

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 Khatiri¹,
Seyed Alireza Fahimzad²,
Fatemeh Fallah²,
Shahnaz Armin³,
Leila Azimi⁴

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)

بررسی شیوع ژن های OXA در آسینتوباکترهای با مقاومت چندگانه دارویی جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان امام رضا (ع) تبریز

فرزانه احمدی خطیری¹

سید علیرضا فهیم زاد²

فاطمه فلاح²

شهناز آرمین³

لیلا عظیمی⁴

چکیده

سابقه و هدف: آسینتوباکتر پاتوژنی است که می تواند سبب شیوع عفونت های متنوع بیمارستانی شود. هدف از پژوهش حاضر یافتن موارد آسینتوباکتر در کشت های بیماران بستری در بیمارستان امام رضا (ع) تبریز و تعیین فراوانی شایع ترین ژن های OXA عامل مقاومت دارویی در این نمونه ها می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه توصیفی - مقطعی که در بازه زمانی مرداد تا آبان ماه سال 1396 انجام شده است، تعداد 91 نمونه آسینتوباکتر جدا شده از نمونه های بالینی شامل خون، ادرار، ترشحات لوله تراشه، ترشحات زخم و نمونه ته حلق بیماران مورد بررسی قرار گرفت. باکتری ها با استفاده از روش های استاندارد باکتریولوژی، جداسازی و شناسایی شدند. برای تعیین حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی از آزمایش آنتی بیوگرام براساس Clsi سال 2016 استفاده شده است. پس از استخراج DNA باکتری ها، شناسایی ژن های OXA (۲۳،۲۴،۴۸،۵۸) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و روش ملکولی PCR انجام شد.

یافته ها: از تعداد 91 آسینتوباکتر مورد مطالعه، 66 جدایه (72/52 درصد) دارای مقاومت چندگانه آنتی بیوتیکی (MDR) بودند. جدایه های با مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه مقاومت 100 درصدی نسبت به سفپیم، سفو تاکسیم، پپیراسیلین - تازوباکتام، مروپنم نشان دادند. همه نمونه ها نسبت به آنتی بیوتیک کلیستین حساس بودند. براساس یافته های پژوهش میان داشتن ژن OXA-24 و مقاومت به توپرامایسین و آمیکاسین ارتباط معنادار آماری وجود دارد (P=0/005).

استنتاج: با توجه به بالا بودن تعداد جدایه های با مقاومت چندگانه در این مطالعه، لزوم توجه به معیارهای کنترل عفونت بیمارستانی ضروری می باشد که توصیه می شود از راهکارهایی مانند شناسایی بیماران آلوده، یافتن منبع کولونیزاسیون باکتری، استریل کردن وسایل و بخش ها و کنترل مصرف آنتی بیوتیک در بیمارستان به منظور پیشگیری از ایجاد باکتری های مقاوم به چند دارو و کنترل عفونت های بیمارستانی استفاده شود.

واژه های کلیدی: آسینتوباکتر، مقاومت آنتی بیوتیکی، ژن های OXA، بیمارستان امام رضا (ع)

مقدمه

آسینتوباکتر جزء باسیل های گرم منفی، هوازی و مطلق است که در طی دهه های اخیر سبب شیوع عفونت های متنوع بیمارستانی از جمله پنومونی، باکتری، عفونت زخم و مننژیت شده است (1).

مؤلف 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 پی مطالعات ژنتیکی گسترده، وجود حداقل 19 بیوتیپ /سینتوباکتر به اثبات رسیده است (2). سینتوباکترها می توانند منابع گوناگونی از کربن را برای رشد خود مورد استفاده قرار داده و روی محیط های 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 آنتی بیوتیکی در آن می شود (4). این ارگانیسم در بیماران دچار نقص ایمنی که در محیط های بیمارستانی به ویژه بخش مراقبت های ویژه بستری هستند، سبب عفونت های شدید و کشنده می شود. درمان عفونت های ایجاد شده در اثر این ارگانیسم بسیار دشوار است زیرا معمولاً به طور همزمان می تواند نسبت به چند دارو (سفالوسپورین ها، کارباپنم ها و فلوروکینولون ها) مقاوم گردد. کارباپنم ها معمولاً داروی انتخابی در درمان عفونت هایی هستند که توسط سوش های مقاوم به چند دارو ایجاد می شوند. با این حال در سال های اخیر شیوع بالایی از /سینتوباکتر مقاوم به کارباپنم نیز از مناطق مختلف دنیا گزارش شده است. از جمله ژن های شناسایی شده در ایجاد مقاومت به کارباپنم در گونه های مختلف /سینتوباکتر، ژن های *OXA* (۲۳، ۲۴، ۴۸، ۵۸) می باشند (5).

