ORIGINAL ARTICLE

Antibiotic-resistance Patterns and Frequency of TEM and CTX Type Extended-spectrum β-lactamases in Acinetobacter Clinical Isolates

Mohammad Ahanjan[1],
Soudeh Kholdi[2],
Alireza Rafiei[3]

[1] Assistant Professor, Department of Microbiology, Antimicrobial Resistant Nosocomial infection Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] MSc in Microbiology, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Professor, Department of Immunology, Molecular & Cell-Biology Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received March 4 , 2013 ; Accepted August 5 , 2014)

Abstract

Background and purpose: Acinetobacter has emerged as a significant opportunistic pathogen responsible for nosocomial infections. Treatment of infections due to this organism is becoming a serious clinical concern and this bacterium is frequently resistant to multiple classes of antibiotics such as family of β-lactam drugs. β-lactamases enzyme represent the main mechanism of bacterial resistance to β-lactam antibiotics. This study was conducted to determine the prevalence of TEM-1and CTX β-lactamases in acinetobacter isolates collected from two teaching hospitals in Sari (north of Iran).

Material and Methods: This study included 100 acinetobacter isolates that were collected from various clinical specimens. Susceptibility of isolates toward the antibiotics was determined by standard disk diffusion method. ESBL production was determined by the combination disk method. Using disks containing ceftazidime and cefotaxime alone and in combination with Clavulanic acid and TEM and CTX types of ESBL producing genes was detected by PCR test .

Results: Among all acinetobacter isolates, the highest resistance was seen for cefotaxime (100%) and ceftazidim (100%), whereas the highest susceptibility was observed for colistin (65%). Combined Disc Test showed that 24% of isolates were ESBL positive and among them 79.1% and 31.5% were positive for bla_{TEM} and bla_{CTX} genes. TEM-1and CTX β-lactamases in acinetobacter isolates

Conclusion: According to this study the drug-resistance pattern in acinetobacter isolates was seen in 24% of TEM and CTX which were β lactamas producers. Thus, other mechanisms such as secretory pump, purines, and biofilm formation could have a role in drug resistance.

Keywords: Acinetobacter, ESBL, Antimicrobial Resistant, bla_{TEM},bla_{CTX}

J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(116): 32-40 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و چهارم شماره ۱۱۶ شهریور سال ۱۳۹۳ (۴۰-۳۲)

بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و شیوع بتالاکتاماز های وسیع الطیف تیپ TEM و CTX در ایزوله های اسینتوباکتر جداشده از نمونه های بالینی

محمد آهنجان[1]
سوده خلدی[2]
علیرضا رفیعی[3]

چکیده

سابقه و هدف: اسینتوباکتر به عنوان پاتوژن مهم فرصت طلب در بروز عفونت‌های بیمارستانی نقش دارد. این باکتری غالباً به چندین کلاس از آنتی‌بیوتیک ها مانند بتالاکتام ها مقاومت دارد. این مطالعه به منظور تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و شیوع ژن های بتالاکتامازی TEMو CTX در اسینتوباکتر جدا شده از بیمارستان‌های آموزشی شهرستان ساری انجام گرفت.

مواد و روش ها: این مطالعه بر روی ۱۰۰ اسینتو باکتر که از نمونه‌های بالینی مختلف جمع‌آوری شد انجام گرفت. حساسیت نسبت به آنتی بیوتیک‌ها باروش کربی– بائر تعیین شد. برای شناسایی مولد بتالاکتاماز از روش دیسک ترکیبی استفاده شد. برای بررسی ژنتیکی ژن‌های بتالاکتامازی TEMو CTX با روش PCR انجام گرفت. شاخص‌های آماری با کمک نرم افزار SPSS محاسبه شد و از تست آماری کای دو، برای تحلیل یافته‌ها استفاده شد. مقادیر P <۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها: نتایج به دست آمده نشان داد که بیش‌ترین مقدار مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم (۱۰۰درصد)، سفتازیدیم (۱۰۰درصد) در حالی که که کلسیتین با (۶۵ درصد) بیش‌ترین مقدار حساسیت را نشان داد. نتایج نشان داد که ۲۴درصد از ایزوله‌ها مولد ESBL بوداند و فراوانی ژن‌های TEMو CTX به ترتیب ۷۹/۱ و ۳۷/۵ تعیین گردید.

