

بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و انتشار ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی در گونه های اسینتوباکتر جدا شده از بیمارستان شهید بهشتی کاشان

رضا خلت آبادی فراهانی^۱ ، رضوان منیری^{۲*} ، غلامرضا شجری^۳ ، محمد حسین ناظم شیرازی^۴ ، سید غلامعباس موسوی^۵ ، احمد قاسمی^۶ ، سحرناز حاج آقازاده^۷

خلاصه

سابقه و هدف: گونه های اسینتوباکتر کوکوباسیل پاتوژن های مهم فرصت طلب و مسئول عفونت های بیمارستانی متعددی می باشند. سویه های مقاوم اسینتوباکتر مشکلات درمانی را در دنیا ایجاد نموده اند. مقاومت آنتی بیوتیکی گونه های اسینتوباکتر در ایران یک مشکل نوظهور است. هدف از این مطالعه تعیین حساسیت ضد میکروبی و ارزیابی وجود ژن های مقاومت در گونه های اسینتوباکتر جدا شده از نمونه های بالینی از بیمارستان آموزشی دانشگاه بود.

مواد و روش ها: این مطالعه توصیفی در بیمارستان شهید بهشتی کاشان بر روی ۶۰ گونه اسینتوباکتر جدا شده از بیماران انجام پذیرفت. تست های بیوشیمیابی استاندارد برای تعیین هویت در سطح گونه مورد استفاده قرار گرفت. حساسیت آنتی بیوتیکی ۶۰ ایزوله بر طبق روش استاندارد و بر اساس معیار CLSI انجام پذیرفت. مقاومت به سه یا بیش از سه کلاس از آنتی بیوتیک ها مقاومت چند دارویی تعریف گردید. برای شناسایی و تکثیر ژن های مورد بررسی از روش PCR استفاده گردید. محصول PCR در ژل آگارز ۲ درصد قرار داده شد و با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و تحت اشعه UV عکس برداری شد. از مارکر 100 Bp برای شناسایی محصول PCR استفاده شد.

نتایج: ۴۸ ایزوله از اسینتوباکتر بمانی، ۶ ایزوله اسینتوباکتر لوفی و ۶ ایزوله از سایر گونه ای اسینتوباکتر از بیماران جدا گشت. گونه های اسینتوباکتر به ترتیب بیشترین مقاومت را به آمیکاسین، توپرامایسین، سفتازیدیم، سپروفلوکسازین، پیراسیلین/تازو باکتم، داکسی سیکلین، تری متوبریم/سولفارامتوکسازول، مینوسیکلین، لووفلوکساین، ایمی پن و سولبلاکتم/آمپی سیلین نشان دادند. مقاومت به چند آنتی بیوتیک ۶۶/۷ درصد بود. میزان شناسایی ژن های *aphA6* ۴۱/۷٪، *aadA1* ۳۹٪، *aadB* ۳۸٪ (۶۵ درصد)، *OXA SET C* ۳۴٪ (۶۳/۳ درصد)، *ADC-7* ۲۵٪ (۵۳/۳ درصد)، *ADC-1* ۲۵٪ (۳/۳ درصد) بود.

نتیجه گیری: در این مطالعه *Acinetobacter baumannii* شایعترین گونه ایزوله شده از بیماران بود. گونه های اسینتوباکتر بیشترین مقاومت را نسبت به آمیکاسین، توپرامایسین و سفتازیدیم نشان دادند. آنالیز ژنتیکی وجود ژن های *ADC-7*، *aacC1*، *aphA6* و *6-7* را در اکثر سویه ها و همچنین نقش *aphA6* در بروز مقاومت به آمیکاسین، جنتامايسین، کاتامايسین نشان داد. ژن *aacC1* در بروز مقاومت به جنتامايسین، و *Bla ADC* مشتمل بر هفت ژن کد کننده بتا لاکتاماز (*bla-ADC-1*, *bla-ADC-2*, *bla-ADC-3*, *bla-ADC-4*, *bla-ADC-5*, *bla-ADC-6*, *bla-ADC-7*) دلالت دارند. گونه های باکتریایی جنس اسینتوباکتر خطر مهمی برای بیماران بستری محسوب می شوند زیرا به عنوان یکی از عوامل بروز عفونت های بیمارستانی با پتانسیل ایجاد مقاومت نسبت به بسیاری از آنتی بیوتیک ها مطرح می باشند.