در سویه های /سینتوباکتر، مکانیسم اصلی مقاومت دارویی علیه آنتی بیوتیک ها به ویژه کارباپنم ها اساساً مبتنی بر تولید بتالاکتامازهای هیدرولیز کننده کارباپنم ها از طریق ژن های فوق می باشد. لازم به ذکر است که این ژن ها در طی تکثیر و جهش های ژنومی در گونه های مختلف /سینتوباکتر متحمل تغییراتی می گردند که کارکرد مشابه داشته و با نام کلی *OXA-like* خوانده می شوند (6). آنزیم های *OXA-like* شایع ترین آنزیم های کارباپنماز در /سینتوباکتر بومانی بوده که می توانند باعث مقاومت به کارباپنم ها در این باکتری گردند. آنزیم های *OXA-48*، *OXA-24*، *OXA-23*، *OXA-58* شایع ترین انواع این آنزیم ها در /سینتوباکتر بومانی هستند (6).

بررسی این ژن ها در نمونه های بالینی به دست آمده از بیماران بستری مبتلا به /سینتوباکتر و تعیین فراوانی آن ها این امکان را فراهم خواهد کرد که با اطلاع از نوع مکانیسم ایجاد مقاومت دارویی بتوانیم به نوع مقاومت دارویی و نوع آنتی بیوتیک های حساس پی ببریم. به این ترتیب نه تنها میزان موفقیت درمانی علیه /سینتوباکتر افزایش می یابد، بلکه میزان مرگ و میر حاصل از این عفونت نیز کاهش خواهد یافت. از طرفی با کم کردن طول مدت بستری بیماران در بیمارستان، هزینه های بیمارستانی و نیز هزینه های تحمیل شده به بیماران کاهش می یابد. با توجه به اهمیت /سینتوباکترها به عنوان یک پاتوژن مهم بیمارستانی، پژوهش حاضر قصد دارد به بررسی فراوانی /سینتوباکتر MDR در کشت های بیماران بستری در بیمارستان امام رضا (ع) تبریز پرداخته و انواع ژن های مسبب مقاومت دارویی در این بیماران را شناسایی کند.

مواد و روش ها

مطالعه حاضر پژوهشی توصیفی - مقطعی است که در بازه زمانی مرداد تا آبان سال 1396 بر بیماران کشت مثبت از /سینتوباکتر، در بیمارستان امام رضا (ع) تبریز انجام شده است. نمونه ای مشتمل بر 91 بیمار وارد پژوهش شدند. نمونه های مختلف بالینی در محیط کشت بلادآگار و مک کانکی کشت داده شده و به مدت 18-20 ساعت در 37 درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری گردید. جهت شناسایی فنوتیپی سویه ها از تست های افتراقی مانند رنگ آمیزی گرم، تست اکسیداز، TSI، SIM، و رشد در دمای 42 درجه سانتی گراد استفاده گردید. برای تعیین حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی، آنتی بیوگرام بر روی نمونه های بالینی در محیط مولر هینتون آگار و براساس جدول CLSI با استفاده از دیسک های شرکت MAST انگلستان و برای کلاستین E-Test انجام گرفت. بر اساس تعریف CDC سویه های

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 $20/4 \pm 54/4$ سال (با حداقل 19 و حداکثر 85 سال) بوده است. میانگین سنی بیماران مذکر $20/8 \pm 51/6$ سال (با حداقل 19 و حداکثر 85 سال) و میانگین سنی بیماران مونث $17/8 \pm 61/7$ 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 پریتنوتال اخذ شد.