استنتاج: بررسی این مطالعه نشان داد که که میزان مقاومت دارویی اسینتوباکتر تنها در ۲۴ درصد از ایروله های دارای CTM و TE-M که مربوط به کلاس بتالاکتامازی هستند مشاهده شده است. لذا مکانیزم‌های دیگری هم‌چون پمپ‌های ترشحی، پورین‌ها وتشکیل بیوفیلم در ایجاد مقاومت دارویی نقش ایفا کنند.

واژه های کلیدی: اسینتوباکتر، ESBL ، مقاومت آنتی بیوتیکی، بتالاکتاماز

مقدمه

امروزه ایجاد مقاومت‌های دارویی در باکتری‌های بیماری‌زا نسبت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها، نقشی مهم و اساسی در عدم کنترل و درمان عفونت‌های باکتریایی دارند و به عنوان یک نگرانی عمده در جوامع بشری

مولف مسئول: سوده خلدی– دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی پزشکی ، کمیته تحقیقات دانشجویی ،دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی مازندران ، ساری ، ایران
E-mail: hofaab@yahoo.com

۱. گروه میکروب شناسی، مرکز تحقیقات عفو نت های بیمارستانی مقاوم به درمان ، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری ، ایران
۲. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی پزشکی ، کمیته تحقیقات دانشجویی ،دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی مازندران ، ساری ، ایران
۳. گروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی ومولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت : ۱۳۹۲/۱۲/۱۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۲/۱۲/۲۵ تاریخ تصویب : ۱۳۹۳/۵/۱۴

مطرح می‌باشند(۱). اسینتوباکتر یکیاز باکتری‌های گرم منفی است که به این شیوه نسبت به آنتی بیوتیک‌ها مقاومت کسب می‌کند و به عنوان پاتوژن فرصت طلب در بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه عامل مهمی در پیدایش عفونت‌های بیمارستانی و عفونت‌هایی هم‌چون پنومونی، مننژیت، عفونت دستگاه ادراری، باکتریمی و عفونت زخم در سوختگی، همراه با مقاومت چندگانه دارویی می باشد(۱۵، ۱۶).

آنتی بیوتیک های خانواده بتالاکتام ازجمله مهمترین این داروها می باشند که به طور گسترده در درمان استفاده می شود و راه کار باکتری‌ها به خصوص باکتری‌های گرم منفی برای مقابله با آنان تولید آنزیم‌های بتالاکتامازی است(۲). مصرف بی‌رویه این آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به ایجاد گروهی دیگر از آنزیم‌های بتالاکتامازی به نام بتالاکتامازهای طیف گسترده شده است. این آنزیم ها بر اساس ویژگی‌های ساختاری به ۴ گروه A، B، C، D تقسیم شده که گروه‌های A، B، C، D بر اساس مکانیسم سرین عمل کرده در حالی که گروه B برای انجام عملکرد خود نیازمند عنصر روی می‌باشد و متالوبتالاکتاماز محسوب می‌شود. از مهم‌ترین ESBL هایی که مورد بررسی قرار گرفته‌اند شامل SHV، TEM، CTX، PER و GES می باشند(۳، ۴). TEM1 اولین بار در سال ۱۹۶۰ به عنوان اولین آنزیم بتالاکتامازی در باکتری‌های گرم منفی که انتقال آن به واسطه پلاسمید صورت می‌گیرد از کشت خون یک بیمار به نام Temoniera در یونان مورد شناسایی قرار گرفت. با جایگزینی اسیدهای آمینه مختلف در جایگاه فعال این آنزیم انواع مختلفی از بتالاکتاماز TEM۱ به وجود آمده تا جایی که تاکنون بیش از ۱۰۰ نوع آنزیم TEM مورد شناسایی قرار گرفته‌اند که شیوع آن‌ها در نواحی مختلف متفاوت گزارش شده است(۷-۵). CTXM نیز گروهی دیگراز ESBL ها هستند که اولین بار در سال ۱۹۸۹در کشور آلمان شناسایی شدند. آن‌ها به پنج گروه $CTXM_1$، $CTXM_2$، $CTXM_8$، $CTXM_9$ و $CTX\ M_{25}$تقسیم بندی می‌شوند(۸) که تیپ $CTX\ M_1$ به عنوان شایع‌ترین تیپ در ایران مورد بررسی قرار گرفته است(۹، ۱۰).

