

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

Bagheri-Josheghani S¹, Moniri R^{2*}, Firoozeh F³, Sehat M⁴, Ghenaat Ghamsari E¹

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 β -lactamase (ESBL) and metallo- β -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 CLSIs guidelines. ESBL and MBL producing isolates were confirmed by double-disk diffusion test. The presence of *bla*OXA51 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 *bla*OXA.51 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- β -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-Josheghani S, Moniri R, Firoozeh F, Sehat M, Ghenaat Ghamsari E. Emergence of multidrug resistant, extended-spectrum β -lactamase and metallo- β -lactamase strain of *Acinetobacter baumannii* in ICU ward of Kashan Beheshti Hospital during 2013-14. *Feyz* 2016; 20(1): 49-56.

ظهور اسینتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو، مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف و متالوبتالاکتاماز در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان شهید بهشتی کاشان طی سال‌های ۹۳-۱۳۹۲

ساره باقری جوشقانی^۱، رضوان منیری^{۲*}، فرزانه فیروزه^۳، مجتبی صحت^۴، الهام قناعت قمصری^۵

خلاصه:

سابقه و هدف: اسینتوباکتر 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 بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs) و متالوبتالاکتاماز (MBL) در ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از نمونه‌های لوله تراشه بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان شهید بهشتی کاشان طی سال‌های ۹۳-۱۳۹۲ بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مقطعی توصیفی بر روی ۴۰ ایزوله اسینتوباکتر بومانی جدا شده 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 (MBL) توسط تست Double Disk Diffusion تأیید گردیدند. تشخیص *blaOXA-51* برای تأیید اسینتوباکتر بومانی با روش PCR انجام گرفت.

نتایج: از تعداد ۴۰ ایزوله اسینتوباکتر بومانی همه نمونه‌ها به پیراسیلین، پیراسیلین تازوباکتام، سفنازیدیم، سفپیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون، مروپنم، ایمپنم، سیپروفلوکساسین، لوفلوکساسین، تری متوپریم سولفومتاکسازول مقاوم بودند. صد در صد ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو (MDR) بودند. ۲ ایزوله (۵ درصد) ESBL مثبت و ۲۶ ایزوله (۶۵ درصد) MBL مثبت بودند. تمامی ایزوله‌ها از نظر حضور ژن *blaOXA-51* مثبت بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که فراوانی اسینتوباکتر 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.

واژگان کلیدی: اسینتوباکتر بومانی، بتالاکتاماز وسیع‌الطیف، متالوبتالاکتاماز، مقاوم به چند دارو

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیستم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۵، صفحات ۴۹-۵۶

مقدمه

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 اسینتوباکتر بومانی، از مهم‌ترین عوامل جدی عفونت‌های بیمارستانی از قبیل عفونت‌های ادراری، باکتری، 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 آنهایی که تحت عمل جراحی قرار گرفته‌اند، بیشتر در معرض عفونت با این باکتری قرار دارند [۳]. متأسفانه به دلیل مصرف بی‌رویه این آنتی-بیوتیک‌ها 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

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.

^۱ دانشجوی 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 ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

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

*نشانی نویسنده مسئول:

کاشان، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، دانشکده پزشکی، گروه میکروب‌شناسی و ایمنولوژی

