ORIGINAL ARTICLE

Frequency of MDR Acinetobacter baumannii and the Most Common OXA- type Genes in Multiple Drug-Resistant Strains Isolated from Patients in Tabriz Imam Reza Hospital

Farzaneh Ahmadi Khatiri[1],
Seyed Alireza Fahimzad[2],
Fatemeh Fallah[2],
Shahnaz Armin[3],
Leila Azimi[4]

[1] Pediatric Resident, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2] Professor, Pediatric Infection Research Center, Research Institute for Children's Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Associate Professor, Pediatric Infection Research Center, Research Institute for Children's Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[4] Assistant Professor, Pediatric Infection Research Center, Research Institute for Children's Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received June 23, 2019 ; Accepted June 22, 2020)

Abstract

Background and purpose: *Acinetobacter* is a pathogen that could cause nosocomial infections. The present study aimed at determining *Acinetobacter* cases in clinical cultures of patients hospitalized in Tabriz Imam Reza Hospital to determine the frequency of the most common oxa genes causing drug resistance in these specimens.

Materials and methods: In this descriptive cross-sectional study, clinical specimens including the blood, urine, tracheal secretions, ulcers, and throat specimens were collected from July to October 2017. The bacteria were isolated and identified using standard bacteriological methods. The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2016) guideline was used to determine bacterial susceptibility and resistance. Bacterial DNA extraction was done and the OXA genes (23, 24, 48, 58) were identified using specific primers and PCR method.

Results: We identified 66 (72.52) multiple drug-resistant (MDR) *Acinetobacter* strains. These isolates showed 100% resistance to cefepime, cefotaxime, piperacillin-tazobactam, and meropenem. In 100% of the samples, sensitivity to colistin was observed. According to findings, there was a significant relationship between the presence of oxa24 gene and resistance to tobramycin and amikacin (P= 0.005).

Conclusion: This study showed high rate of MDR *Acinetobacter* strains, so, nosocomial infection control is highly necessary. Strategies such as identifying infected patients, detecting bacterial colonization, sterilizing equipment and units, and controlling antibiotic use in the hospital are recommended to prevent the development of multidrug-resistant bacteria and to control nosocomial infections.

Keywords: *Acinetobacter*, antibiotic resistance, OXA genes

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 30 (187): 117-126 (Persian).

* **Corresponding Author: Farzaneh Ahmadi Khatiri** - Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
(E-mail: Ahmadikhatiri61@gmail.com)

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی ام شماره 187 مرداد سال 1399 (126-117)

بررسی شیوع ژن‌های *OXA* در *آسینتو باکترهای* با مقاومت چندگانه دارویی جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان امام رضا [ع] تبریز

فرزانه احمدی خطیری[1]
سید علیرضا فهیم زاد[2]
فاطمه فلاح[2]
شهناز آرمین[3]
لیلا عظیمی[4]

چکیده

سابقه و هدف: *اسینتوباکتر* پاتوژنی است که می‌تواند سبب شیوع عفونت‌های متنوع بیمارستانی شود. هدف از پژوهش حاضر یافتن موارد *اسینتوباکتر* در کشت‌های بیماران بستری در بیمارستان امام رضا(ع) تبریز و تعیین فراوانی شایع‌ترین ژن‌های *OXA* عامل مقاومت دارویی در این نمونه‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی- مقطعی که در بازه زمانی مرداد تا آبان ماه سال 1396 انجام شده است، تعداد 91 نمونه اسینتوباکتر جدا شده از نمونه‌های بالینی شامل خون، ادرار، ترشحات لوله تراشه، ترشحات زخم و نمونه ته حلق بیماران مورد بررسی قرار گرفت. باکتری‌ها با استفاده از روش‌های استاندارد باکتریولوژی، جداسازی و شناسایی شدند. برای تعیین حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی از آزمایش آنتی‌بیوگرام براساس clsi سال 2016 استفاده شده است. پس از استخراج DNA باکتری‌ها، شناسایی ژن‌های (۵۸،۴۸،۲۴،۲۳) *OXA* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و روش ملکولی PCR انجام شد.

یافته‌ها: از تعداد 91 اسینتوباکتر مورد مطالعه، 66 جدایه (72/52 درصد) دارای مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی (MDR) بودند. جدایه‌های با مقاومت انتی‌بیوتیکی چندگانه مقاومت 100 درصدی نسبت به سفپیم، سفوتاکسیم، پیپراسیلین-تازوباکتام، مروپنم نشان دادند. همه نمونه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک کلیستین حساس بودند. براساس یافته‌های پژوهش میان داشتن ژن *OXA*-24 و مقاومت به توبرامایسین و آمیکاسین ارتباط معنادار آماری وجود دارد (P=0/005).

استنتاج: با توجه به بالا بودن تعداد جدایه‌های با مقاومت چندگانه در این مطالعه، لزوم توجه به معیارهای کنترل عفونت بیمارستانی ضروری می‌باشد که توصیه می‌شود از راهکارهایی مانند شناسایی بیماران آلوده، یافتن منبع کولونیزاسیون باکتری، استریل کردن وسایل و بخش‌ها و کنترل مصرف آنتی‌بیوتیک در بیمارستان به منظور پیشگیری از ایجاد باکتری‌های مقاوم به چند دارو و کنترل عفونت‌های بیمارستانی استفاده شود.