این آنزیم‌ها باعث ایجاد مقاومت به پنی‌سیلین و طیف وسیعی از سفالوسپورین‌های نسل سوم مانند سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون و مونوباکتام ها مثل آزوترئونام می‌شوند. اما در عین حال مقاومت به سفامایسین و کرباپنم ها درآن ها وجود ندارد. عواملی هم‌چون کلاولونیک اسید، تازوباکتام و سولباکتام با اثر بازدارندگی منجر به مهار عملکرد این آنزیم ها می گردند(۱۱، ۱۲). بررسی‌ها نشان دادند که ژن‌های حمل کننده این آنزیم ها می توانند بر روی عناصر ژنتیکی متحرک هم‌چون پلاسمید، ترانسپوزون و اینتگرون قرار گرفته و به دین واسطه به راحتی از یک سویه به سویه‌ای دیگر منتقل می شوند(۱۳). از آن‌جا که شیوع مقاومت‌های دارویی رو به افزایش است و درمان بیماران، به خصوص بیماران بستری در بیمارستان‌ها را به تعویق انداخته است، تحقیق در جهت شناسایی و درمان عفونت‌های ناشی از گونه‌های اسینتوباکتر مقاوم به آنتی بیوتیک های خانواده بتالاکتام در بیمارستان‌های آموزشی شهرستان ساری انجام گرفت تا به دین وسیله راه کارهایی در استفاده صحیح ازانواع آنتی‌بیوتیک‌ها در معالجه بیماران صورت گرفته و ایجاد مقاومت های دارویی به حداقل ممکن برسد.

مواد و روش ها

در این مطالعه توصیفی- مقطعی تعداد ۱۰۰ نمونه باکتری اسینتوباکتر بر اساس فرمول حجم نمو نه و بررسی مطالعات قبلی در فاصله زمانی آبان ۹۱ تا خرداد ۹۲ از بیمارستان سوانح و سوختگی زارع و سایر بیمارستان‌های آموزشی شهرستان ساری جمع آوری شد. نمونه‌ها شامل نمونه زخم سوختگی (۴۸درصد)، لوله تراشه (۲۰درصد)، سایر زخم ها (۱۷درصد)، ادرار (۷درصد)، خون (۵ درصد) و خلط (۳درصد) بوده است

کـه از بخـش‌هـای مختلـف بیمارسـتان‌هـا جمـع آوری گردید. بعد از انتقـال نمونـه هـا بـه آزمایـشگاه و کـشت روی محیط بلاد آگار و مک کانکی آگار، انکوباسـیون به مدت ۲۴ سـاعت انجـام گرفـت. در صـورت مـشاهده رشـد، بـاکتری هـا در رنـگ آمیـزی گـرم بـه شـکل کوکوباسـیل‌هـایی گـرم منفـی قابـل مـشاهده بودنـد. در مرحله بعد در تست اکسیداز این باکتری هـا بـه صـورت اکسیداز منفی بودند. سپس بـه منظـور انجـام تـست‌هـای بیوشـیمیایی تکمیلـی، ایـن بـاکتری‌هـا در محـیط TSI، SIM، اوره و سیترات کشت داده شده و از لحاظ رشد یا عـدم رشـد در محـیط (Oxidative Fermentative) OFحاوی قند گلوکز مورد بررسی قرارگرفتند.

انجام تست حساسیت و مقاومـت آنتـی بـوتیکی بـه روش اسـتاندارد دیـسک دیفیـوژن (Baur- Kirby) و طبـق اسـتاندارد CLSI (Clinical and Laboratory Standards institute)انجـام گرفـت. بـرای ایـن منظـور سوسپانسیونی با غلظت نیم مک فارلند تهیه شد. سپس بـا استفاده از یـک سـواپ اسـتریل، از آن نمونـه برداشـته و روی محیط مولر هینتون به طور کامل پخش شد. سـپس دیسک های آنتی بیوتیک را روی محیط قرار داده و بعد از انکوباسـیون ۲۴ سـاعته نتـایج را بـر اسـاس جـدول استاندارد به اشکال حساس، مقاوم و حد واسط گـزارش مـی کنـیم. از دیـسک هـای آنتـی بیـوتیکی شـرکت ROSCO استفاده شد، که شامل موارد زیربودند:

سـفتازیدیم (۳۰ µg)، سفکـسیم (۳۰µg)، سفتریاکـسون (۳۰ µg)، سفوتاکـسیم (۳۰ µg) کولیسیتین (۱۱۰µg)، سفپیم (۳۰ µg)، جنتامایسین µg (۳۰)، آمیکاسـین (۳۰ µg)، ایمـی پـنم (۳۰ µg)، مـروپنم (۳۰ µg)، پیراکتـام (۳۰ µg) و توبرامایـسین (۱۰µg).