دوره‌نویس: ۰۳۱ ۵۵۵۴۱۱۱۲

تلفن: ۰۹۱۲۳۶۱۲۶۳۶

پست الکترونیکی: moniri@kaums.ac.ir

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۴/۸/۲۰

تاریخ دریافت: ۹۳/۱/۲۳

متابلاتاکتامازها برای فعالیت کاتالیتیکی خود نیاز به کوفاکتور فلزی روی دارند که توسط EDTA مهار می‌شوند. ژن‌های کلاس OXA از خانواده D-سیرین بتالاتاکتاماز شامل *blaOXA23*، *blaOXA51* و *blaOXA58* دارای فعالیت هیدرولیز کارباپنم می‌باشند. در میان این چهار گروه اصلی ژن *blaOXA-51* با توجه به مطالعات مختلف در سویه‌های اسیتوباکتر بومانی به‌طور ذاتی وجود دارد و می‌تواند روش سریع برای تشخیص اسیتوباکتر بومانی باشد [۱۲]. انتقال ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی اسیتوباکتر بومانی از طریق کروموزومی، پلاسمیدها و ترانسپوزن‌ها انجام می‌پذیرد. با افزایش و ظهور این سویه‌های مقاوم، درمان عفونت‌های ناشی از اسیتوباکتر به‌عنوان مشکل مهم بهداشتی در بسیاری از کشورها مورد توجه است [۱۳]. با توجه به عدم آگاهی نسبت به شیوع عفونت اسیتوباکتر بومانی در بخش مراقبت‌های ویژه در بیمارستان شهید بهشتی کاشان و به‌منظور تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی، تولید آنزیم بتالاتاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs) و متالوبتالاتاکتاماز (MBL) در ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی جدا شده از نمونه‌های لوله تراشه بیمارستان بستری در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان شهید بهشتی کاشان طی سال‌های ۹۳-۱۳۹۲ 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 میکروبی شناسی دانشکده پزشکی کاشان منتقل شده و ایزوله‌ها با تست‌های بیوشیمیایی استاندارد مورد تأیید قرار گرفت. تعداد ۴۰ سویه اسیتوباکتر بومانی از ترشحات لوله تراشه بیمارستان 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 ۴۸-۲۴ 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 تهیه شده از (Microgen Bioproducts Co.UK) تعیین هویت شدند.

انتخاب آنتی بیوتیک مناسب جهت درمان بیماران حائز اهمیت می‌باشد [۵]. در مطالعه‌ای که بین سال‌های ۲۰۰۳ تا ۲۰۰۴ در یک بیمارستان در ایتالیا صورت گرفت نشان داده شد که ۵۹ درصد ایزوله‌های اسیتوباکتر جدا شده، اسیتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو (MDR) بوده‌اند، به‌طوری‌که به همه عوامل آمینوگلیکوزیدها و کارباپنم‌ها مقاوم بوده‌اند [۶]. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۶ در فرانسه در یک اپیدمی ناشی از یک سویه اسیتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو صورت گرفته، نشان داده شد که ۲۶ درصد مرگ‌ومیر ناشی از این سویه بوده است. در مقایسه‌ای که بین این سویه و یک سویه حساس به آنتی‌بیوتیک صورت گرفت، مشخص شد که سویه MDR در یک ناحیه ژنومی ۸۶kb چندین ژن مقاومت را هم‌زمان حمل می‌کند که همین امر باعث مقاومت این سویه نسبت به چندین خانواده آنتی‌بیوتیکی شده که سبب ایجاد مشکل درمانی و محدود شدن انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب در درمان بیماران در آن کشور شده است [۷]. ۱۰۰ درصد از ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی 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 اسیتوباکتر انجام دادند میزان سویه‌های MDR ۱۵ درصد گزارش شده است [۹]. انتقال افقی اینتگران‌ها موفق‌ترین راه انتشار ژن‌های مقاومت و پیدایش گونه‌هایی با مقاومت چندگانه است. یکی از عوامل مهم ایجادکننده مقاومت چند دارویی در جنس اسیتوباکتر 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 اسیتوباکتر دارا می‌باشد. سویه‌های مقاوم اسیتوباکتر بومانی در بیمارستان‌ها باعث پیامدهای نامطلوب می‌شود؛ این سویه‌های مقاوم به چند دارو به‌سرعت در بین بیماران بستری در بیمارستان درحال گسترش می‌باشند [۱۰]. مکانیسم‌های مقاومت اسیتوباکتر بومانی شامل تولید بتالاتاکتامازها، پمپ‌های ترشحی و تغییرات غشای خارجی می‌باشد. مکانیسم مقاومت به بتالاتاکتام در اسیتوباکتر بومانی تجزیه آنزیمی توسط بتالاتاکتامازها می‌باشد. آنزیم‌های بتالاتاکتاماز بر اساس ساختمان اولیه‌شان به چهار دسته (A تا D) تقسیم‌بندی می‌شوند که آنزیم‌های بتالاتاکتاماز وسیع‌الطیف جزء گروه A بوده و موجب هیدرولیز سفالوسپورین‌های نسل اول، دوم، سوم و مونوباکتام‌ها شده، اما توسط مهارکننده بتالاتاکتامازها از جمله کلونیک اسید مهار می‌شوند [۱۱]. متالوبتالاتاکتامازها جزء گروه B بتالاتاکتامازها هستند. متالوبتالاتاکتامازها توانایی غیرفعال کردن تمامی آنتی بیوتیک‌های بتالاتاکتام به‌جز مونوباکتام را دارند.