واژه های کلیدی: *اسینتوباکتر*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، ژن‌های *OXA*، بیمارستان امام رضا(ع)

مقدمه

اسینتوباکتر جزء باسیل‌های گرم منفی، هوازی و مطلق است که در طی دهه‌های اخیر سبب شیوع عفونت‌های متنوع بیمارستانی از جمله پنومونی، باکترمی، عفونت زخم و مننژیت شده است(1).

مولف مسئول: فرزانه احمدی خطیری - تهران: خیابان دکتر شریعتی، بالاتر از حسینیه ارشاد، بیمارستان کودکان مفید E-mail: Ahmadikhatiri61@gmail.com

1. دستیار تخصصی بیماری های کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
2. استاد، مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده سلامت کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
3. دانشیار، مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده سلامت کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
4. استادیار، مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده سلامت کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت : 1398/4/10 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1398/4/11 تاریخ تصویب : 1399/4/2

در پـی مطالعـات ژنتیکـی گسـترده، وجـود حداقل 19 بیوتیپ *اسینتوباکتر* به اثبات رسیده است(2). *اسینتوباکترها* می‌توانند منابع گوناگونی از کربن را برای رشد خود مورد استفاده قرار داده و روی محیط‌های نسبتاً ساده مثل نوترینت آگار رشد نمایند(3). این باکتری توانایی رشد در شرایط مختلف دمایی را دارد که منجر به زنده ماندن طولانی آن در شرایط بیمارستانی و ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در آن می‌شود(4). این ارگانیسم در بیماران دچار نقص ایمنی که در محیط‌های بیمارستانی به ویژه بخش مراقبت‌های ویژه بستری هستند، سبب عفونت‌های شدید و کشنده می‌شود. درمان عفونت‌های ایجاد شده در اثر این ارگانیسم بسیار دشوار است زیرا معمولاً به‌طور همزمان می‌تواند نسبت به چند دارو (سفالوسپورین‌ها، کاربا‌پنم‌ها و فلوروکینولون‌ها) مقاوم گردد. کاربا‌پنم‌ها معمولاً داروی انتخابی در درمان عفونت‌هایی هستند که توسط سوش‌های مقاوم به چند دارو ایجاد می‌شوند. با این حال در سال‌های اخیر شیوع بالایی از *اسینتوباکتر* مقاوم به کاربا‌پنم نیز از مناطق مختلف دنیا گزارش شده است. از جمله ژن‌های شناسایی شده در ایجاد مقاومت به کاربا‌پنم در گونه‌های مختلف *اسینتوباکتر*، ژن‌های *OXA* (۲۳،۲۴،۴۸،۵۸) می‌باشند(5).

در سویه‌های *اسینتوباکتر*، مکانیسم اصلی مقاومت دارویی علیه آنتی‌بیوتیک‌ها به ویژه کاربا‌پنم‌ها اساساً مبتنی بر تولید بتالاکتامازهای هیدرولیزکننده کاربا‌پنم‌ها از طریق ژن‌های فوق می‌باشد. لازم به ذکر است که این ژن‌ها در طی تکثیر و جهش‌های ژنومی در گونه‌های مختلف *اسینتوباکتر* متحمل تغییراتی می‌گردند که کارکرد مشابه داشته و با نام کلی *OXA-like* خوانده می‌شوند(6). آنزیم‌های *OXA-like* شایع‌ترین آنزیم‌های کاربا‌پنماز در *اسینتوباکتر* بومانی بوده که می‌توانند باعث مقاومت به کاربا‌پنم‌ها در این باکتری گردند. آنزیم‌های *OXA*-58، *OXA*-23 ، *OXA*-24 ، *OXA*-48 شایع‌ترین انواع این آنزیم‌ها در *اسینتوباکتر بومانی* هستند(6).

بررسی این ژن‌ها در نمونه‌های بالینی به‌دست آمده از بیماران بستری مبتلا به *اسینتوباکتر* و تعیین فراوانی آن‌ها این امکان را فراهم خواهد کرد که با اطلاع از نوع مکانیسم ایجاد مقاومت دارویی بتوانیم به نوع مقاومت دارویی و نوع آنتی‌بیوتیک‌های حساس پی ببریم. به این ترتیب نه تنها میزان موفقیت درمانی علیه *اسینتوباکتر* افزایش می‌یابد، بلکه میزان مرگ و میر حاصل از این عفونت نیز کاهش خواهد یافت. از طرفی با کم کردن طول مدت بستری بیماران در بیمارستان، هزینه‌های بیمارستانی و نیز هزینه‌های تحمیل شده به بیماران کاهش می‌یابد. با توجه به اهمیت *اسینتوباکترها* به عنوان یک پاتوژن مهم بیمارستانی، پژوهش حاضر قصد دارد به بررسی فراوانی *اسینتوباکتر* MDR در کشت‌های بیماران بستری در بیمارستان امام رضا (ع) تبریز پرداخته و انواع ژن‌های مسبب مقاومت دارویی در این بیماران را شناسایی کند.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر پژوهشی توصیفی- مقطعی است که در بازه زمانی مرداد تا آبان سال 1396 بر بیماران کشت مثبت *از اسینتوباکتر*، در بیمارستان امام رضا(ع) تبریز انجام شده است. نمونه‌ای مشتمل بر 91 بیمار وارد پژوهش شدند. نمونه‌های مختلف بالینی در محیط کشت بلادآگار و مک‌کانکی کشت داده شده و به مدت 18-20 ساعت در 37 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید. جهت شناسایی فنوتیپی سویه‌ها از تست‌های افتراقی مانند رنگ‌آمیزی گرم، تست اکسیداز، TSI، SIM، و رشد در دمای 42 درجه سانتی‌گراد استفاده گردید. برای تعیین حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی، آنتی‌بیوگرام بر روی نمونه‌های بالینی در محیط مولر هینتون آگار و براساس جدول CLSI با استفاده از دیسک‌های شرکت MAST انگلستان و برای کلستین E-Test انجام گرفت. بر اساس تعریف CDC سویه‌های