آزمون تشخیصی بتالاکتامازهای طیف گسترده

برای این منظور روش فنوتیپی combined Disk بـه کار برده شد. به این ترتیب که ابتدا غلظـت اسـتانداردی از باکتری در محیط مولرهینتون به صورت چمنی کشت داده مـی شـود. بعـد از آن از دیـسک‌هـای ترکیبـی سفتازیدیم و سـفتازیدیم– کلاولونیـک اسـید و دیـسک های سفوتاکسیم و سفوتاکسیم – کلاولونیـک اسـید بـه فاصله ۱۵ میلی متر از هم روی پلیت قرار داده می شـود. پس از ۲۴ ساعت انکوباسـیون در دمـای ۳۷ درجـه هالـه عدم رشد اطراف دیـسک حـاوی کلاولانیـک اسـید بـه عنوان مهار کننده آنزیم ESBL نسبت به همـان دیـسک به تنهایی سنجیده می‌شود به طـوری کـه اگـر هالـه عـدم رشـد اطـراف دیـسک‌هـای حـاوی کلاولانیـک اسـید بزرگ‌تر یا مساوی ۵ میلی‌متر نسبت به همان دیـسک بـه تنهایی باشد، سویه مورد نظر را می‌توان بـر طبـق CLSI، به عنوان مولد ESBL در نظر گرفـت. از سـویه کلبـسیلا پنومونیـه ATCC 700603 بـرای کنتـرل کیفـی آنتی‌بیوگرام استفاده شد.

در مرحله بعد DNA ژنـومی بـا اسـتفاده از روش از کیـت اسـتخراج شـده (شـرکت Bioneer، کـره) و بـا استفاده از پرایمرهای اختصاصی واکـنش PCR صـورت گرفـت. برنامـه دسـتگاه ترموسـایکلر بـرای بررسـی ژن TEM به این ترتیـب بـوده اسـت. دناتوراسـیون اولیـه در دمای ۹۴ درجه به مدت ۳ دقیقه می باشد. سـیکل اصـلی با ۳۵ بار تکرار شامل دناتوراسیون در ۹۴ درجه به مـدت ۱ دقیقه، اتصال پرایمرها در ۴۵ درجه به مـدت ۴۵ ثانیـه، تکثیردر ۷۲ درجه به مدت ۴۰ ثانیه، تکثیـر نهـایی در ۷۲ درجه به مدت ۷ دقیقه قرار گرفت. همچنین برای بررسی ژن CTX نیز از همین برنامه دمـایی اسـتفاده شـد بـا ایـن تفاوت که دمای اتصال پرایمر مورد نظـر روی۵۳ درجـه تنظیم شد. در نهایت محصولات تکثیر شده بـر روی ژل آگارز ۲درصد با ولتاژ ۹۵ به مدت ۳۰ دقیقه الکتروفورز شده و توسط سـایبرگرین رنـگ آمیـزی گـشت. سـپس توسط دستگاه آشکارساز ژل تحت تاثیر نور UV با طول مـوج ۲۳۰ نـانومتر بانـد هـای مربوطـه مـشاهده و عکس‌برداری شدند. در نهایت با استفاده از DNA الگـو کـه حـاوی قطعـاتی بـا وزن مولکـولی مـشخص اسـت

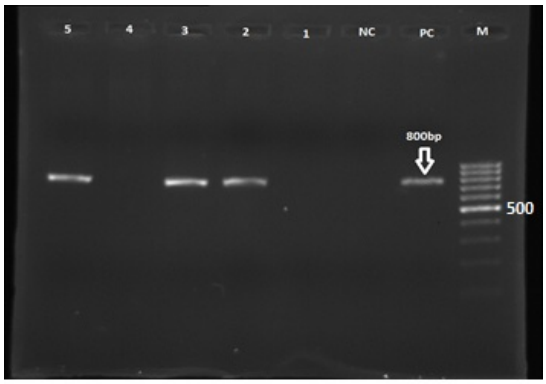
محصول شناسایی گردید. برای کنترل مثبت از باکتری Klebsiella pneumoniae 7881 استفاده شد که ذاتاً دارای ژن های مزبور می باشد.

