (crab) strains from patients and equipments of intensive care units (icu's) at qazvin between 2005-2006. *Iran J Med Microbiol* 2007; 1(3): 33-8. [in Persian]
- [20] Mohajeri P, Farahani A, Feizabadi MM, Ketabi H, Abiri R, Najafi F. Antimicrobial Susceptibility Profiling and Genomic Diversity of *Acinetobacter*

- baumannii* isolates: A study in western Iran. *Iran J Microbiol* 2013; 5(3): 195-202.
- [21] Safari M, Saidijam M, Bahador A, Jafari R, Alikhani MY. High Prevalence of Multidrug Resistance and Metallo-beta-lactamase (M $\beta$ L) producing *Acinetobacter baumannii* Isolated from Patients in ICU Wards, Hamadan, Iran. *J Res Health Sci* 2013; 13(2): 162-7.
- [22] Jafari R, Karbasizade V. Frequency and Antimicrobial Susceptibility of *Acinetobacter baumannii* in Burn infections in Isfahan, Iran. *Adv Biore* 2014; 5(2): 148-52.
- [23] Amini M, Davati A, Golestanifard M. Frequency of Nosocomial Infections with Antibiotic Resistant Strains of *Acinetobacter spp.* in ICU Patients. *Iran J Pathol* 2012; 7(4): 241-5.
- [24] Japoni S, Japoni A, Farshad S, Ali AA, Jamalidoust M. Association between existence of integrons and multi-drug resistance in *Acinetobacter* isolated from patients in southern Iran. *Pol J Microbiol* 2011; 60(2): 163-8.
- [25] Talebi-Taher M, Latifnia M, Javad-Moosavai SA, Adabi M, Rastgar Lari A, Fatahi Abdizadeh M, et al. Risk factors and antimicrobial susceptibility in ventilator associated pneumonia: a brief report. *Tehran Univ Med J* 2012; 70(9): 577-82.
- [26] Hujer KM, Hujer AM, Hulten EA, Bajaksouzian S, Adams JM, Donskey CJ, et al. Analysis of antibiotic resistance genes in multidrug-resistant *Acinetobacter sp.* isolates from military and civilian patients treated at the Walter Reed Army Medical Center. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(12): 4114-23.
- [27] Al-Agamy MH, Khalaf NG, Tawfick MM, Shibli AM, Kholy AE. Molecular characterization of carbapenem-insensitive *Acinetobacter baumannii* in Egypt. *Int J Infect Dis* 2014; 22: 49-54.
- [28] Al Johani SM, Akhter J, Balkhy H, El-Saed A, Younan M, Memish Z. Prevalence of antimicrobial resistance among gram-negative isolates in an adult intensive care unit at a tertiary care center in Saudi Arabia. *Ann Saudi Med* 2010; 30(5): 364-9.
- [29] Mordi RM, Erah PO. Susceptibility of common

- urinary isolates to the commonly usedantibiotics in a tertiary hospital in southern Nigeria. *Afr J Biotechnol* 2006; 5(11): 1067-71.
- [30] Al-Agamy MH, Khalaf NG, Tawfick MM, Shibli AM, El KholyA. Molecular characterization of carbapenem-insensitive *Acinetobacte rbaumannii* in Egypt. *Int J Infect Dis* 2014; 22: 49-54.
- [31] Shahcheraghi F, Akbari Shahmirzadi N, Abbas Alipour Bashash M, Jabbari H, Amir Mozafari N. Detection of *blaCTX*, *blaTEM* beta-lactamase genes in clinical isolates of *acinetobacter spp.* from selected Tehran hospitals. *Iran J Med Microbiol* 2009; 3(1): 1-9. [in Persian]
- [32] Peymani A, Farajnia S, Mohammad R, Nasrollah sohrabi L, Abbasi KA, Azhari F. Prevalence of class 1 integron among multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in Tabriz, Northwest of Iran. *Pol J Microbiol* 2012; 61(1): 57-60.
- [33] Anwar S, Amin R. Phenotype detection of metallo – beta – lactamase among the imipenem resistant *psudomonas* and *asintobacter* in the tertiary care hospitals of Dhaka city. *BMC proc* 2011; 5 Suppl 1: 92
- [34] Walsh TR. Emerging carbapenemases: a global perspective. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 36 Suppl 3: S8-14.
- [35] Zavacska AP, Carvalhaes CG, Picao RC, Gales AC. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010; 8(1): 71-93.
- [36] Taherikalani M, Fatolahzadeh B, Emaneini M, Soroush S, Feizabadi MM. Distribution of different carbapenem resistant clones of *Acinetobacter baumannii* in Tehran hospitals. *New Microbiol* 2009; 32(3): 265.
- [37] Sohrabi N, Farajnia S, Akhi MT, Nahaei MR, Naghili B, Peymani A, et al. Prevalence of OXA-Type  $\beta$ -Lactamases Among *Acinetobacter baumannii* Isolates from Northwest of Iran. *Micr Drug Resist* 2012; 18(4): 385-9