مقاوم به حداقل 3 گروه آنتی‌بیوتیکی به عنوان باکتری‌های MDR در نظر گرفته می‌شوند(7). در مرحله بعد سویه‌های *اسینتوباکتر* MDR به‌دست آمده از مرحله اول در محیط نگهدارنده BHI حاوی 20 درصد گلیسرول در فریزر در دمای 70- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید، پس از آن سویه‌ها از فریزر خارج شده و بعد از ذوب شدن بر روی محیط بلاد آگار مجدداً مورد کشت قرار گرفت. پس از رشد جهت اطمینان از خالص بودن، نمونه‌ها مجدداً در محیط مک‌کانکی کشت داده شدند. از کلنی خالص به‌دست آمده از مرحله آخر ژنوم میکروارگانیسم با استفاده از کیت استخراج، ماده ژنتیکی ترموفیشر (US. Cat. No. K0512 -Thermo Fisher Scientific) استخراج گردید. از ژنوم استخراج شده جهت شناسایی ژن‌های *OXA* (۲۳،۲۴،۴۸،۵۸) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و روش مولکولی PCR (جدول شماره 1) استفاده گردید.

جدول شماره 1: طول قطعه تکثیر شده و توالی پرایمر در ژن های مورد بررسی

ژن	توالی پرایمر	طول قطعه تکثیر شده	منبع
F23- *OXA*	GAT GTG TCA TAG TAT TCG TCGT	1058	8
R23- *OXA*	TCA CAA CAA CTA AAA GCA CTG T		
F48- *OXA*	CCAAGCATTTTTACCCGCATCKAC C	389	9
R48- *OXA*	GYTTGACCATACGCTGRCTGCG		
F24- *OXA*	GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA	248	10
R24- *OXA*	AGTTGAGCGAAAAGGGGATT		
F58- *OXA*	AAGTATTGGGGCTTGTGCTG	598	10
R58- *OXA*	CCCCTCTGCGCTCTACATAC		

آنالیز اماری

پس از گردآوری داده‌ها به منظور تحلیل و ارزیابی وارد نرم‌افزار SPSS نسخه 23 شد. در پژوهش حاضر برای توصیف متغیرهای کمی از میانگین و انحراف معیار و برای توصیف متغیرهای کیفی از فراوانی و درصد فراوانی استفاده شد. به منظور بررسی روابط میان متغیرها از آزمون یک راهه ANOVA استفاده شد. سطح معنی‌داری در کلیه محاسبات 0/05 در نظر گرفته شده است.

جدول شماره 1: انجام PCR برای تکثیر ژن‌های OXA-23,24,58,48

ژن	تعداد سیکل	نام سیکل	دما	مدت زمان
OXA-23	1	Initial denaturation	95	1 دقیقه
	30	Denaturation	95	30 ثانیه
		Annealing	55	30 ثانیه
		Extension	72	1 دقیقه
	1	Final extension	72	1 دقیقه
OXA-24	1	Initial denaturation	95	5 دقیقه
	32	Denaturation	95	30 ثانیه
		Annealing	54	30 ثانیه
		Extension	72	30 ثانیه
	1	Final extension	72	5 دقیقه
OXA-48	1	Initial denaturation	95	1 دقیقه
	30	Denaturation	95	30 ثانیه
		Annealing	55	30 ثانیه
		Extension	72	1 دقیقه
	1	Final extension	72	7 دقیقه
OXA-58	1	Initial denaturation	95	5 دقیقه
	33	Denaturation	95	45 ثانیه
		Annealing	55	45 ثانیه
		Extension	72	45 ثانیه
	1	Final extension	72	5 دقیقه

