

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، سیدغلامعباس موسوی^۵، احمد قاسمی^۶، سحرناز حاج آقازاده^۷

خلاصه

سابقه و هدف: گونه های اسینتوباکتر کوباسیل 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 بیوشیمیایی 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، توبرامیسین، سفنازیدیم، سیپروفلوکساسین، پیراسیلین/تازوباکتام، داکسی سیکلین، تری متوپریم/سولفامتوکسازول، مینوسیکلین، لوفلوکساین، ایمی پنم و سولباکتام/ آمپی سیلین نشان دادند. مقاومت به چند آنتی بیوتیک ۶۶/۷ درصد بود. میزان شناسایی ژن های *aphA6*، *aacC1*، *ADC-7*، *OXA SET C*، *aadA1* و *aadB* به ترتیب ۳۹ (۶۵ درصد)، ۳۸ (۶۳/۳ درصد)، ۳۴ (۵۶/۷ درصد)، ۳۲ (۵۳/۳ درصد)، ۲۵ (۴۱/۷ درصد) و ۲ (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، توبرامیسین و سفنازیدیم نشان دادند. آنالیز ژنتیکی وجود ژن های *aphA6*، *aacC1* و *ADC-7* را در اکثر سویه ها و همچنین نقش *aphA6* را در بروز مقاومت به آمیکاسین، جنتامیسین، و کانامیسین نشان داد. ژن *aacC1* در بروز مقاومت به جنتامیسین، 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 مسوول: رضوان منیری

- ۱- کارشناسی ارشد میکروب شناسی گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی دانشگاه علوم پزشکی کاشان
- ۲- دانشیار گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان
- ۳- دانشیار گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان
- ۴- مسوول بخش مولکولی مرکز تشخیص سازمان دامپزشکی کشور
- ۵- مربی گروه بهداشت عمومی و آمار دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی کاشان
- ۶- کارشناسی ارشد میکروب شناسی گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان
- ۷- کارشناس بخش مولکولی مرکز تشخیص سازمان دامپزشکی کشور

تلفن: ۰۳۶۱ ۵۵۵۰۰۲۱

دورنویس: ۰۳۶۱ ۵۵۵۱۱۱۲

پست الکترونیک: moniri@kaums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۷/۸/۱۵