یافته ها

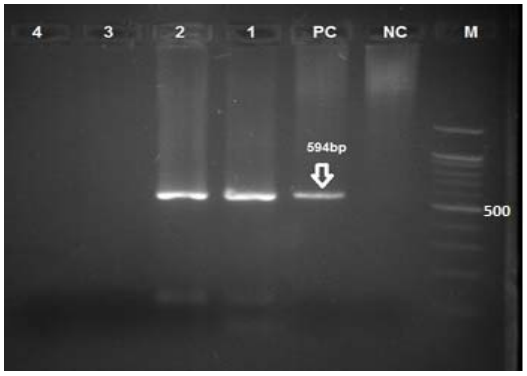
از مجموعه ۱۰۰ نمونه اسینتوباکتر تشخیص داده شده در آزمایشگاه بیش‌ترین نمونه‌ها به ترتیب شامل نمونه زخم سوختگی، زخم، لوله تراشه وخلط، ادرار و نمونه خون بودند. تمامی ایزوله ها از لحاظ تست های تشخیصی بیوشیمیایی دارای الگوی یکسانی بودند. همه آن ها از نظر تست اکسیداز و تولید گاز سولفید هیدروژن مثبت وتست اندول، حرکت، لیزین دکربوکسیلاز و اوره آز در آن ها منفی گزارش شد. این نمونه ها دارای توانایی اکسید نمودن قند گلوکز در محیط OF(Oxidative Fermentative) بوده و سیترات را به عنوان تنها منبع کربن مورد استفاده قرار داده و قادرند در محیط مک کانکی در دمای ۴۲ درجه رشد کنند. نتایج حاصل از تست آنتی بیوگرام به روش کربی- بائر بر روی نمونه‌ها نشان داد که از میان ۱۲دیسک آنتی‌بیوتیکی به کار برده شده بیش‌ترین مقاومت به ترتیب در برابر آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم (۱۰۰ درصد) و سفتازیدیم (۱۰۰ درصد) و سفتریاکسون (۹۶درصد) بوده و این در حالی است که بیش‌ترین حساسیت به ترتیب در برابر آنتی‌بیوتیک‌های کلیستین (۶۵ درصد) و جنتامایسین (۳۷ درصد) و توبرامایسین (۲۷درصد) بود (نمودار شماره ۲).

بر اساس نتایج حاصل از آزمون تأییدی Combined Disk، تعداد ۲۴ ایزوله تولید کننده ESBL بودند که این تعداد هم مربوط به نمونه‌هایی غیر از نمونه زخم سوختگی بودند. در آزمایش PCR از مجموع ۱۰۰ ایزوله، وجود قطعه مربوط به ژن TEMو CTX به ترتیب در ۷۹/۱ و ۳۷/۵ درصد ازایزوله‌ها مثبت وباعث تولید محصولاتی در اندازه‌های مورد انتظار شد که در الکتروفورز بر روی ژل آگارز به صورت باندهایی در محدوده‌های ۸۰۰ bp و ۵۹۴ bp آشکار شدند که با اطمینان ۹۵ درصد مورد بررسی قرار گرفتند.

نمودار شماره ۱: الگوی مقاومت ایزوله های اسینتوباکتر جدا شده از نمونه های بالینی نسبت به آنتی بیوتیک ها



تصویر شماره ۱: الکتروفورز محصول PCR ژن bla_{TEM} اسینتوباکتر در ژل آگارز PC= کنترل مثبت (کلبسیلا سویه 7881)،NC= کنترل منفی ۱و ۴= نمونه های منفی، ۲ و ۳ و۵ = نمونه های مثبت



تصویر شماره ۲: الکتروفورز محصول PCR ژن bla_{CTX} اسینتو باکتر در ژل آگارز PC= کنترل مثبت (کلبسیلا سویه 7881) ،NC= کنترل منفی ۱و ۲ = نمونه های مثبت، ۳ و ۴ = نمونه های منفی

جدول شماره ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در تکثیر ژن bla_{TEM} و bla_{CTX}

پرایمر	توالی پرایمر ´۳-´۵	اندازه محصول
TEM-F	GAGTATTCAACATTTCCGTGTC	800 bp
TEM-R	TAATCAGTGAGGCACCTATCTC	
CTX-MU1	ATGTGCAGTACCAGTAAGGT	594 bp
CTX-MU2	TGGGTAAAGTAGGTCACCAGA	