یافته ها

در این مطالعه مقطعی، 91 سویه *اسینتوباکتر* جمع‌آوری و تایید گردید. بر اساس آنتی‌بیوگرام، 66 نمونه *اسینتوباکتر* MDR شناسایی شدند و وارد مطالعه گردید. از 66 سویه MDR تعداد 48 نمونه (72/7 درصد) از بیماران مذکر و 18 نمونه (27/3 درصد) از بیماران مونث کشت داده شده‌اند. میانگین سن بیماران مورد بررسی 20/4 ± 54/4 سال (با حداقل 19 و حداکثر 85 سال) بوده است. میانگین سنی بیماران مذکر 20/8 ± 51/6 سال (با حداقل 19 و حداکثر 85 سال) و میانگین سنی بیماران مونث 17/8 ± 61/7 سال (با حداقل 19 و حداکثر 83 سال) بوده است. در مجموع 28 نمونه (42/4 درصد کل نمونه‌ها) از ترشحات لوله تراشه، 13 مورد (19/7 درصد) از نمونه ته حلق، 8 مورد (12/1 درصد) از ادرار، 7 مورد (10/6 درصد) از خون، 6 مورد (9/1 درصد) از مایع CSF، 3 مورد (4/5 درصد) از ترشحات محل زخم و یک نمونه (1/5 درصد) از مایع پریتونئال اخذ شد.

مقاومت و حساسیت نمونه‌ها با مقاومت چندگانه

بررسی میزان مقاومت و حساسیت نمونه‌ها به

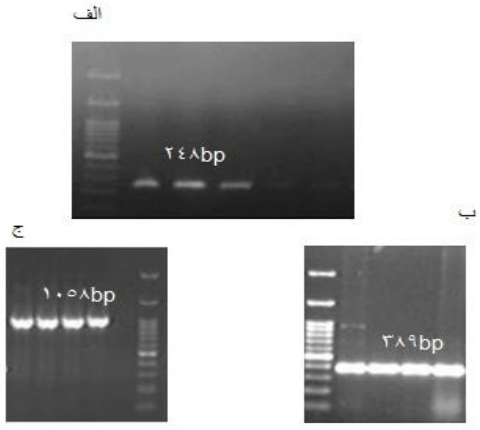
13 آنتی‌بیوتیک مختلف نشان می‌دهد که 100 درصد نمونه‌ها نسبت به سفپیم، سفوتاکسیم، پیپراسیلین - تازوباکتام، مروپنم مقاوم بوده و کل نمونه‌ها بر اساس E.Test به کلیستین حساس هستند. جزئیات مربوط به میزان حساسیت نمونه‌ها نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نیز در جدول شماره 3 قابل مشاهده است.

جدول شماره 3: حساسیت *اسینتوباکتر* های با مقاومت چندگانه

آنتی بیوتیک‌ها	مقاومت تعداد (درصد)	حساسیت تعداد (درصد)	حساسیت نسبی تعداد (درصد)
آمپی‌سیلین -سولباکتام	44 (66/7)	5 (7/6)	17 (25/8)
پیپراسیلین -تازوباکتام	66 (100)	0 (0)	0 (0)
سفتازیدیم	65 (98/5)	0 (0)	1 (1/5)
سفپیم	66 (100)	0 (0)	0 (0)
سفوتاکسیم	66 (100)	0 (0)	0 (0)
ایمی پنم	65 (98/5)	0 (0)	1 (1/5)
مروپنم	66 (100)	0 (0)	0 (0)
جنتامایسین	47 (71/2)	13 (19/7)	6 (9/1)
توبرامایسین	41 (62/1)	21 (31/8)	4 (6/1)
آمیکاسین	55 (83/3)	11 (16/7)	0 (0)
مایتوسایکلین	18 (27/3)	28 (42/4)	20 (30/3)
تری‌متوپریم -سولفامتاکسازول	64 (97)	1 (1/5)	1 (1/5)
سیپروفلوکساسین	64 (97)	0 (0)	1 (2)
کلیستین	0 (0)	66 (100)	0 (0)

رابطه مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و ژن‌های OXA

بررسی 66 *اسینتوباکتر* MDR کشت داده شده نشان می‌دهد در 44 مورد (66/7 درصد) ژن *OXA*-23، در 21 مورد (31/8 درصد) ژن *OXA*-24 و در 7 مورد (10/6 درصد) ژن *OXA*-48 یافت شده است (تصویر شماره 1).



تصویر شماره1: مارکر: bp 100. الف. سوسه های مثبت ژن *OXA*-24. ب. سویه های مثبت ژن *OXA*-48. ج. سویه های مثبت ژن *OXA*-23

در هیچ یک از نمونه‌های مورد بررسی، ژن *OXA*-58 شناسایی نشد. در 7 مورد از *اسینتوباکترهای* مورد بررسی ژن‌های *OXA*-23 و *OXA*-24، در یک مورد نیز ژن‌های *OXA*-24 و *OXA*-48 به صورت همزمان یافت شد. در یک مورد از نمونه‌های مورد بررسی نیز همزمان هر سه ژن *OXA*-23، *OXA*-24 و *OXA*-48 یافت گردید. جدول شماره 4 میزان مقاومت *اسینتوباکترها* به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف را به تفکیک ژن‌های مورد بررسی نشان می‌دهد.