تاریخ پذیرش نهایی: ۸۷/۱۱/۳

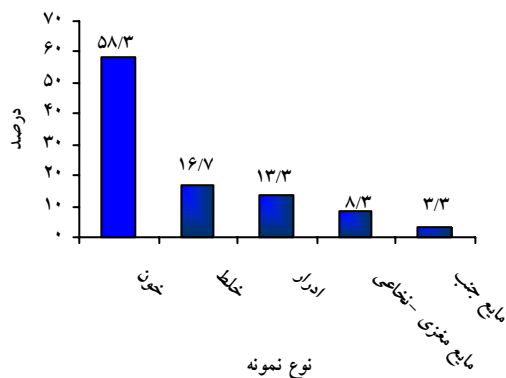
مقدمه

گونه‌های اسیتوباکتر، کوکوباسیل های گرم منفی، غیر تخمیری و هوازی بوده که به طور وسیعی در محیط بیمارستان پراکنده و پاتوژن‌های مهم فرصت طلب و مسئول عفونت های بیمارستانی مختلفی می‌باشند [۱]. اسیتوباکتر بمانی توانایی زیادی برای توسعه سریع مقاومت آنتی بیوتیکی داشته که منجر به مقاومت چند دارویی شده است [۲]. در حال حاضر، تعدادی از سویه های اسیتوباکتر بمانی نسبت به همه عوامل ضد میکروبی در دسترس، مقاوم شده اند [۳]. مکانیسم های ایجاد مقاومت از طرق مختلفی صورت می‌گیرد. سویه‌های مقاوم مجموعه‌ای از ژن های کد کننده مقاومت نسبت به چند خانواده آنتی بیوتیکی، را در آن واحد حمل می‌کنند [۴-۶]. درمان عفونت‌های اسیتوباکتر اغلب در مواردی که فنوتیپ‌های مقاومت، چند دارویی است مشکل می باشد. در حال حاضر کاربایتم‌ها به عنوان داروی انتخابی در درمان عفونت-های اسیتوباکتر مقاوم به چند دارو، استفاده می گردد. هرچند، مقاومت به کاربایتم نیز رو به افزایش می‌باشد [۷-۱۳]. با ظهور و افزایش سویه های مقاوم، درمان عفونت‌های ناشی از اسیتوباکتر، به عنوان مشکل مهم بهداشتی در بسیاری از کشورها مورد توجه می باشد. شیوع عفونت های بیمارستانی با کلون‌های انتخابی اسیتوباکتر بمانی مقاوم به چند دارو در جهان گزارش شده است [۱۴]. انتقال ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی از طریق کروموزومی، پلاسمیدها و ترانسپوزن‌ها انجام می‌پذیرد. مقاومت به آمینوگلیکوزیدها توسط ژن‌های *aacC1* (استیل ترانسفرازی را کد می کند که باعث مقاومت به جنتامیسین می شود)، ژن *aadA1* (آدنیل ترانسفرازی را کد می‌کند که باعث مقاومت به استرپتومایسین و اسپکتینومایسین می‌شود)، ژن *aadB* (آدنیل ترانسفرازی را کد می‌کند که باعث مقاومت به جنتامیسین، توبرامایسین و کانامایسین می‌شود) و ژن *aphA6* (فسفوترانسفرازی را کد می‌کند که باعث مقاومت به جنتامیسین، آمیکاسین، کانامایسین و نئومایسین می‌شود). مقاومت به پنی سیلین ها و سفالوسپورین ها از طریق آنزیم بتالاکتامازی است که توسط ژن *ADC7* و یا ژن *OXAset* کد می‌گردد [۱۵]. با توجه به عدم آگاهی نسبت به میزان شیوع عفونت های ناشی از اسیتوباکتر 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 گونه‌های اسیتوباکتر جدا شده از بیماران بستری بودند.