واژگان کلیدی: گونه های اسینتوباکتر، مقاومت آنتی بیوتیکی، مقاومت چند دارویی، ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی

* نویسنده مسؤول: رضوان منیری

۱- کارشناسی ارشد میکروب شناسی گروه میکروب شناسی و اینتلولوژی دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۲- دانشیار گروه میکروب شناسی و اینتلولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۳- دانشیار گروه میکروب شناسی و اینتلولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۴- مسؤول بخش مولکولی مرکز تشخیص سازمان دامپزشکی کشور

۵- مریب گروه بهداشت عمومی و آمار دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۶- کارشناسی ارشد میکروب شناسی گروه میکروب شناسی و اینتلولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۷- کارشناس بخش مولکولی مرکز تشخیص سازمان دامپزشکی کشور

تلفن: ۰۳۶۱ ۵۵۵۰۰۲۱

تاریخ دریافت: ۸۷/۸/۱۵

دورنوييس: ۰۳۶۱ ۵۵۵۱۱۱۲

تاریخ پذیرش نهایی: ۸۷/۱۱/۳

پست الکترونیک: moniri@kaums.ac.ir

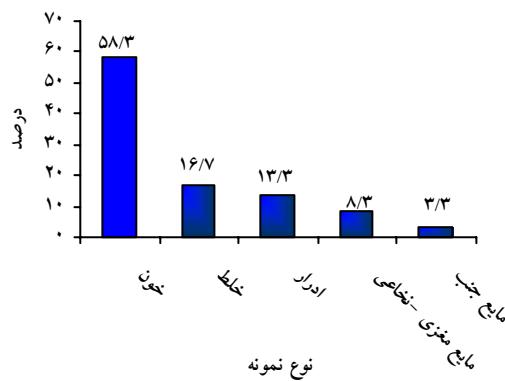
مقدمه

مواد و روش ها

این مطالعه به صورت توصیفی بر روی ۴۰۰ نمونه ادرار، خون، پوست، زخم و جداسده از دستگاه تنفسی بیماران بستری در بیمارستان آموزشی شهید بهشتی کاشان در سال ۱۳۸۶-۸۷ انجام پذیرفت. از محیط مک کانکی آگار و بلاد آگار حاوی ۵ درصد خون گوسفنند برای جداسازی اولیه باکتری استفاده گردید. نمونه ها در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید. ۶۰ سویه ای اسینتوباکتر از ۴۰۰ نمونه ایزوله گردید. با استفاده از روش های بیوشیمیابی استاندارد گونه های اسینتوباکتر تعیین هویت گردید. از سویه های استاندارد اسینتوباکتر بومانی (11B) ATCC₁₉₆ و اسینتوباکتر لولوفلی (13A) ATCC_{TYPE STRAIN} از آزمایشگاه رفرانس تهران به عنوان کنترل استفاده گردید. با استفاده از دیسک های ایمی پنم (10 µg)، سپروفلوکساسین (5 µg)، لووفلوکساسین (30 µg)، سفتازیدیم (30 µg)، داکسی-ساکلین (30 µg) و ماینوساکلین (30 µg) پیراسیلین/تاژوباکتام (10 µg/100)، سولباکتام/آمپیسیلین (10 µg/10)، آمیکاسین (30 µg)، جنتامایسین (10 µg)، تربامیسین (1.25/23.75 µg)، توبرامایسین (10 µg)، سولفاماتاکسازول (1.25/23.75 µg)، توبرامایسین (10 µg)، تهیه شده از شرکت بکتون دیکینسون با روش دیسک دیفیوزن طبق معیار CLSI فنوتیپ مقاومت تعیین گردید. ایزوله های اسینتوباکتر که به سه یا بیش از سه رده آنتی بیوتیکی شامل کینولون ها (سپروفلوکساسین)، سفالوسپورین های وسیع الطیف (سافتازیدیم، سفپیم)، ترکیب بتالاکتام / مهار کننده بتالاکتام از (آمپیسیلین/سالبیکتام)، آمینو گلیکوزیدها (آمیکاسین، توبرامایسین)، و کاربپن ها (ایمی پنم، مروپن) مقاومت نشان دادند به عنوان سویه های مقاوم به چند دارو (MDR) تعریف گردید. ژنتایپ ایزوله ها به روش PCR تعیین و استخراج ژن به روش boiling انجام پذیرفت. جدول شماره ۱ پرایمر های مورد استفاده، توالی پرایمرها، درجه حرارت اتصال و ژن های هدف را نشان می دهد. پرایمر های مورد استفاده از شرکت بایونیر کشور کره تهیه شد. مواد و حجم موردنیاز برای واکنش PCR به شرح زیر ۱۵ میکرولیتر آب عاری از آنزیم DNase ۲۵ میکرولیتر بافر آنزیم Taq پلی مراز ۲/۵ میکرولیتر پرایمر Sense ۲/۵ میکرولیتر پرایمر anti Sense ۵ میکرولیتر از نمونه بود. برنامه زمان بندی ۹۳°C ۱۵ دقیقه در ۹۵°C برای دناتوره کردن، ۱ دقیقه در درجه حرارت ۳۰ ثانیه در ۹۵°C برای دناتوره کردن، ۱ دقیقه در درجه حرارت های اختصاصی پرایمر های مربوطه (جدول ۱) برای آئیله نمودن و ۱۰ دقیقه در ۷۲°C برای سنتز بود. در هر مرحله از اسینتوباکتر