مقاومت و حساسیت نمونه‌ها با مقاومت چندگانه بررسی میزان مقاومت و حساسیت نمونه‌ها به

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 میکروارگانیزم 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 ژن‌های 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	CCAAGCATTTTACCCGCATCKAC C	389	9
R48- OXA	GYYTGACCATACGCTGRCTGCG		
F24- OXA	GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA	248	10
R24- OXA	AGTTGAGCGAAAGGGGATT		
F58- OXA	AAGTATTGGGGCTTGTGCTG	598	10
R58- OXA	CCCCTCTGCGCTCTACATAC		

آنالیز آماری

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 یک‌راهه ANOVA استفاده شد. سطح معنی‌داری در کلیه محاسبات 0/05 در نظر گرفته شده است.

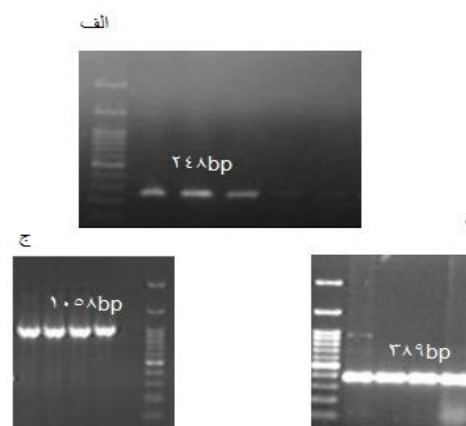
13 آنتی بیوتیک مختلف نشان می‌دهد که 100 درصد نمونه‌ها نسبت به سفپیم، سفوتاکسیم، پیراسیلین - تازوباکتام، مروپنم مقاوم بوده و کل نمونه‌ها بر اساس E.Test به کلیستین حساس هستند. جزئیات مربوط به میزان حساسیت نمونه‌ها نسبت به سایر آنتی بیوتیک‌ها نیز در جدول شماره 3 قابل مشاهده است.

جدول شماره 3: حساسیت/اسیتوباکترهای با مقاومت چندگانه

آنتی بیوتیک‌ها	مقاومت تعداد (درصد)	حساسیت تعداد (درصد)	حساسیت نسبی تعداد (درصد)
آمی‌سیلین - سولیاکام	44 (66/7)	5 (7/6)	17 (25/8)
پیراسیلین - تازوباکتام	66 (100)	0 (0)	0 (0)
سفازیدیم	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)
جتامایسین	47 (71/2)	13 (19/7)	6 (9/1)
تورامایسین	41 (62/1)	21 (31/8)	4 (6/1)
آمیکاسین	55 (83/3)	11 (16/7)	0 (0)
مایوسایکلین	18 (27/3)	28 (42/4)	20 (30/3)
تری متوپریم - سولفامتازول	64 (97)	1 (1/5)	1 (1/5)
سیروفلوکساسین	64 (97)	0 (0)	1 (2)
کلیستین	0 (0)	66 (100)	0 (0)

رابطه مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌ها و ژن‌های OXA

بررسی 66/اسیتوباکتر 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 شماره 1: مارکر 100 bp. 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 اسیتوباکترهای 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/اسیتوباکترها به آنتی بیوتیک‌های مختلف را به تفکیک ژن‌های مورد بررسی نشان می‌دهد.