بررسی حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله‌ها:

بر روی سویه‌های *اسیتوباکتر بومانی* جدا شده تست حساسیت آنتی بیوتیکی با ۱۷ دیسک آنتی بیوتیک پیراسیلین (۱۰۰ μg)، آمپی‌سیلین/سولباکتام (۱۰/۱۰ μg)، پیراسیلین-تازولباکتام (۱۰۰/۱۰ μg)، سفنازیدیم (۳۰ μg)، سفنیم (۳۰ μg)، سفوتاکسیم (۳۰ μg)، سفتریاکسون (۳۰ μg)، مروپنم (۱۰ μg)، ایمی‌پنم (۱۰ μg)، آمیکاسین (۳۰ μg)، جنتامایسین (۱۰ μg)، لوفلوکساسین (۵ μg)، سپروفلوکساسین (۵ μg)، تتراسیکلین (۱۰ μg)، تری متوپریم سولفومتاکسازول (۱/۲۵/۲۳/۷۵ μg)، کلیستین (۱۰ μg)، پلی میکسین (۳۰۰ Unit) از شرکت Mast انگلیس به روش دیسک دیفیوژن طبق معیار CLSI (موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی) انجام پذیرفت. اثرشیا کلی ATCC 25922 به عنوان کنترل کیفی مورد استفاده قرار گرفت. سویه‌های مقاوم به حداقل سه کلاس آنتی بیوتیک (کارباپنم‌ها، فلوروکوئینولون‌ها، پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها، مونوباکتام‌ها و آمینوگلیکوزیدها 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 - کلاونیک اسید (۳۰ μg+۱۰ μg) آن قرار داده شد. افزایش قطر هاله مهارتی بیش از ۵ میلی‌متر در اطراف دیسک حاوی اسید کلاونیک 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 ایمپی‌پنم (۳۰ μg) در مقابل دیسک ترکیبی ایمپی‌پنم- EDTA (750 μg/disk) ROSCO. دانمارک) قرار داده شد. افزایش قطر هاله مهارتی ≤ 7 میلی‌متر در مقابل دیسک ایمپی‌پنم- EDTA نسبت به دیسک ایمپی‌پنم به تنهایی به عنوان سویه MBL در نظر گرفته شد [۱۵].

تکثیر ژن *blaOXA-51* به روش PCR:

در این مطالعه پس از تشخیص *اسیتوباکتر بومانی* با روش بیوشیمیایی برای تایید از ژن *blaOXA-51* که اختصاص به گونه *اسیتوباکتر بومانی* دارد به روش PCR تعیین و استخراج ژن با روش boiling انجام پذیرفت. پرایمر مورد استفاده (353 bp) 5'-TAATGCTTTGATCGGCCTTG-3'

3'-TGGATTGCACTTCATCTTGG-5'