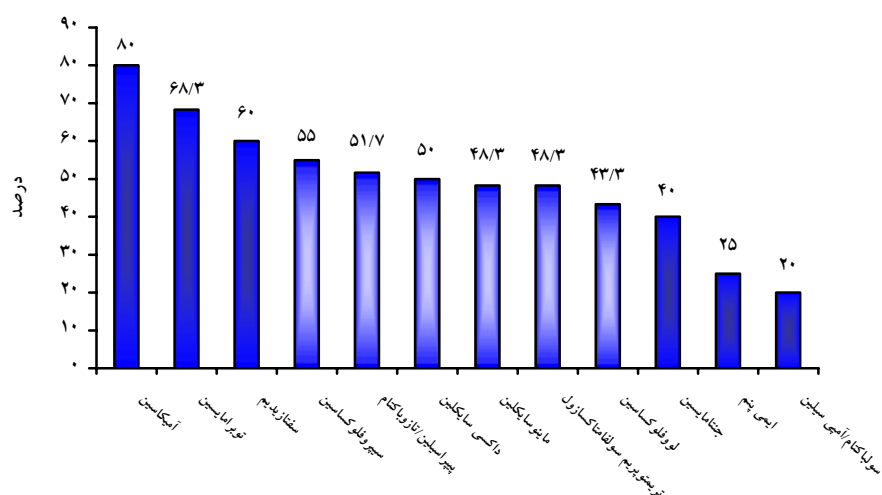
مواد و روش ها

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 ۸۷-۱۳۸۶ انجام پذیرفت. از محیط مک کانکی آگار و بلاد آگار حاوی ۵ درصد خون گوسفند برای جداسازی اولیه باکتری استفاده گردید. نمونه ها در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید. ۶۰ سویه‌ی اسیتوباکتر از ۴۰۰ نمونه ایزوله گردید. با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی استاندارد گونه های اسیتوباکتر تعیین هويت گردید. از سویه‌های استاندارد اسیتوباکتر بومانی (11B) ATCC_{۹۹۰۶} و اسیتوباکتر لوفلی ATCC_{TYPE STRAIN(13A)} از آزمایشگاه رفرانس تهران به عنوان کنترل استفاده گردید. با استفاده از دیسک‌های ایمپی پنم (10μg)، سیپروفلوکساسین (5μg)، لوفلوکساسین (5μg)، سفنازیدیم (30μg)، داکسی-سایکلین (30μg) و ماینوسایکلین (30μg) پپراسیلین/تازوباکتام (100/10μg)، سولباکتام/آمپی سیلین (10/10μg)، آمیکاسین (30μg)، جنتامایسن (10μg)، تری مستوپریم / سولفامتازول (1.25/23.75μg)، توبرامایسین (10μg)، تهیه شده از شرکت بکتون دیکینسون با روش دیسک دیفیوژن طبق معیار CLSI فنوتیپ مقاومت تعیین گردید. ایزوله های اسیتوباکتر که به سه یا بیش از سه رده آنتی بیوتیکی شامل کینولون‌ها (سیپروفلوکساسین)، سفالوسپورین های وسیع‌الطیف (سفنازیدیم، سفپیم)، ترکیب بتالاکتام/ مهارکننده بتالاکتاماز (آمپی سیلین/سالباکتام)، آمینوگلیکوزیدها (آمیکاسین، توبرامایسین)، و کاربایتم‌ها (ایمی پنم، مروپنم) مقاومت نشان دادند به عنوان سویه‌های مقاوم به چند دارو (MDR) تعریف گردید. ژنوتایپ ایزوله‌ها 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 ژن‌های هدف را نشان می‌دهد. پرایمرهای مورد استفاده از شرکت بایونیر کشور کره تهیه شد. مواد و حجم مورد نیاز برای واکنش PCR به شرح زیر ۱۵ میکرولیتر آب عاری از آنزیم DNase، ۲۵ میکرولیتر بافر آنزیم Taq پلی‌مراز، ۲/۵ میکرولیتر پرایمر Sense، ۲/۵ میکرولیتر پرایمر anti Sense و ۵ میکرولیتر از نمونه بود. برنامه زمان بندی مورد استفاده برای PCR، شامل ۳۵ سیکل: ۱۵ دقیقه در ۹۳°C، ۳۰ ثانیه در ۹۵°C برای دناتوره کردن، ۱ دقیقه در درجه حرارت-های اختصاصی پرایمرهای مربوطه (جدول ۱) برای آنیله نمودن و ۱۰ دقیقه در ۷۲°C برای سنتز بود. در هر مرحله از اسیتوباکتر

اسیتوباکتر بمانی ۳۲ سویه (۶۶/۷ درصد) نسبت به چند دارو مقاوم بودند. جدول ۴ توزیع فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی برحسب ژن های مقاومت و نوع آنتی بیوتیک را نشان می دهد. از ۳۹ گونه ی 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 ی اسیتوباکتر دارای ژن *aacCI* مشاهده گردید. از ۳۴ گونه ی 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 ی اسیتوباکتر حاوی ژن *OXA SET C* مشاهده شد.



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



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

بومانی، اسیتوباکتر لوفلی، انتروکوک فکالینس و نمونه آب عاری از آنزیم DNase به عنوان کنترل استفاده گردید. سپس محصول PCR در ژل آگارز ۲ درصد قرار گرفته، با اتیدیوم پروماید 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 ی 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 $19/2 \pm 39/3$ سال بود. از کل سویه ها، ۳۵ نمونه از خون (۵۸/۳ درصد)، ۱۰ نمونه از خلط (۱۶/۷ درصد)، ۸ نمونه از ادرار (۱۳/۴ درصد)، ۵ نمونه از مایع مغزی نخاعی (۸/۳ درصد)، و ۲ نمونه از مایع جنب (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 عفونی بود. ۴۸ سویه (۸۰ درصد) اسیتوباکتر بمانی، ۶ سویه (۱۰ درصد) اسیتوباکتر لوفلی 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

جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده، توالی پرایمرها، درجه حرارت اتصال و ژن های هدف برای شناسایی ژن های تولید کننده بتالاکتاماز و مقاومت به

آمینوگلیکوزید ها در ۶۰ گونه اسپیتوباکتر 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	ATGCGATTTAAAAAAATTTCTTGT TTATTTCTTTATTGCATTCAG	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	ACAGAARTATTTAAGTGGG3 GGTCTACAKCCMWTCCECA	۴۷	blaOXA-51, blaOXA-58, blaOXA-64, blaOXA-69, blaOXA-70, blaOXA-71, blaOXA-75, blaOXA-78
aacC1-5' aacC1-3'	ATGGGCATCATTCGCACATGTAGG TTAGGTGGCGGTACTIONTGGGTC	۶۴	aacC1
aadA1-5' aadA1-3'	ATGAGGGAAGCGGTGATCG TTATTTGCCGACTACCTTGGTG	۶۲	aadA1
aadB-5' aadB-3'	ATGGACACAACGCAGGTCGC TTAGGCCGCATATCGCGACC	۶۸	aadB
aphA6 FOR aphA6 REV	ATGGAATTGCCCAATATTATTC TCAATTCATCAAGTTTA	۵۵	aphA6