جدول شماره 4: میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف به تفکیک ژن‌ها

آنتی‌بیوتیک‌ها	میزان مقاومت کلی تعداد (درصد)	میزان مقاومت در سویه‌های دارای ژن *OXA*-23 تعداد (درصد)	میزان مقاومت در سویه‌های دارای ژن *OXA*-24 تعداد (درصد)	میزان مقاومت در سویه‌های دارای ژن *OXA*-48 تعداد (درصد)
آمپی‌سیلین - سولباکتام	44 (66/7)	30 (68/2)	13 (61/9)	6 (85/7)
پیپراسیلین - تازوباکتام	66 (100)	44 (100)	21 (100)	7 (100)
سفتازیدیم	65 (98/5)	43 (97/7)	20 (95/2)	7 (100)
سفپیم	66 (100)	44 (100)	21 (100)	7 (100)
سفوتاکسیم	66 (100)	44 (100)	21 (100)	7 (100)
ایمی‌پنم	65 (98/5)	44 (100)	21 (100)	7 (100)
مروپنم	66 (100)	44 (100)	21 (100)	7 (100)
جنتامایسین	47 (71/2)	28 (63/6)	19 (90/5)	4 (57/1)
توبرامایسین	41 (62/1)	23 (52/3)	19 (90/5)	3 (42/9)
آمیکاسین	55 (83/3)	36 (81/8)	20 (95/2)	6 (85/7)
مایتوسایکلین	18 (27/3)	13 (29/5)	3 (14/3)	2 (28/6)
تری متوپریم - سولفامتاکسازول	64 (97)	43 (97/7)	20 (95/2)	7 (100)
سیپروفلوکساسین	64 (97)	43 (97/7)	20 (95/2)	7 (100)
کلیستین	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

بر اساس یافته‌های پژوهش، تنها میان داشتن ژن *OXA*-24 و مقاومت به توبرامایسین و آمیکاسین ارتباط معنادار آماری وجود دارد (P=0/005). همان‌طورکه پیش از این نیز مطرح شد در 7 مورد *از اسینتوباکترهای* مورد بررسی، وجود ژن‌های *OXA*- 23 و *OXA*-24 به صورت همزمان گزارش شده است. موارد مذکور از نمونه‌های خون (2 مرد 80 و 34 ساله)، ادرار (2 مرد 61 و 63 ساله)، ترشحات تراشه (یک مرد 68 ساله)، ترشحات زخم (یک زن 59 ساله) و نمونه ته حلق (یک زن 83 ساله) جداسازی شده‌اند. الگوی مربوط به مقاومت آنتی‌بیوتیکی این 7 مورد که دارای این دو ژن به‌طور همزمان بودند، در جدول شماره 5 قابل مشاهده می‌باشد.

جدول شماره 5: الگوی مقاومت مشاهده شده در سویه های دارای ژن های ox a-23 و oxa-24 به طور همزمان در نمونه های مختلف بالینی

محل اخذ نمونه	جنس و سن	آنتی بیوتیک مورد ارزیابی														
		آمپی سلین -سولباکتام	پیپراسلین -تازوباکتام	سفتازیدیم	سفپیم	سفوتاکسیم	ایمی پنم	مروپنم	جنتامایسین	تویرامایسین	آمیکاسین	مینوسایکلین	کوتریماکسازول	سیپروفلوکساسین	کلیستین
ترشحات زخم	زن-59 سال	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	S
نمونه ته حلق	زن-83 سال	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S
خون	مرد-80 سال	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S
خون	مرد-34 سال	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S
ادرار	مرد-63 سال	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	S
ادرار	مرد-61 سال	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S
ترشحات تراشه	مرد-68 سال	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S

S: حساس I: حساسیت نسبی R: مقاوم

بحث

اسینتوباکتربومانی پاتوژنی فرصت‌طلب است که می‌تواند سبب شیوع عفونت‌های متنوع بیمارستانی شده و سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک این باکتری می‌تواند منجر به طولانی‌تر شدن مدت زمان بستری شدن بیماران در بیمارستان و همچنین هزینه‌های متعاقب آن گردد. در پژوهش حاضر در 72 درصد از نمونه‌های مورد بررسی، *اسینتوباکتر بومانی* MDR شناسایی شده است. این تعداد بسیار بالاتر از نرخ فراوانی گزارش شده در پژوهش جوشقانی و همکارانش(11) که حدود 40 درصد بود و پژوهش سعادتیان‌فریور و همکارانش(12) که حدود 21 درصد بود، می‌باشد.