گونه های اسینتوباکتر، کوکوباسیل های گرم منفی، غیر تخمیری و هوایی بوده که به طور وسیعی در محیط بیمارستان پراکنده و پاتوژن های مهم فرستاده و مسئول عفونت های بیمارستانی مختلفی می باشند [۱]. اسینتوباکتر بمانی توائی زیادی برای توسعه سریع مقاومت آنتی بیوتیکی داشته که منجر به مقاومت چند دارویی شده است [۲]. در حال حاضر، تعدادی از سویه های اسینتوباکتر بمانی نسبت به همه عوامل ضد میکروبی در دسترس، مقاوم شده اند [۳]. مکانیسم های ایجاد مقاومت از طرق مختلفی صورت می گیرد. سویه های مقاوم مجموعه ای از ژن های که کننده مقاومت نسبت به چند خانواده آنتی بیوتیکی، را در آن واحد حمل می کنند [۴-۶]. درمان عفونت های اسینتوباکتر اغلب در مواردی که فنوتیپ های مقاومت، چند دارویی است مشکل می باشد. در حال حاضر کاربپن ها به عنوان داروی انتخابی در درمان عفونت های اسینتوباکتر مقاوم به چند دارو، استفاده می گردد. هر چند، مقاومت به کاربپن نیز رو به افزایش می باشد [۷-۱۳]. با ظهور و افزایش سویه های مقاوم، درمان عفونت های ناشی از اسینتوباکتر، به عنوان مشکل مهم بهداشتی در بسیاری از کشورها مورد توجه می باشد. شیوع عفونت های بیمارستانی با کلون های انتخابی اسینتوباکتر بمانی مقاوم به چند دارو در جهان گزارش شده است [۱۴]. انتقال ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی از طریق کروموزومی، پلاسمیدها و ترانسپوزن ها انجام می پذیرد. مقاومت به آمینو گلیکوزیدها توسط ژن های aacC1 (استیل ترانسفرازی را کد می کند که باعث مقاومت به جنتامیسین می شود)، ژن aadA1 (آدنیل ترانسفرازی را کد می کند که باعث مقاومت به aadA (آدنیل استرپтомایسین و اسپکتینومایسین می شود)، ژن aadB ترانسفرازی را کد می کند که باعث مقاومت به جنتامیسین، توبرامایسین و کاناما میسین می شود) و ژن aaphA6 (فسفو ترانسفرازی را کد می کند که باعث مقاومت به جنتامیسین، آمیکاسین، کاناما میسین و نومامیسین می شود). مقاومت به پنی سیلین ها و سفالوسپورین ها از طریق آنزیم بتالاکتامازی است که توسط ژن ADC7 و یا ژن OXAsel کد می گردد [۱۵]. با توجه به عدم آگاهی نسبت به میزان شیوع عفونت های ناشی از اسینتوباکتر در بیمارستان شهید بهشتی کاشان و به منظور تعیین فنوتیپ و ژنوتیپ مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های جداسده از بیمارستان، این تحقیق انجام پذیرفت. هدف از این مطالعه تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی، مقاومت چند دارویی و تعیین ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی در گونه های اسینتوباکتر جدا شده از بیماران بستری بودند.