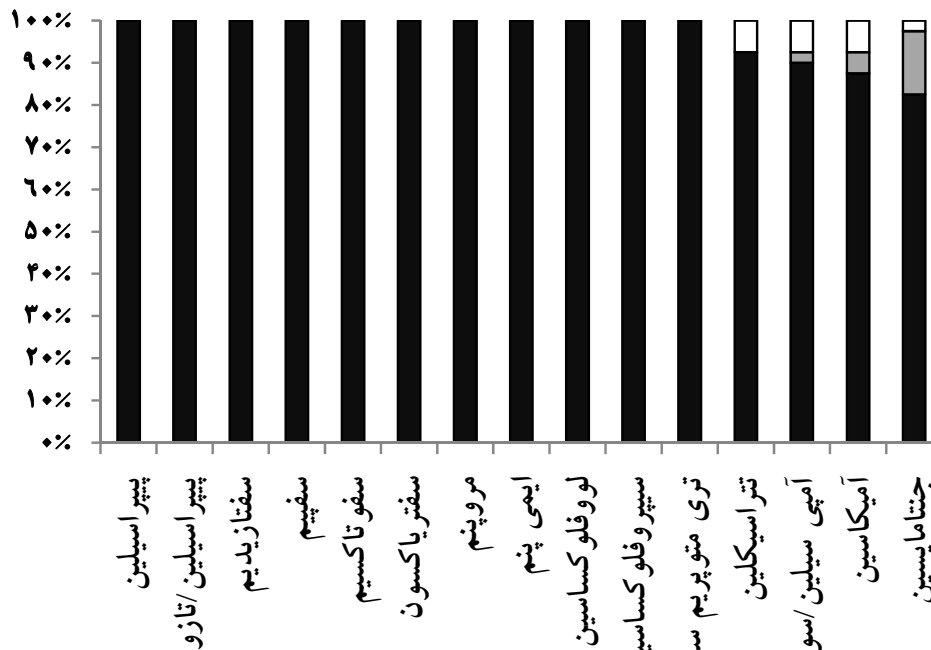
از شرکت بایونیر کشور کره تهیه شد [۱۶]. آزمون در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر با استفاده از Taq PCR Master Mix (از شرکت بایونیر کره)، ۱۰ پیکومول از هر پرایمر، ۱ میکرولیتر از DNA الگو تحت شرایط زیر با استفاده از دستگاه ترمال سیکلر (اپندورف آلمان) انجام شد: دناتوراسیون اولیه (۹۴ درجه به مدت ۵ دقیقه)، ۳۰ سیکل حرارتی شامل دناتوراسیون (۹۴ درجه به مدت ۲۵ ثانیه)، اتصال پرایمر (۴۰ درجه به مدت ۵۳ ثانیه) و تکثیر (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 *اسیتوباکتر 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 یابی (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 و پرایم ۱/۷/۵ بررسی شدند.

نتایج

تعداد ۴۰ سویه *اسیتوباکتر بومانی* از نمونه‌های لوله تراشه جدا گردید. متوسط سن افراد مورد مطالعه $53/88 \pm 22/62$ سال بود. از ۴۰ بیمار مورد مطالعه ۲۱ نفر (۵۲/۵ درصد) مرد بودند. صد درصد سویه‌ها به کلاس سفالوسپورین‌ها، کینولون‌ها و کارباپنم‌ها مقاوم بودند و به تتراسیکلین ۹۲/۵ درصد، آمپی-سیلین/سولباکتام ۹۰ درصد، آمیکاسین و جنتامایسین ۸۷/۵ و ۸۲/۵ درصد مقاومت نشان دادند و تمامی سویه‌ها به کلیستین و پلی-میکسین حساس بودند (نمودار شماره ۱). صد درصد سویه‌های *اسیتوباکتر بومانی* مقاوم به چند دارو (MDR) بودند. سویه‌های *اسیتوباکتر 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 متالوبتالاکتاماز (MBL) مثبت بودند. تمامی ایزوله‌ها از نظر حضور ژن *blaOXA-51*



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

سال ۱۳۸۶ روی نمونه‌های *اسیتوباکتر* جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان شهید 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 کارباپنم‌ها مشاهده شد. با توجه به اینکه کارباپنم‌ها داروهای انتخابی جهت درمان بیماران آلوده به ایزوله‌های *اسیتو-باکتر 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 ایمپنم ۲۵ درصد گزارش شده [۱۸] و در مطالعه حاضر مقاومت به ایمپنم ۱۰۰ درصد بود. از آنجایی که تمامی بیماران مورد مطالعه سابقه تجویز مصرف داروهای کارباپنم را داشتند، یکی از دلایل افزایش مقاومت می‌تواند مصرف بی رویه این آنتی بیوتیک بدون توجه به نتایج آنتی بیوگرام در بیماران آلوده به *اسیتوباکتر* باشد. سایر محققین در ایران مقاومت کارباپنم را از



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

باکتری‌های جدا شده از نمونه لوله تراشه بیماران بستری در بیمارستان شهید 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. چاهک L مارکر (ladder) ۱۰۰bp است.