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

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

مقاوم	حد واسط	حساس	الگوی حساسیت و مقاومت	
			نوع آنتی بیوتیک	تعداد(درصد)
(۸۰,۰)۴۸	(۱۳,۳)۸	(۶,۷)۴	آمیکاسین (۳۰ μg)	
(۶۸,۳)۴۱	(۲۱,۷)۱۳	(۱۰)۶	توبراماسین (۱۰ μg)	
(۶۰,۰)۳۶	(۲۳,۳)۱۴	(۱۶,۷)۱۰	سفتازیدیم (۳۰ μg)	
(۵۵)۳۳	(۳۸,۳)۲۳	(۶,۷)۴	سیپروفلوکساسین (۵ μg)	
(۵۱,۷)۳۱	(۱۶,۷)۱۰	(۳۱,۷)۱۹	پی پیراسیلین/تازوباکتام (۱۰/۱۰۰ μg)	
(۵۰)۳۰	(۴۱,۷)۲۵	(۸,۳)۵	داکسی سایکلین (۳۰ μg)	
(۴۸,۳)۲۹	(۴۵,۰)۲۷	(۶,۷)۴	مانوسایکلین (۳۰ μg)	
(۴۸,۳)۲۹	(۴۱,۷)۲۵	(۱۰)۶	تریمتوپریم/سولفامتوکسازول (۱,۲۵/۲۳,۷۵ μg)	
(۴۳,۳)۲۶	---	(۵۶,۷)۳۴	لوفلوکساسین (۵ μg)	
(۴۰)۲۴	(۱,۷)۱	(۵۸,۳)۳۵	جنتامایسین (۱۰ μg)	
(۲۵)۱۵	(۱,۷)۱	(۷۳,۳)۴۴	ایمی پنم (۱۰ μg)	
(۲۰)۱۲	(۱۶,۷)۱۰	(۶۳,۳)۳۸	سولباکتام/آمپی سیلین (۱۰/۱۰ μg)	

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

اسپیتوباکتر جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان شهید بهشتی کاشان

نوع ژن	مثبت		منفی	
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
aphA6	(۶۵)۳۹	(۳۵)۲۱		
aacC1	(۶۳,۳)۳۸	(۳۶,۷)۲۲		
ADC7	(۵۶,۷)۳۴	(۴۳,۳)۲۶		
OXAset	(۵۳,۳)۳۲	(۴۶,۷)۲۸		
aadA1	(۴۱,۷)۲۵	(۵۸,۳)۳۵		
aadB	(۳,۳)۲	(۹۶,۷)۵۸		

نسبت به جنتامایسین می شود. ژن ADC7، آنزیم بتالاکتاماز را کد می کنند که باعث بروز مقاومت نسبت به پنی سیلین ها و سفالوسپورین ها می گردد. ژن OXAset، آنزیم بتالاکتاماز را کد می کنند که باعث بروز مقاومت

ژن *aphA6* فسفو ترانسفرازی را کد می کند که باعث بروز مقاومت نسبت به جنتامایسین، آمیکاسین، کانامایسین و نئومایسین می شود. ژن *aacC1* استیل ترانسفرازی را کد می کند که باعث بروز مقاومت

نسبت به پنی سیلین ها و سفالوسپورین ها می‌گردد. ژن *aadA1* آدنیل ترانسفرازی را کد می‌کند که باعث بروز مقاومت نسبت به استرپتومایسین و اسپکتینومایسین می‌شود. ژن *aadB* آدنیل ترانسفرازی را کد می‌کند که

باعث بروز مقاومت نسبت به جتامایسین، توبرامایسین و کانامایسین می‌شود.