اسیتوباکتر بمانی ۳۲ سویه (۶۶/۷ درصد) نسبت به چند دارو مقاوم بودند. جدول ۴ توزیع فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی بر حسب ژن های مقاومت و نوع آنتی بیوتیک را نشان می دهد. از ۳۹ گونه ای اسیتوباکتر که دارای ژن aphA6 بودند ۳۲ مورد (۸۲/۱ درصد) نسبت به آمیکاسین مقاومت داشتند. همچنین ۳۱ مورد (۸۱/۶ درصد) مقاومت به آمیکاسین در ۳۸ گونه ای اسیتوباکتر دارای ژن aacC1 مشاهده گردید. از ۳۴ گونه ای اسیتوباکتر که دارای ژن ADC-7 بودند، ۲۹ مورد (۸۵/۲ درصد) نسبت به آمیکاسین مقاوم بودند. به علاوه ۲۶ مورد (۸۱/۳ درصد) مقاومت نسبت به آمیکاسین در ۳۲ گونه ای اسیتوباکتر حاوی ژن OXA SET C مشاهده شد.

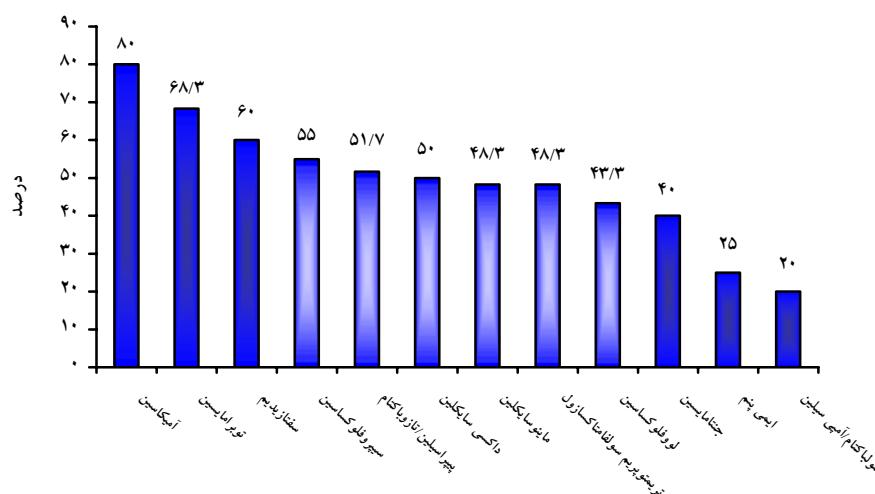


نمودار ۱- توزیع درصد فراوانی نوع نمونه در ۶۰ گونه ای اسیتوباکتر جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان شهید بهشتی کاشان

بومانی، اسیتوباکتر لووفلی، انتروکوک فکالیس و نمونه آب عاری از آنزیم DNase به عنوان کنترل استفاده گردید. سپس محصول PCR در ژل آکارز ۲ درصد قرار گرفته، با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و تحت اشعه UV عکس برداری گردید. از مارکر 100 Bp تولید شرکت کیاژن برای شناسایی محصول PCR استفاده شد.

نتایج

۶۰ سویه ای اسیتوباکتر از ۴۰۰ بیمار بستری (۱۵ درصد) شامل ۳۵ نفر مرد (۵۸/۳ درصد) و ۲۵ نفر زن (۴۱/۷ درصد) جدا گشت. میانگین سنی افراد مورد مطالعه $۱۹/۲ \pm ۳۹/۳$ سال بود. از کل سویه ها، ۳۵ نمونه از خون (۳/۶ درصد)، ۱۰ نمونه از خلط مغزی نخاعی (۸/۳ درصد)، ۸ نمونه از ادرار (۱۳/۴ درصد)، ۵ نمونه از مایع مغزی نخاعی (۳/۳ درصد) جدا شد. ۱۵ نمونه (۲۵ درصد) از بخش ICU، ۲۴ نمونه (۴۰ درصد) از اورژانس، ۶ نمونه (۱۰ درصد) از بخش کودکان و ۱۵ نمونه (۲۵ درصد) از بخش عفوونی بود. ۴۸ سویه (۸۰ درصد) اسیتوباکتر بمانی، ۶ سویه (۱۰ درصد) اسیتوباکتر لووفلی و ۶ سویه (۱۰ درصد) سایر گونه های اسیتوباکتر بودند. توزیع فراوانی الگوی مقاومت و حساسیت آنتی بیوتیکی در سویه های اسیتوباکتر جدا شده بر حسب نوع آنتی بیوتیک در جدول ۲ ارائه شده است. جدول ۳ توزیع فراوانی ژن های مقاومت در گونه های اسیتوباکتر جدا شده از بیماران بستری را نشان می دهد. از ۴۸ سویه جدا شده