جدول شماره 4: میزان مقاومت به آنتی بیوتیک‌های مختلف به تفکیک ژن‌ها

ژن	میزان مقاومت در سویه‌های دارای ژن OXA-48	میزان مقاومت در سویه‌های دارای ژن OXA-23	میزان مقاومت در سویه‌های دارای ژن OXA-24	میزان مقاومت کلی
آنتی بیوتیک‌ها	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
آمی‌سیلین - سولیاکام	6 (85/7)	13 (61/9)	30 (68/2)	44 (66/7)
پیراسیلین - تازوباکتام	7 (100)	21 (100)	44 (100)	66 (100)
سفازیدیم	7 (100)	20 (95/2)	43 (97/7)	65 (98/5)
سفپیم	7 (100)	21 (100)	44 (100)	66 (100)
سفوتاکسیم	7 (100)	21 (100)	44 (100)	66 (100)
ایمی پنم	7 (100)	21 (100)	44 (100)	65 (98/5)
مروپنم	7 (100)	21 (100)	44 (100)	66 (100)
جتامایسین	4 (57/1)	19 (90/5)	28 (63/6)	47 (71/2)
تورامایسین	3 (42/8)	19 (90/5)	23 (52/3)	41 (62/1)
آمیکاسین	6 (85/7)	20 (95/2)	36 (81/8)	55 (83/3)
مایوسایکلین	2 (28/6)	3 (14/8)	13 (29/5)	18 (27/3)
تری متوپریم - سولفامتازول	7 (100)	20 (95/2)	43 (97/7)	64 (97)
سیروفلوکساسین	7 (100)	20 (95/2)	43 (97/7)	64 (97)
کلیستین	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

بر اساس یافته‌های پژوهش، تنها میان داشتن ژن OXA-24 و مقاومت به تورامایسین و آمیکاسین ارتباط معنادار آماری وجود دارد ($P=0/005$). همان‌طور که پیش از این نیز مطرح شد در 7 مورد از اسیتوباکترهای 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 آنتی بیوتیکی 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 ox a-24 به طور همزمان در نمونه های مختلف بالینی

آنتی بیوتیک مورد ارزیابی														جنس و سن	محل اخذ نمونه
کلستین	سیروفلوکسین	کوتريماکسازول	ماینوسایکلین	آمیکاسین	تیرامایسین	جنتامایسین	مروپنم	ایمی پنم	سفتازاکسیم	سفیم	سفتازیدیم	پیراسلین -تازوکتام	آپی سلین -سولیاکام		
S	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	زن -59 سال	ترشحات زخم
S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	زن -83 سال	نمونه ته حلق
S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	مرد -80 سال	خون
S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	مرد -34 سال	خون
S	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	مرد -63 سال	ادرار
S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	مرد -61 سال	ادرار
S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	مرد -68 سال	ترشحات تراشه
														S حساس	I حساسیت نسبی
														R مقاوم	

بحث

اسینتوباکتریومانی پاتوژنی فرصت طلب است که می تواند سبب شیوع عفونت های متنوع بیمارستانی شده و سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک این باکتری می تواند منجر به طولانی تر شدن مدت زمان بستری شدن بیماران در بیمارستان و همچنین هزینه های متعاقب آن گردد. در پژوهش حاضر در 72 درصد از نمونه های 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 سعادتیان فریور و همکارانش (12) که حدود 21 درصد بود، می باشد.

نتایج مطالعه حاضر مقاومت بالای 60 درصد را نسبت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام و کارباپنم تست شده در نمونه های با مقاومت چندگانه نشان داد. همچنین نتایج مطالعات مشابه بر روی اسینتوباکتر بومانی های جمع آوری 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 بیمارستان های امام خمینی، میلاد و مطهری تهران (17) و امام رضا تبریز (18) مقاومت بالای 70 درصد نسبت به خانواده های آنتی بیوتیکی ذکر شده را گزارش کردند. همانگونه که نتایج مطالعه اخیر و مطالعات ذکر شده (13-18) نشان می دهد، فراوانی مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام و همچنین کارباپنم ها در اسینتوباکتر بومانی های بیمارستان های مختلف در ایران بالای حدوداً 60 درصد می باشد. این فراوانی برای کمیته کنترل عفونت