بحث

در مطالعه حاضر که بر روی ایزوله‌های اسینتوباکتر جداشده از نمونه‌های سوختگی و سایر نمونه‌های بالینی از بیمارستان‌های آموزشی شهرستان ساری صورت گرفت از نظر مقاومت آنتی‌بیوتیکی بیش‌ترین مقاومت در آنتی بیوتیک‌های سفوتاکسیم وسفتازیدیم و سفتریاکسون و بیش‌ترین حساسیت در آنتی‌بیوتیک‌های کلسیتین و جنتامایسین و توبرامایسین دیده شده هم‌چنین نتایج حاصل از بررسی ایزوله ها با روش دیسک ترکیبی نشان داد که ۲۴ درصد از کل نمونه‌ها ESBL مثبت می‌باشند و فراوانی ژن های بتالاکتامازی TEM و CTX طبق نتایج به دست آمده با روش PCR به ترتیب ۷۹/۱ و ۳۷/۵ درصد گزارش شد. در حالی که در مطالعه Smolyakov و همکاران که بر روی نمونه‌های اسینتوباکتر که دارای مقاومت چندگانه دارویی بودند انجام گرفت مشخص شد که ۹۳ درصد سویه‌ها به ایمیپنم و ۱۰۰ درصد سویه‌ها به کلسیتین، سولباکتام و آمپی‌سیلین حساس بودند(۱۶). در مطالعه دیگری که توسط Ayan و همکاران درکشور ترکیه بر روی ۵۲ ایزوله اسینتوباکتر انجام گرفت نتایج تست‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که کل ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های سفپیم، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، جنتامایسین، آزوترونام، پیپراسیلین، پیپراسیلین–تازوباکتام، تیکارسیلین مقاوم بودند و مقاومت به توبرامایسین و سیپروفلوکساسین، کوتریماکسازول و آمیکاسین به ترتیب ۵ درصد، ۸ درصد، ۶۶ درصد و ۷۴ درصد مشاهده گردید(۱۷). در مطالعاتی که در سال ۲۰۰۸ توسط خلت آبادی و همکاران در شهرستان کاشان انجام شد از مجموع ۴۰۰ نمونه جمع آوری شده از بیماران بستری در بیمارستان ۶۰ ایزوله اسینتوباکتر جدا شد که الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی درآن‌ها بیانگر این بود که بیش‌ترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین سفتازیدیم، جنتامایسین و سیپروفلوکساسین، تری متاکسازول وایمی پنم و بیش‌ترین حساسیت نسبت به آمیکاسین و سولباکتام وجود دارد و ۶۶/۷ از ایزوله ها دارای مقاومت به چند دارو بودند(۱۸) آمپی سولباکتام ها در گروه پنیسیلین‌ها قرار گرفته است که بیش‌تر در عفو نت‌های تنفسی و عفونت‌های ادراری کاربرد دارند که سولباکتام یک مهار کننده آنزیم‌های بتالاکتاماز هستند که موجب گسترش طیف اثر پنیسیلین‌ها می‌شوند. ممکن است سولباکتام ها به همراه امینوگلیکوزیدها تجویز شوند که در این صورت باید با فاصله زمانی مصرف گردند. هم‌چنین Azhar A.L و همکاران در سال ۲۰۱۳ در مطالعه‌ای که بر روی نمونه‌های بالینی شامل خلط، ادرار و زخم انجام دادند نشان دادند که تنها ۸/۳ درصد از ایزوله ها با روش PCR دارای ژن TEM بودند(۱۹). در بررسی دیگری که به وسیله ElifBurcu Bali و همکاران در سال ۲۰۱۰ در ترکیه انجام شد ۶۹/۱۴ درصد از نمونه‌ها به روش دابل دیسک سینرژی ESBL مثبت گزارش شده و تعداد ایزوله‌هایی که دارای ژن TEM و CTX به ترتیب ۷۳/۴۳ درصد و ۱۷/۱۸ درصدگزارش شدند(۲۰). در مطالعات دیگر در سال ۲۰۰۹ در چین بر روی نمونه‌های اسینتوباکتر جدا شده از بخش مراقبت‌های ویژه انجام گرفته میزان نمونه‌های TEM مثبت گزارش شده ۸۱/۵ درصد بودند که این میزان همانند مطالعه ElifBurcu Bali دارای شباهت نسبت به مطالعه ما بودند(۲۱). وفایی و همکاران نیز در سال ۱۳۹۱ در تهران میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های وسیع الطیف و شیوع ژن CTX را بر روی ۵۰۰ نمونه کلینیکی مورد بررسی قرار دادند که طبق یافته‌های آن‌ها ۲۰ درصد نمونه‌ها مولد ESBL و ۱۹درصد از نمونه‌ها

حامل ژن کد کننده بتالاکتامازی CTX-M بودند(۲۲). هم‌چنین در بررسی‌های انجام شده در سال ۲۰۰۶ در کشور بولیوی که روی ۶۰۴ نمونه بالینی انجام شده بود ۲۳/۴ درصد از نمونه‌ها ESBL مثبت گزارش شدند که از این تعداد میزان نمونه‌های مثبت برای ژن های TEM و CTX به ترتیب ۲۶/۱و۳۰/۴ درصد بوده است که دارای تشابه با مطالعه حاضر است(۲۳).

نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهد که میزان شیوع اسینتوباکتر در بیماران بستری در بیمارستان ها به خصوص بیمارستان سوختگی به شدت زیاد است. از طرفی نتایج حاصل از تست‌های آنتی‌بیوگرام میزان مقاومت چندگانه به آنتی بیوتیک‌ها را نشان می‌دهد. با توجه به این نکته که در سال‌های اخیر به دلایل مختلفی هم‌چون مصرف بی‌رویه داروها و تجویزهای تجربی و عدم بهره‌گیری از ابزارهای مناسب جهت کنترل عفونت، میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک های خانواده بتالاکتام به خصوص سفالوسپورین‌های نسل سوم که از جمله مهم‌ترین داروهای مورد استفاده در درمان عفونت‌های باکتریایی اند زیاد شده و نیز با توجه به این مطلب که ژن‌های مقاومت بتالاکتامازی اکثر توسط عناصر ژنتیکی همچون پلاسمید منتقل می گردند لذا انتشار این عناصر به سادگی از یک سویه به سویه دیگر صورت گرفته و می‌تواند به سادگی باعث انتشار مقاومت در بیمارستان یا هر محیط دیگر درمانی گردند. لذا توصیه می‌شود که در کنار تست‌های آنتی بیوگرام برای تشخیص مقاومت، تست‌های تکمیلی جهت تشخیص بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف نیز انجام پذیرد تا به دین وسیله هم کمک قابل توجهی به پزشکان در تشخیص نوع آنتی‌بیوتیک موثر تجویزی و متقابلا به بیماران در کاهش طول دوره بیماری وکاهش هزینه‌های درمان و به جامعه از طریق کاهش انتشار سوش‌های مقاوم به درمان باکتری‌ها شود. البته با توجه به پایین بودن درصد شیوع ESBL به خصوص در میان ایزوله‌های جدا شده از بیمارستان سوختگی در این تحقیق انتظار می‌رود علت بالا بودن مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به مکانیسم‌های دیگری از جمله پمپ‌های ترشحی، تشکیل بیوفیلم و نیز تغییر در پورین‌ها می باشند که باید مورد بررسی قرارگیرند.

سپاسگزاری

این مقاله تحقیقاتی حاصل پایان نامه دانشجویی کارشناسی ارشد میکرب‌شناسی می‌باشد. نویسندگان مقاله از معاونت محترم پژوهشی و مرکز تحقیقات بیولوزی سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی مازندران به خاطر تأمین هزینه ها و همکاری نهایت تشکر را دارند.

References

1. Zarrilli R, Pournaras S, Giannoli M, Athanassios T, et al. Global evolution of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii clonal lineages. Int J Antimicrob Agents. 2012; 41(1): 11-19.
2. Bush K. New b-Lactamases in Gram-Negative Bacteria: Diversityand Impact on the Selection of Antimicrobial Therapy. Clin Infec Dis. 2013; 32(7): 1085-1089.
3. Al- Zahrani AJ, Akhtar N. Susceptibility Patterns of Extended Spectrum ß-Lactamase (ESBL)- producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolated in a teaching hospital. Pakistan J Med Res 2005; 44(2):64-67.
4. Haward CH, Schooneveldt J, VanDaal A, Kelly G, Nimmo G, Giffard PH. Identification and Minisequencing-Based

Discrimination of SHV β-Lactamases in Nosocomial Infection-Associated Klebsiella pneumoniae in Brisbane, Australia. Antimicrob Agents Chemother. 2002; 46(3): 659–664.