نمودار ۲- توزیع فراوانی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در ۶۰ گونه ای اسیتوباکتر جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان شهید بهشتی کاشان بر حسب نوع آنتی بیوتیک

جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده، توالی پرایمرها، درجه حرارت اتصال و ژن های هدف برای شناسایی ژن های تولید کننده بتالاکتماز و مقاومت به آمینوگلیکوزید ها در ۶۰ گونه اسیتوباکتر جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان شهید بهشتی کاشان

نام پرایمر	توالی پرایمر	درجه حرارت اتصال	ژن های هدف
ADC-7 FOR ADC-7 REV	ATGCGATTTAAAAAATTCTGT TTATTTCTTATTGCATTCAG	۵۰	bla-ADC-1, bla-ADC-2, bla-ADC-3, bla-ADC-4, bla-ADC-5, bla-ADC-6, bla-ADC-7
OXA SET C FOR OXA SET C REV	ACAGAARTATTAAGTGGG3 GGTCTACAKCCMWTCCTCA	۴۷	blaOXA-51, blaOXA-58, blaOXA-64, blaOXA-69, blaOXA-70, blaOXA-71, blaOXA-75, blaOXA-78
aacC1-5' aacC1-3'	ATGGGCATCATTGCACATGTAGG TTAGGTGGCGGTACTTGGGTC	۶۴	aacC1
aadA1-5' aadA1-3'	ATGAGGGAAAGCGGGTATCG TTATTTGCCGACTACCTTGGTG	۶۷	aadA1
aadB-5' aadB-3'	ATGGACACAACGCAGGTCGC TTAGGCCCATATCGCAC	۶۸	aadB
aphA6 FOR aphA6 REV	ATGGAATTGCCCAATATTATTC TCAATTCAATTATCAAGTTTA	۵۵	aphA6

جدول ۲- توزیع فراوانی الگوی مقاومت و حساسیت آنتی بیوتیکی در ۶۰ گونه اسیتوباکتر

جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان شهید بهشتی کاشان بر حسب نوع آنتی بیوتیک

نوع آنتی بیوتیک	الگوی حساسیت و مقاومت	حساس	حد واسط	مقاآم
آمیکاسین (۳۰ µg)		(۶,۷)۴	(۱۲,۳)۸	تعداد (در صد)
توبیرامایسین (۱۰ µg)		(۱۰)۶	(۲۱,۷)۱۳	تعداد (در صد)
سفنازیدیم (۳۰ µg)		(۱۶,۷)۱۰	(۲۳,۳)۱۴	تعداد (در صد)
سپیروفلوکسازین (۵ µg)		(۶,۷)۴	(۳۸,۳)۲۳	تعداد (در صد)
پی پیراسیلین/تازوپیاکتام (۱۰/۱۰۰ µg)		(۳۱,۷)۱۹	(۱۶,۷)۱۰	تعداد (در صد)
داسکی سایکلین (۳۰ µg)		(۸,۳)۵	(۴۱,۷)۲۵	تعداد (در صد)
ماینوسایکلین (۳۰ µg)		(۶,۷)۴	(۴۵,۰)۲۷	تعداد (در صد)
تریمتوبیرم/سولفارامتوکسازول (۱,۲۵/۲۳,۷۵ µg)		(۱۰)۶	(۴۱,۷)۲۵	تعداد (در صد)
لووفلوكسازین (۵ µg)		(۵۶,۷)۳۴	---	تعداد (در صد)
جنتامایسین (۱۰ µg)		(۵۸,۳)۳۵	(۱,۷)۱	تعداد (در صد)
ایمی پنم (۱۰ µg)		(۷۳,۳)۴۴	(۱,۷)۱	تعداد (در صد)
سوپلیاکتام/آمپی سیلین (۱۰/۱۰ µg)		(۶۳,۳)۳۸	(۱۶,۷)۱۰	تعداد (در صد)

جدول ۳- توزیع فراوانی ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی در ۶۰ گونه

اسیتوباکتر جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان شهید بهشتی کاشان