نتایج مطالعه حاضر مقاومت بالای 60 درصد را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام و کاربا‌پنم تست شده در نمونه‌های با مقاومت چندگانه نشان داد. همچنین نتایج مطالعات مشابه بر روی اسینتوباکتر بومانی‌های جمع‌آوری شده از بیمارستان مطهری(13) و امام خمینی (14) تهران، امام خمینی و گلستان اهواز(15)، ولی عصر اراک(16) و همچنین مطالعه دیگری در بیمارستان‌های امام خمینی، میلاد و مطهری تهران(17) و امام رضا تبریز(18) مقاومت بالای 70 درصد نسبت به خانواده‌های آنتی‌بیوتیکی ذکر شده را گزارش کردند. همانگونه که نتایج مطالعه اخیر و مطالعات ذکر شده(18-13) نشان می‌دهد، فراوانی مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام و همچنین کاربا‌پنم‌ها در اسینتوباکتر بومانی‌های بیمارستان‌های مختلف در ایران بالای حدوداً 60 درصد می‌باشد. این فراوانی برای کمیته کنترل عفونت بیمارستان‌ها می‌تواند هشدار دهنده باشد. بر اساس نتایج این پژوهش، از میان آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه کمترین میزان مقاومت در برابر کلیسیتین وجود دارد به‌طوری که تمامی سویه‌های مورد مطالعه به این آنتی‌بیوتیک حساسیت نشان داده‌اند. ماینوسایکلین دومین آنتی بیوتیک موثر بر روی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک گزارش گردید و تنها 27/3 درصد از موارد سویه‌های با مقاومت چندگانه تست شده در این مطالعه به این آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان داده‌اند. بر اساس یافته‌های پژوهش، تمامی نمونه‌های با مقاومت چندگانه نسبت به سفپیم، سفوتاکسیم، پیپراسیلین-تازوباکتام و مروپنم مقاوم هستند. لازم به ذکر است که تعیین MIC نیز می‌تواند به عنوان یک روش دقیق‌تر جهت بررسی حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده قرار بگیرد. در پژوهش سعادتیان‌فریور و همکارانش، 100 درصد نمونه‌های مورد بررسی نسبت به ریفامپین، پنی‌سیلین، اریترومایسین و تتراسایکلین مقاومت نشان داده و بیش از 90 درصد از نمونه‌ها در برابر جنتامایسین، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، اسیدنالیدیکسیک، آمیکاسین، سفتیزوکسیم، استرپتومایسین، سفازولین و کلرامفنیکل مقاوم گزارش شده‌اند. همانگونه که نتایج مطالعه حاضر و مطالعه سعادتیان‌فریور(12) نشان می‌دهد، میزان مقاومت نمونه‌ها به سفتازیدیم، ایمی‌پنم، تری‌متوپریم- سولفامتاکسازول و سیپروفلوکساسین در آنتی بیوتیک‌های مورد مطالعه بیش از 90 درصد گزارش شده است. در مطالعه خسروشاهی و همکاران در سال 2017 در بیمارستان امام رضا تبریز نیز کمترین میزان

مقاومت علیه پلی‌میکسین B و بیشترین مقاومت نسبت به تیکارسیلین، سفکسیم و سفتی‌زوکسیم بوده است(19). در مطالعه جوشقانی و همکارانش نیز کلیه نمونه‌های بالینی به ایمی‌پنم و کاربا‌پنم مقاوم بودند(11).

در مطالعه قالبی و همکاران در سال 2017 در یزد نیز کلیه گونه‌های *اسینتوباکتر* نسبت به سفتازیدیم، سفتریاکسون، مروپنم و ایمی‌پنم مقاوم بودند و کمترین مقاومت به ترتیب نسبت به کلیستین و تایگی‌سیکلین بوده است(20). نتایج این مطالعات(12،19،20) نیز با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی داشته و فراوانی بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی را در سویه‌های اسینتوباکتر بومانی جمع‌آوری شده از نمونه های بالینی در ایران را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج این پژوهش، شایع‌ترین ژن‌های یافت شده در بین سویه‌های مقاوم به کاربا‌پنم مورد بررسی به ترتیب عبارتند از bla_{oxa-23} با فراوانی 66/7 درصد، bla_{oxa-24} با فراوانی 31/8 درصد و ژن bla_{oxa-48} با فراوانی 10/6 درصد. در هیچ یک از نمونه‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر، ژن bla_{oxa-58} یافت نشده است. در مقایسه با یافته‌های پژوهش حاضر در مطالعه خسروشاهی و همکارانش در بررسی مولکولی ژن‌*های* کاربا‌پنماز بیش‌ترین شیوع را ژن bla_{shv} و کم‌ترین شیوع را ژن bla_{oxa-10} در بین موارد بررسی شده، داشته است(19). در مطالعه جوشقانی و همکارانش نیز در 100 درصد از نمونه‌ها ژن bla_{oxa-51} یافت شد. از طرفی در این پژوهش نیز ژن bla_{oxa-58} در هیچ یک از نمونه‌های بالینی یافت نشده است(11).

در پژوهشی که توسط Rolain و همکارانش در قطر انجام شد، کلیه نمونه‌ها از نظر ژن bla_{oxa-23} مثبت بوده و به اغلب آنتی‌بوتیک‌ها از جمله مروپنم، ایمی‌پنم، سیپروفلوکساسین، لووفوکساسین، آمیکاسین، جنتامایسین و اغلب بتالاکتام‌ها مقاوم بوده و تنها به کلیستین حساسیت داشتند(5). 83 درصد از سوش‌های مورد مطالعه در پژوهش عظیمی و همکارانش نیز وجود ژن bla_{oxa-23} و 9/2 درصد از موارد وجود ژن‌های bla_{VIM}, bla_{KPC} را گزارش دادند(21). نوع ژن‌های مورد مطالعه، منبع بالینی متفاوت کشت‌های مثبت *اسینتوباکتر بومانی* و همچنین شیوه یک نوع خاص از آنزیم‌های عامل مقاومت و انتشار آن در یک منطقه خاص جغرافیایی می‌توانند عامل اختلاف فراوانی ژن‌های مختلف عامل مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مطالعات گوناگون باشد.