بیمارستان ها می تواند هشدار دهنده باشد. بر اساس نتایج این پژوهش، از میان آنتی بیوتیک های مورد مطالعه کمترین میزان مقاومت در برابر کلیسیستین وجود دارد به طوری که تمامی سویه های مورد مطالعه به این آنتی بیوتیک حساسیت نشان داده اند. ماینوسایکلین دومین آنتی بیوتیک موثر بر روی سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک گزارش گردید و تنها 27/3 درصد از موارد سویه های با مقاومت چندگانه تست شده در این مطالعه به این آنتی بیوتیک مقاومت نشان داده اند. بر اساس یافته های پژوهش، تمامی نمونه های با مقاومت چندگانه نسبت به سفیم، سفتازاکسیم، پیراسیلین -تازوکتام و مروپنم مقاوم هستند. لازم به ذکر است که تعیین MIC نیز می تواند به عنوان یک روش دقیق تر جهت بررسی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی مورد استفاده قرار بگیرد. در پژوهش سعادتیان فریور و همکارانش، 100 درصد نمونه های مورد بررسی نسبت به ریفامپین، بنی سیلین، اریترومایسین و تتراسایکلین مقاومت نشان داده و بیش از 90 درصد از نمونه ها در برابر جنتامایسین، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، اسیدنا لیدیکسیک، آمیکاسین، سفتریوکسیم، استرپتومایسین، سفازولین و کلرامفنیکل مقاوم گزارش شده اند. همانگونه که نتایج مطالعه حاضر و مطالعه سعادتیان فریور (12) نشان می دهد، میزان مقاومت نمونه ها به سفتازیدیم، ایمی پنم، تری متوپریم - سولفامتاکسازول و سیپروفلوکساسین در آنتی بیوتیک های 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 پلی میکسین B و بیشترین مقاومت نسبت به تیکارسلین، سفکسیم و سفتی زوکسیم بوده است (19). در مطالعه جوشقانی و همکارانش نیز کلیه نمونه‌های بالینی به ایمی پنم و کارباپنم مقاوم بودند (11).

در مطالعه قالبی و همکاران در سال 2017 در یزد نیز کلیه گونه‌های استیتوباکتر نسبت به سفتریاکسون، مروپنم و ایمی پنم مقاوم بودند و کمترین مقاومت به ترتیب نسبت به کلیستین و تایگی سیکلین بوده است (20). نتایج این مطالعات (12، 19، 20) نیز با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی داشته و فراوانی بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی را در سویه‌های استیتوباکتر بومانی جمع‌آوری شده از نمونه‌های 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 ژن‌های 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 آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله مروپنم، ایمی پنم، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین، 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 استیتوباکتر بومانی و همچنین شیوه یک نوع خاص از آنزیم‌های عامل مقاومت و انتشار آن در یک منطقه خاص جغرافیایی می‌تواند عامل اختلاف فراوانی ژن‌های مختلف عامل مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مطالعات گوناگون باشد.

یافته‌های پژوهش حاضر بر وجود رابطه معنی‌دار (P=0/005) میان داشتن ژن bla_{OXA-24} مقاومت به توبرامایسین و آمیکاسین دلالت دارد. این بدین معناست که استیتوباکترهای دارای ژن bla_{OXA-24} نسبت به مواردی که این ژن را نداشتند مقاومت بیش‌تری به توبرامایسین دارند و برعکس حساسیت این موارد به ماینوسایکلین نسبت به استیتوباکترهای 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، ایمی پنم، آمپی‌سولباتام، و آمیکاسین می‌شود (23). لذا نتایج مطالعه حاضر و مطالعه اکبری و همکارانش به این نکته اشاره دارد که وجود برخی از آنزیم‌های 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 استیتوباکتر بومانی 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،

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.

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.

References

- 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.
- 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.
- Abdel-El-Haleem D. *Acinetobacter*: environmental and biotechnological applications. *Afr J Biotechnol* 2003; 2(4): 71-74.
- 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.
- Rolain J-M, Loucif L, Al-Maslmani 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.
- Salimizand H, Noori N, Meshkat Z, Ghazvini K, Amel SJ. Prevalence of *Acinetobacter baumannii* harboring ISAb1/blaOXA-23-like family in a burn center. *Burns* 2015; 41(5): 1100-1106.
- 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.
- Oikonomou O, Sarrou S, Papagiannitsis CC, Georgiadou S, Mantzaris 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.
- 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.
- 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.
- 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 Surgical 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. Jondishapur 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 diffusion 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 baumannii 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.