نوع ژن	مثبت	منفی	تعداد (در صد)	تعداد (در صد)
aphA6		(۶۰)۳۹	(۳۵)۲۱	(۳۵)۲۱
aacC1		(۶۳,۳)۳۸	(۳۶,۷)۲۲	(۳۶,۷)۲۲
ADC7		(۵۶,۷)۳۴	(۴۳,۳)۲۶	(۴۳,۳)۲۶
OXAset		(۵۳,۳)۳۲	(۴۶,۷)۲۸	(۴۶,۷)۲۸
aadA1		(۴۱,۷)۲۵	(۵۸,۳)۲۵	(۵۸,۳)۲۵
aadB		(۳,۳)۲	(۹۶,۷)۵۸	(۹۶,۷)۵۸

نسبت به جنتامایسین می شود، ژن ADC7، آنژیم بتالاکتماز را کد می کنند که باعث بروز مقاومت نسبت به پنی سیلین ها و سفالوسبورین ها می گردد. ژن OXAset، آنژیم بتالاکتماز را کد می کنند که باعث بروز مقاومت

ژن apha6، فسفو ترانسفرازی را کد می کند که باعث بروز مقاومت نسبت به جنتامایسین، آمیکاسین، کاناامایسین و نومامایسین می شود. ژن aacC1، استیل ترانسفرازی را کد می کند که باعث بروز مقاومت

باعث بروز مقاومت نسبت به جنتامايسین، توبرامايسين و کاتامايسين می-شود.

نسبت به پنی سیلین ها و سفالوسپورین ها می گردد. ژن *aadA1*، آدنیل ترانسفرازی را کد می کند که باعث بروز مقاومت نسبت به استرپتومايسین و اسپکتینومايسین می شود. ژن *aadB*، آدنیل ترانسفرازی را کد می کند که

جدول ۴ - توزیع فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی بر حسب ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی و نوع آنتی بیوتیک در ۶۰ گونه اسیتوباکتر جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان شهید بهشتی کاشان

آنتی بیوتیک													
تعداد کل سویه های مقاوم													
۱۲	۱۵	۲۴	۲۶	۲۹	۲۹	۳۰	۳۱	۳۳	۳۶	۴۱	۴۸		
بلاتکام امیکاسین آمپی سیلین سیپروفلوکساسین اوکسازول	آنتی بیوتیکی آنتی بیوتیکی آنتی بیوتیکی آنتی بیوتیکی آنتی بیوتیکی	نوع ژن											
۱۱	۱۲	۲۳	۲۴	۲۴	۲۴	۲۳	۲۵	۲۶	۳۰	۲۲	۳۲	<i>aphA6</i>	
۷	۹	۲۰	۲۱	۱۹	۲۱	۸	۲۱	۲۶	۲۵	۲۳	۳۱	<i>aacC1</i>	
۱۱	۱۲	۲۴	۲۴	۲۵	۲۴	۲۱	۲۶	۲۵	۳۰	۱۷	۲۹	<i>ADC7</i>	
۸	۹	۲۲	۲۳	۲۰	۲۱	۱۷	۲۴	۲۳	۲۵	۱۵	۲۶	<i>OXAsel</i>	
۶	۸	۱۲	۱۳	۱۴	۱۳	۱۴	۱۵	۱۴	۱۷	۱۸	۲۲	<i>aadA1</i>	
۱	۱	۱	۱	۲	۱	۱	۲	۱	۲	۱	۲	<i>aadB</i>	
												۲	

درصد از آن ها نسبت به سفالوسپورین های با طیف وسیع، ۴۹ درصد به آمپی سیلین/سولبلاکاتم، ۲۰ درصد به ایمی پن، و ۸۱ درصد حداقل به یکی از آمینو گلیکوژید ها (آمیکاسین یا توبرامایسین) مقاوم بودند [۱۵]. میزان بروز مقاومت نسبت به چند دارو در مطالعه ما کمتر از نتایج Hujer بود. ویژگی دیگر این تحقیق بروز میزان مقاومت زیاد نسبت به آنتی بیوتیک ها و بالا بودن تعداد ژن های مقاومت در سویه های ایزوله شده بود. آنالیز ژنتیکی نشان داد که بیشترین میزان فراوانی ژن مقاومت به ژن *aphA6* و *komtrien* میزان فراوانی ژن مقاومت به ژن *aadB* مربوط بود. در این مطالعه ۸۲/۱ درصد سویه هایی که دارای ژن *aphA6* بودند نسبت به آمیکاسین مقاوم بودند. همچنین ۸۱/۶ درصد از سویه هایی که حاوی ژن *aacC1* بودند مقاومت به آمیکاسین را نشان دادند. ۷۶/۹ درصد از سویه هایی که ژن مقاومت به *aphA6* را داشتند نسبت به سفتازیدیم هم مقاوم بودند. ۸۸/۲ درصد از سویه هایی که دارای ژن *ADC7* بودند به سفتازیدیم مقاومت داشتند. ۸۱/۳ درصد سویه هایی دارای ژن *OXAsel* نسبت به آمیکاسین و ۷۸/۱ درصد به سفتازیدیم مقاوم بودند. ۸۸ درصد سویه هایی دارای ژن *aadA1* به آمیکاسین مقاوم بودند. در مطالعه Hujer و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی ۷۵ سویه های اسیتوباکتر جدا شده از بیماران نظامی و غیر نظامی جنگ عراق و افغانستان، ۱۵ درصد سویه ها به همهی ۹ آنتی بیوتیک مورد آزمایش، و ۸۹ درصد ایزوله ها حداقل به سه کلاس آنتی بیوتیک مقاوم بودند که معیاری برای تعیین مقاومت چند دارویی است. بیش از ۹۰ درصد ایزوله ها به سیپروفلوکساسین و حداقل ۸۰