یافته‌های پژوهش حاضر بر وجود رابطه معنی دار ($P = 0/005$) میان داشتن ژن bla_{oxa-24} مقاومت به توبرامایسین و آمیکاسین دلالت دارد. این بدین معناست که *اسینتوباکترهای* دارای ژن bla_{oxa-24} نسبت به مواردی که این ژن را نداشتند مقاومت بیش‌تری به توبرامایسین دارند و برعکس حساسیت این موارد به مایونوسایکلین نسبت به *اسینتوباکترهای* بدون ژن bla_{oxa-24} بیش‌تر است. در مقایسه با یافته‌های پژوهش حاضر نتایج تحقیقی در دانشگاه نپال حاکی از آن است که حضور ژن‌های bla_{oxa-23} و bla_{oxa-58} سبب افزایش مقاومت نسبت به کاربا‌پنم‌ها می‌شود(22). از طرفی اکبری و همکارانش در پژوهشی در سال 2010 به این نتیجه رسیدند که وجود ژن (bla_{oxa-51}) در نمونه‌های بالینی سبب مقاومت شدید نسبت به جنتامایسین، ایمی‌پنم، آمپی‌سولباکتام، و آمیکاسین می‌شود(23). لذا نتایج مطالعه حاضر و مطالعه اکبری و همکارانش به این نکته اشاره دارد که وجود برخی ازآنزیم‌های OXA-type می‌تواند علاوه بر مقاومت به کاربا‌پنم باعث مقاومت به آمینوگلیکوزیدها نیز باشند. از طرفی حضور این ژن‌ها می‌تواند بر روی عناصر ژنتیکی متحرکی باشند که علاوه بر دارا بودن برخی از ژن‌های OXA-type حامل ژن‌های عامل مقاومت به آمینوگلیکوزیدها نیز باشند.

نتایج این مطالعه و مطالعات مشابه(24،25) نشان می‌دهد که فراوانی *اسینتوباکتربومانی* مقاوم به چند دارو در بیماران بستری در بیمارستان امام رضا (ع) تبریز بالا بوده و این مشکل می‌تواند زنگ خطری برای نظام بهداشت و سلامت در این شهر بوده و بر لزوم توجه به معیارهای کنترل عفونت‌های بیمارستانی می‌افزاید. توصیه می‌شود از راهکارهایی مانند شناسایی بیماران آلوده،

یافتن منبع کولونیزاسیون باکتری، استریل کردن وسایل و بخش‌ها و کنترل مصرف آنتی‌بیوتیک در بیمارستان به منظور پیشگیری از ایجاد باکتری‌های مقاوم به چند دارو و کنترل عفونت‌های بیمارستانی استفاده شود.

سپاسگزاری

تحقیقات گزارش شده در این انتشار با کمک مالی مؤسسه ملی توسعه تحقیقات علوم پزشکی (NIMAD)، تهران، ایران با شماره گرنت [940290] پشتیبانی شده است.

References

1. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, Douglas RG, LLC. MC. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. London, Churchill Livingstone Elsevier; 2010.
2. Gonzalez G, Sossa K, Bello H, Dominguez M, Mella S, Zemelman R. Presence of integrons in isolates of different biotypes of Acinetobacter baumannii from Chilean hospitals. FEMS Microbiol Lett 1998; 161(1): 125-128.
3. Abdel-El-Haleem D. Acinetobacter: environmental and biotechnological applications. Afr J Biotechnol 2003; 2(4): 71-74.
4. Fekri S, SoltaniBanavandi MJ, Amini M. Molecular Study of Plasmid Genes Ampc of Acinetobacter baumannii Isolated from Clinical Cases Using Multiplex PCR. J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27(155): 157-162.
5. Rolain J-M, Loucif L, Al-Maslamani M, Elmagboul E, Al-Ansari N, Taj-Aldeen S, et al. Emergence of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii producing OXA-23 Carbapenemase in Qatar. New Microbes New Infect 2016; 11: 47-51.
6. Salimizand H, Noori N, Meshkat Z, Ghazvini K, Amel SJ. Prevalence of Acinetobacter baumannii harboring ISAba1/blaOXA-23-like family in a burn center. Burns 2015; 41(5): 1100-1106.
7. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug resistant, extensively drug resistant and pandrug resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect 2012; 18(3): 268-281.
8. Oikonomou O, Sarrou S, Papagiannitsis CC, Georgiadou S, Mantzarlis K, Zakynthinos E, et al. Rapid dissemination of colistin and carbapenem resistant Acinetobacter baumannii in Central Greece: mechanisms of resistance, molecular identification and epidemiological data. BMC Infect Dis 2015; 15: 559.
9. Yamazaki Y, Funaki T, Yasuhara T, Sugano E, Ugajin K, Tahara S, Fukuch K. Molecular Characteristics of a Carbapenemase-producing Enterobacter Species and Klebsiella Species Outbreak in a Japanese University Hospital. Showa Univ J Med Sci 2017; 29(2):163-172.
10. Joshi PR, Acharya M, Kakshapati T, Leungtongkam U, Thummeepak R, Sitthisak S. Co-existence of bla_{OXA-23} and bla_{NDM-1} genes of Acinetobacter baumannii isolated from Nepal: antimicrobial resistance and clinical significance. Antimicrob Resist Infect Control 2017; 7: 6-21.
11. Josheghani SB, Moniri R, Firoozeh F, Sehat M, Dastehgoli K, Koosha H, et al. Emergence of bla OXA-Carrying Carbapenem Resistance in Multidrug-Resistant Acinetobacter baumannii