بحث

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

۲۵ تا ۹۷/۷ درصد گزارش کرده‌اند [۲۵-۱۸]. در سایر نقاط جهان نیز میزان مقاومت به کاربایم گزارش شده است. در مطالعه Hujer و همکاران بر روی سویه‌های *اسیتوباکتر 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 *اسیتوباکترهای* ایزوله شده نسبت به ایمینم مقاومت نشان دادند. اختلاف مشاهده شده در نتایج می‌تواند به دلیل تفاوت در پروتکل درمانی استفاده شده در دو کشور باشد. مقاومت به کاربایم‌ها 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 به دست 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 *اسیتوباکتر بومانی* در هر کشور و یا مناطق جغرافیایی مختلف و حتی بیمارستان‌های مختلف یک کشور وجود دارد و از طرف دیگر این الگوهای مقاومتی به‌طور دائم در حال تغییر می‌باشد که باید مورد توجه قرار گیرد [۲۶]. در این مطالعه تمامی سویه‌های *اسیتوباکتر 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]. هم چنین، در بررسی شاهچراغی و همکارانش ۹۵/۸ درصد سویه‌های *اسیتوباکتر* به کلیستین حساس بودند [۳۱]. دلیل احتمالی حساس بودن نسبت به این آنتی بیوتیک-ها، 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 *اسیتوباکتر بومانی* در این تحقیق، اطلاعات کافی برای پزشکان در زمینه دست‌یابی به روش‌های مناسب برای درمان عفونت‌های ناشی از ایزوله‌های *اسیتوباکتر بومانی* را به همراه خواهد داشت. مقاومت به کاربایم‌ها به دلیل تولید دو بتالاکتاماز (متالوبتالاکتاماز و بتالاکتاماز هیدرولیز کننده کاربایم کلاس (D) می‌باشد [۱۲]. در مطالعه حاضر ۶۵ درصد از ایزوله‌های *اسیتوباکتر بومانی* مورد بررسی دارای آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز بودند که حاکی از گسترش شیوع این نوع مقاومت در این منطقه

است. در سال ۱۹۹۸ Pino و همکارانش در فرانسه گزارش کردند که ۱۰ درصد ایزوله‌های *اسیتوباکتر 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 *اسیتوباکتر بومانی*‌های جدا شده از نمونه‌های کلینیکی متالوبتالاکتاماز تولید می‌کردند [۳۲]. در سال ۲۰۱۰ انور و همکاران گزارش نمودند که ۴۴/۸ درصد ایزوله‌های *اسیتوباکتر 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 ایمینم-پنم 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 *اسیتوباکتر بومانی* جدا شده از بیماران سوختگی ۲۱ درصد گزارش کرده‌اند [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 کاربایم بوده و مقاومت به کاربایم‌ها از طریق این ژن‌ها صورت می‌گیرد [۱۳]. در این مطالعه میزان ژن *blaOXA51* در بین تمامی سویه‌های *اسیتوباکتر 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 سهرابی و همکاران در بررسی‌ای که در سال ۲۰۱۲ در شمال ایران انجام دادند، این ژن را گزارش کرده‌اند [۳۷]. این مطالعه همانند سایر مطالعات تأیید کرد که شناسایی ژن *blaOXA51* می‌تواند راه ساده‌ای برای تشخیص *اسیتوباکتر بومانی* باشد. ژن مذکور بر روی ترانسپوزون، پلاسمید و یا اینتگرون واقع شده است و چون این ساختارها به راحتی می‌توانند جابه‌جا شوند سبب انتشار جهانی آن گردیده است [۱۳].

نتیجه‌گیری

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

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 پرسنل بیمارستان شهید بهشتی کاشان به‌ویژه آقای حسن کوشا که در پیش‌برد این تحقیق یاری ارزنده و سودمند داشته‌اند، قدردانی به‌عمل می‌آورند.

شناسایی بیماران آلوده، یافتن منبع کولونیزاسیون باکتری و کنترل مصرف آنتی‌بیوتیک در بیمارستان را باید به‌کار 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, Sadeghifard 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] Khoshrishahi N, Sharifi M. Isolation of carbapenem resistant *acinetobacter baumannii* (crab) strains from patients and equipments of intensive care units (icus) 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 (MβL) 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 Biores** 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, Shibl 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 used antibiotics in a tertiary hospital in southern Nigeria. **Afr J Biotechnol** 2006; 5(11): 1067-71.
- [30] Al-Agamy MH, Khalaf NG, Tawfick MM, Shibl AM, El Kholy A. Molecular characterization of carbapenem-insensitive *Acinetobacter baumannii* 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 *bla*CTX, *bla*TEM 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] Zavascki 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 β-Lactamases Among *Acinetobacter baumannii* Isolates from Northwest of Iran. **Microb Drug Resist** 2012; 18(4): 385-9