5. Nordmann P, Guibert M. Extended - spectrum ß-lactamases in Pseudomonas aeruginosa. J Antimicrob Agent Chemother. 1998; 42(2): 128-131.
6. . Brun- Buisson C, Legrand P, Philippon A, Montravers F, Ansquer M, Duval J. Transferable enzymatic resistance to third generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant Kelbsiella pneumoniae. Lancet. 1987; 2(8554): 302-306.
7. Młynarczyk G1, Młynarczyk A, Bilewska A, Dukaczewska A, Goławski C, Kicman A ,et al.High effectiveness of the method with cefpirome in detection of extended-spectrum beta-lactamases in different species of gram-negative bacilli. Med Dosw Mikrobiol. 2006; 58(1): 59-65.
8. Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended- spectrum beta-lactamase-producing Organisms. J Hosp Infect. 2009. 73(4): 345-354.
9. Nematzadeh S. Nasehi L, Shahcheraghi F, Sadat Nikbin .PER, CTX-M, TEM and SHV Beta-lactamases in clinical isolates of klebsiella pneumoniae isolated from Tehran, Iran.Iranian J Basic Medi Scie. 2010; 13(3): 111-118.
10. Soltan Dalal MM, Mobasseri G, Mehrabadi JF, Eshraghian MR, Rastegar Lari A, Molla Aghamirzaei H ,et al. Detection of CTX-M-1 beta lactamase gene in Escherichia coli isolated from clinical samples by Polymerase Chain Reaction (PCR). Tehran Univ Med J. 2011 69(1): 16-21.
11. Jacoby GA, Medeiros AA. More extended spectrum β-lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 1991; 35(9): 1697-1704.
12. Rupp ME, Fey PD. Extended Spectrum β-Lactamase (ESBL)- Producing Enterobacteriaceae Considerations for Diagnosis, Prevention and Drug Treatment. Drugs. 2003; 63(4): 353-365.
13. Padmini SB ,Raju BA. Evaluation of CIVA agar for rapid detection of extended spectrum b- lactamases (ESBL) among isolates of Enterobacteriaceae. Indian J Med Res 2008; 127(2): 195-197.
14. Tripathi PC, Gajbhiye SR, Agrawal GN. Clinical and antimicrobial profile of Acinetobacter spp: An emerging nosocomial superbug. Adv Biomed Res . 2014;3:13.
15. Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii clonal lineages. Int J Antimicrob Agents. 2012; 41(1):11-19.
16. Smolyakov R, Borer A, Riesenberg K, Schlaeffer F, Alkan M, Porath A, et al. Nosocomial multi-drug resistant Acinetobacter baumannii bloodstream infection: risk factors and outcome with ampicillin- sulbactam treatment .J Hosp Infect 2003; 54(1): 32-38.
17. Ayan M1, Durmaz R, Aktas E, Durmaz B. Bacteriological, clinical and epidemiological characteristics of hospital-acquired Acinetobacter baumannii infection in a teaching hospital. J Hosp Infect . 2003; 54(1): 39-45.
18. FarahaniKheltabadi R, NazemShirazi MH Musavi GhA, Moniri R, Shajari Gh.Ghasemi A ,et al. Antimicrobial susceptibility patterns and the distribution of resistance genes among Acinetobacter species isolated from

patients in Shahid Beheshti hospital, Kashan. FEYZ J of kashan Univ Med Sci 2009; 12(4) :61-66 (Persian).

19. AL-Thahab AAL. Molecular Detection of Extended-Spectrum Beta- Lactamases in Clinical Isolates of Acinetobacter baumannii. Journal of Biology, Agriculture and Healthcare. 2013; 3(7): 32-39.
20. Bali E , Acik L,Sultan N. Phenotypic and molecular characterization of SHV, TEM, CTX-M and extended-spectrum beta-lactamase produced by Escherichia coli, Acinobacter baumannii and Klebsiella isolates in a Turkish hospital. Afr J Microbiol Res. 2010;4(8): 650-654.
21. Jin H. Xu XM, Mi ZH , Mou Y,Liu P. Drug-resistant gene based genotyping for Acinetobacter baumannii in tracing epidemiological events and for clinical treatment within nosocomial settings Chinese Medical Journal 2009; 122(3): 301-306.
22. Vafaei S, Mirnejad R, Amirmozafari N. Determining the Patterns of Antimicrobial Susceptibility and the Distribution of bla CTX-M Genes in Strains of Acinetobacter Baumanni Isolated from Clinical Samples. Journal of Isfahan Medical School. 2013; 31 (252): 1443-1445.
23. Celenza G, Pellegrini C, Caccamo M, Segatore B, Amicosante G, Perilli M. Spread of bla(CTX.M-type) and bla(PER-2) beta-lactamase genes in clinical isolates from Bolivian hospitals. J.Antimicrob Chemother 2006; 57(5): 975-978.