in the Intensive Care Unit. Iranian Red Crescent Medical Journal 2017; 19(5): e27327.

12. Saadatianfarivar A, Nowroozi J, Emami M. The Prevalence of Acinetobacter in Sergical ICU in RasoulAkram Hospital in 2004-2005. JRUMS 2005; 4(4): 342-347.
13. Saeedi S, Abdolsalehi M R, Khodabandeh M, Alvandimanesh A, Pournajaf A, Rajabnia R. Survey of Integron Types and Carbapenem Resistance Encoding Genes in Acinetobacter Baumannii Isolated from Burn Wound Samples. AUMJ 2018; 7(4): 323-332.
14. Moghadasi M, Kalantar-Neyestanaki D, Karami-Zarandi M, Rahdar HA, Jasemi S, Feizabadi MM. Investigation of antimicrobial susceptibility patterns and frequency of bla OXA genes in carbapenem resistant Acinetobacter baumannii strains. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences 2018; 23(5): 108-119.
15. Shojae S. evaluation of Metallo-β-lactamase and Oxacillinase encoding Genes, Bacterial typing by genomic repetitive extragenic palindromic -Polymerase chain reaction and expression rate of adeB efflux pump gene by Real Time PCR in Clinical isolated of A. baumannii. Thesis for PhD in medical bacteriology. Jondishapour university of medical sciences, Ahvaz, Iran. 2013.
16. JaponiNejad A R, Sofian M, Ghaznavi-Rad E. Molecular detection of AdeABC efflux pump genes in clinical isolates of Acinetobacter baumannii and their contribution in imipenem resistance. Iran South Med J 2014; 17(5): 815-823.
17. Babapour E, Haddadi A, Mirnejad R, Angaji SA, Amirmozafari N. Study of drug resistance and ompA gene existence in clinical Acinetobacter baumannii isolates. Iran J Med Microbiol 2017; 11(1): 30-38.
18. Angoti G, Godarzi H, Besharat M, Hajizadeh M, Zarringhalam Moghaddam M. Evaluation of antibiotic resistance of clinical Acinetobacter baumannii isolated of Tabriz hospital by disk diffiusion and MIC methods. Research in Medicine 2014; 38(2): 106-110.
19. Khosroshahi SA, Farajnia S, Azhari F, Hosseini MK, Khanipour F, Farajnia H, et al. Antimicrobial Susceptibility Pattern and Prevalence of Extended-Spectrum β-Lactamase Genotypes among Clinical Isolates of Acinetobacter baumanii in Tabriz, North-West of Iran. Jundishapur J Microbiology 2017; 10(6).
20. Ghalebi M, Eslami G, Zandi H, Farhang A, Vakili M, Mohammadi N, et al. Oxacillinase in Acinetobacter baumannii Isolated from Tracheal Tube Specimens of Patients Hospitalized in Intensive Care Units in Isfahan city. JSSU 2017; 25(1): 1-10.
21. Azimi L, Talebi M, Pourshafie M-R, Owlia P, Lari AR. Characterization of carbapenemases in extensively drug resistance Acinetobacter baumannii in a burn care center in Iran. Int J Mol Cell Med 2015; 4(1): 46-53.
22. Shrestha S, Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Ohara H, Shimada K, Satou K, et al. Molecular epidemiology of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii isolates in a university hospital in Nepal reveals the emergence of a novel epidemic clonal lineage. Int J Antimicrob Agents 2015; 46(5): 526-531.
23. Akbari M, Niakan M, Taherikalani M, Feizabadi MM, Azadi NA, Soroush S, et al. Rapid identification of Iranian Acinetobacter baumannii strains by single PCR assay using bla (OXA-51)-like carbapenemase and evaluation of the antimicrobial resistance

profiles of the isolates. Acta Microbiol Imm H 2010; 57(2): 87-94.

24. Ghasemian R, Ahanjan M, Fatehi E, Shokri M. Prevalence and antibiotic resistance pattern of Acinetobacter isolated from patients admitted in ICUs in Mazandaran, Northern Iran. Glob J Health Sci 2016; 8(11): 112-119.

25. Rezai MS, Rafiei A, Ahangarkani F, Bagheri-Nesami M, Nikkhah A, Shafahi K, et al. Emergence of extensively drug resistant acinetobacter baumannii-encoding integrons and extended-spectrum beta-lactamase genes isolated from ventilator-associated pneumonia patients. Jundishapur J Microbiology 2017; 10(7): e14377.