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

نوع ژن	تعداد کل سویه های مقاوم												آنتی بیوتیک	
	۱۲	۱۵	۲۴	۲۶	۲۹	۲۹	۳۰	۳۱	۳۳	۳۶	۴۱	۴۸		
سالیکتام / آمپی سیلین	۱۱	۱۲	۲۳	۲۴	۲۴	۲۴	۲۳	۲۵	۲۶	۳۰	۲۲	۳۲	نوع ژن <i>aphA6</i> <i>aacC1</i> <i>ADC7</i> <i>OXaset</i> <i>aadA1</i> <i>aadB</i>	بیماران کل ژن های مثبت
ایمی پنم	۷	۹	۲۰	۲۱	۱۹	۲۱	۸	۲۱	۲۶	۲۵	۲۳	۳۱		
جتتامایسین	۱۱	۱۲	۲۴	۲۴	۲۵	۲۴	۲۱	۲۶	۲۵	۳۰	۱۷	۲۹		
لوفلوکساسین	۸	۹	۲۲	۲۳	۲۰	۲۱	۱۷	۲۴	۲۳	۲۵	۱۵	۲۶		
تریپتوپریم / سوفلوکسازول	۶	۸	۱۲	۱۳	۱۴	۱۳	۱۴	۱۵	۱۴	۱۷	۱۸	۲۲		
ماینوسایکلین	۱	۱	۱	۱	۲	۱	۱	۲	۱	۲	۱	۲		
داکسی سایکلین														
بی پراسیلین / تازویاکتام														
سیپروفلوکساسین														
سفتازیدیم														
توبرامایسین														
آمیکاسین														

بحث

درصد از آن ها نسبت به سفالوسپورین های با طیف وسیع، ۴۹ درصد به آمپی سیلین/سولباکتام، ۲۰ درصد به ایمی پنم، و ۸۱ درصد حداقل به یکی از آمینو گلیکوزید ها (آمیکاسین یا توبرا-مایسین) 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 کمترین 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 های دارای ژن *OXaset* نسبت به آمیکاسین و ۷۸/۱ درصد به سفتازیدیم مقاوم بودند. ۸۸ درصد سویه های دارای ژن *aadA1* به آمیکاسین مقاوم بودند. در مطالعه Hujer و همکاران فراوانی ژن *blaADC* ۹۹ درصد، *blaOXA-like* ۹۷ درصد، *aacC1* ۵۶ درصد، *apha6* ۷۱

هدف از انجام این مطالعه تعیین ارتباط فنوتیپ مقاومت و شاخص های ژنتیکی آن در گونه های استینوباکتر بود. ویژگی مطالعه ما در این بود که عفونت های خونی شایع ترین منبع کلینیکی گونه های استینوباکتر بود و بیشتر بیماران حین نمونه گیری دارای کاتتر وریدی بودند. شایع ترین گونه جدا شده در این مطالعه استینوباکتر بمانی بود و بیشترین میزان مقاومت دارویی نسبت به آمیکاسین و توبرامایسین و کمترین مقاومت به ایمی پنم و سپس آمپی سیلین/سولباکتام مشاهده شد. میزان بروز مقاومت چند دارویی در مطالعه ما بالا بود. یکی از خصوصیات مهم گونه های استینوباکتر مقاومت به چند آنتی بیوتیک بوده که مشکلات زیادی را در درمان عفونت های بیمارستانی ایجاد می نماید. در بین کشورهای مختلف، تفاوت زیادی در میزان مقاومت به آنتی-بیوتیک های 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 استینوباکتر جدا شده از بیماران نظامی و غیر نظامی جنگ عراق و افغانستان، ۱۵ درصد سویه ها به همه ۹ آنتی بیوتیک مورد آزمایش، و ۸۹ درصد ایزوله ها حداقل به سه کلاس آنتی بیوتیکی 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 سفنازیدیم 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 اسیتوباکتر 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 اسیتوباکتر 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 اسیتوباکتر مطابقت دارد [۱۶]. Nemec و همکاران با استفاده از PCR، بر روی ژن های مقاومت به آمینوگلیکوزید ها در ۱۰۱ سویه ی اسیتوباکتر 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 اسیتوباکتر بمانی در مراکز بیمارستانی می باشد [۲۰-۱۷]. از راه های ایجاد مقاومت ضد میکروبی انتقال ژن های مقاومت از طریق کانزوگیشن، پلاسمیدها و ترانسپوزن ها را می توان نام برد. مطالعات متعددی درباره ی ترانسپوزن های درون کروموزومی که ناقل ژن های مقاومت به چند آنتی بیوتیک می باشند نیز انجام شده است [۱۷، ۱۹].

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] NaasT, 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] Nemeč A, Dolžani 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.