بحث

هدف از انجام این مطالعه تعیین ارتباط فنوتیپ مقاومت و شاخص های ژنتیکی آن در گونه های اسیتوباکتر بود. ویژگی مطالعه ما در این بود که عفونت های خونی شایع ترین منبع کلینیکی گونه های اسیتوباکتر بود و بیشتر بیماران حین نمونه گیری دارای کاتر وریدی بودند. شایع ترین گونه جدا شده در این مطالعه اسیتوباکتر بمانی بود و بیشترین میزان مقاومت دارویی نسبت به آمیکاسین و توبرامایسین و کمترین مقاومت به ایمی پن و سپس آمپی سیلین / سولبلاکاتم مشاهده شد. میزان بروز مقاومت چند دارویی در مطالعه ما بالا بود. یکی از خصوصیات مهم گونه های اسیتوباکتر مقاومت به چند آنتی بیوتیک بوده که مشکلات زیادی را در درمان عفونت های بیمارستانی ایجاد می نماید. در بین کشورهای مختلف مشاهده می شود که از فاکتورهای محیطی و الگوهای مختلف استفاده از عوامل ضد میکروبی ناشی می گردد. در مطالعه Hujer و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی ۷۵ سویه های اسیتوباکتر جدا شده از بیماران نظامی و غیر نظامی جنگ عراق و افغانستان، ۱۵ درصد سویه ها به همهی ۹ آنتی بیوتیک مورد آزمایش، و ۸۹ درصد ایزوله ها حداقل به سه کلاس آنتی بیوتیک مقاوم بودند که معیاری برای تعیین مقاومت چند دارویی است. بیش از ۹۰ درصد ایزوله ها به سیپروفلوکساسین و حداقل ۸۰

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان می دهد که بیش از ۶۰ درصد سویه ها به آمیکاسین، توبرامایسین و سفتازیدیم مقاوم بوده و میزان مقاومت چند دارویی نیز قابل توجه است. اپیدمی های ناشی از سویه های اپیدمیک، با مقاومت چند دارویی مرتبط بوده و از آن جایی که میزان مقاومت چند دارویی در بیمارستان مورد مطالعه ۶۶/۷ درصد تعیین گردید، لزوم توجه به معیارهای کنترل عفونت های بیمارستانی احساس می گردد. مقاومت چند دارویی در خانواده اسینتوباکتر در محیط بیمارستانی در پاسخ به افزایش مصرف آنتی بیوتیک ها ایجاد شده است و بنابراین کنترل مصرف آنتی بیوتیک، در بیمارستان ها نقش مهمی در جلوگیری از ظهور عفونت های ناشی از اسینتوباکتر ایفا می کند.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی آموزشی دانشکده پزشکی کاشان برای تصویب مالی پایان نامه کارشناسی ارشد صمیمانه قدردانی می گردد.

درصد، ژن *aadB* ۴۸ درصد، ژن *aadA1* ۳۹ درصد بود [۱۵]. فراوانی بالای ژن های *apha6* و *aacC1* با اطلاعات قبلی منتشر شده از سایر نمونه های کلینیکی گونه های اسینتوباکتر مطابقت دارد [۱۶]. Nemec و همکاران با استفاده از PCR، بر روی ژن های مقاومت به آمینو گلیکوزید ها در ۱۰۱ سویه ای اسینتوباکتر نشان دادند که ژن *aacC1* و ژن *aadA1* در ۶۸ سویه، ژن *apha6* در ۵۵ و ژن *aadB* در ۳۱ سویه مشاهده گردید [۱۷]. چندین مطالعه نشان داده که مقاومت ضد میکروبی به چند دارو فاکتور مهمی برای انتخاب سویه های اپیدمیک اسینتوباکتر بمانی در مراکز بیمارستانی می باشد [۱۷-۲۰]. از راه های ایجاد مقاومت ضد میکروبی انتقال ژن های مقاومت از طریق کانزروگیشن، پلاسمیدها و ترانسپوزن های درون کروموزومی که ناقل ژن های مقاومت به چند آنتی بیوتیک می باشند نیز انجام شده است [۱۹، ۲۱].

References:

- [1] Wang H, Guo P, Sun H, Wang H, Yang Q, Chen M, et al. Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(11):4022-8.
- [2] Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev* 1996;9:148-65.
- [3] Van Looveren M, Goossens H. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:684-704.
- [4] Seifert H, Boullion B, Schulze A, Pulverer G. Plasmid DNA profiles of *Acinetobacter baumannii*: Clinical application in a complex endemic setting. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994;15:520-8.
- [5] Segal H, Thomas R, Gay EB. Characterization of class 1 integron resistance gene cassettes and the identification of a novel IS-like element in *Acinetobacter baumannii*. *Plasmid* 2003;49:169-78.
- [6] Poirel L, Menuteau O, Agoli N, Cattoen C, Nordmann P. Outbreak of extended-spectrum beta-lactamase VEB-1-producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a French hospital. *J Clin Microbiol* 2003;41:3542-7.
- [7] Coelho J, Woodford N, Turton J, Livermore DM. Multiresistant acinetobacter in the UK: how big a threat? *J Hosp Infect* 2004;58:167-9.
- [8] Dalla-Costa LM, Coelho JM, Souza HAPH M, Castro MES, Stier CJN, Bragagnolo KL, et al. Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 enzyme in Curitiba, *Brazil J Clin Microbiol* 2003;41:3403-6.
- [9] Jeon B, Jeong SH, Bae IK, Kwon SB, Lee K, Young D, et al. Investigation of a nosocomial outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 β-lactamase in Korea. *J Clin Microbiol* 2005; 43:2241-5.
- [10] Landman D, Quale JM, Mayorga D, Adedeji A, Vangala K, Ravishankar J, et al. Citywide clonal outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in Brooklyn, NY: the preantibiotic era has returned. *Arch Intern Med* 2002;62:1515-20.
- [11] Naas T, Levy M, Hirschauer C, Marchandin H, and Nordmann P. Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the carbapenemase OXA-23 in a tertiary care hospital of Papeete, French Polynesia. *J Clin Microbiol* 2005;43:4826-9.
- [12] Vahaboglu H, Budak F, Kasap M, Gacar G, Torol S, Karadenizli A, et al. High prevalence of OXA-51-type class D β-lactamases among ceftazidime-resistant clinical isolates of *Acinetobacter* spp.: co-existence with OXA-58 in multiple centers. *J Antimicrob Chemother* 2006;58:537-42.

- [13] Zarrilli R, Crispino M, Bagattini M, Barretta E, Popolo AD, Triassi M, et al. Molecular epidemiology of sequential outbreaks of *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit shows the emergence of carbapenem resistance. *J Clin Microbiol* 2004;42:946-53.
- [14] Zarrilli R, Casillo R, Di Popolo A, Tripodi MF, Bagattini M, Cuccurullo S, et al. Molecular epidemiology of a clonal outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a university hospital in Italy. *Clin Microbiol Infect* 2007;13(5):481-9.
- [15] 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.
- [16] Shaw K, Rather J, Hare PN, Miller G H. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiol Rev* 1993;57:138-63.
- [17] Nemec A, Dolzani L, Brisse S. Diversity of aminoglycoside- resistance genes and their association with class 1 integrons among strains of pan-European *Acinetobacter baumannii* clones. *J Med Microbiol* 2004;53:1233-40.
- [18] Naas T, Coignard B, Carbonnet A. VEB-1 extended-spectrum b-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii*, France. *Emerg Infect Dis* 2006;12:214-22.
- [19] Van Looveren M, Goossens H, ARPAC Steering Group. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:684-704.
- [20] Poirel L, Nordmann O. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol Infect* 2006;12:826-36.