Archive of SID

فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال چهارم، شماره ۱۴، تابستان ۱۳۹۴، صفحه ۷۱- ۸۲
تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۱/۱۷ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۳/۳۱

ردیابی شایع‌ترین ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های *استیتوباکتر بومانی* جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی و بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در آن‌ها

مرضیه توکل[*]: کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اشکذر، اشکذر، ایران، marziyeh.tavakol@yahoo.com
حسن ممتاز: دانشیار میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران، hamomtaz@yahoo.com

چکیده

مقدمه: *استیتو باکتر بومانی* یک کوکوباسیل گرم منفی است که در طبیعت انتشار وسیعی داشته و به عنوان یکی از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شود. به واسطه ایجاد مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در این باکتری، مشکلات فراوانی در درمان موفقیت آمیز بیماران و در پی آن مرگ و میر آن‌ها ایجاد شده است. مطالعه حاضر با هدف ردیابی شایع‌ترین ژن‌های کد کننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های *استیتو باکتر بومانی* جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی انجام شده است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه توصیفی در دو بیمارستان شهر تهران بر روی ۱۲۱ ایزوله *استیتوباکتر بومانی* جدا شده از عفونت‌های بالینی انجام شد. پس از شناسایی ایزوله‌ها با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها به دو روش انتشار دیسک و روش مولکولی (برای ردیابی ژن‌های کد کننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی) تعیین شد.

نتایج: از تعداد ۱۲۱ ایزوله *استیتوباکتر بومانی* جدا شده از نمونه‌های عفونی، بیش‌ترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین با فراوانی ۹۰/۹۰ درصد و بیش‌ترین حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل، نیتروفورانتوئین و مروپنم با فراوانی ۱/۶۵ درصد مشاهده شد. فراوانی حضور ژن‌های *dfrA1*، *tet (A)*، *aac (3) - IV*، *sul1*، *tet (B)*، *aadA1*، *qnr*، *CITM*، bla_{SHV}، *sim*، *vim*، *Oxa-58-like*، *Oxa-24-like*، *imp*، *Oxa-51-like*، *Oxa-23-like*، *cat1*، *cmlA* به ترتیب ۷۹ (۶۵/۲۸ درصد)، ۷۱ (۵۸/۶۷ درصد)، ۶۸ (۵۶/۱۹ درصد)، ۶۷ (۵۵/۳۷ درصد)، ۴۴ (۳۶/۳۶ درصد)، ۴۱ (۳۳/۸۸ درصد)، ۲۹ (۲۳/۹۶ درصد)، ۲۸ (۲۳/۱۴ درصد)، ۲۴ (۱۹/۸۳ درصد)، ۱۷ (۱۴/۰۴ درصد)، ۱۶ (۱۳/۲۲ درصد)، ۱۴ (۱۱/۵۷ درصد)، ۱۲ (۹/۹۱ درصد)، ۱۰ (۸/۲۶ درصد)، ۹ (۷/۴۳ درصد)، ۸ (۶/۶۱ درصد)، ۵ (۴/۱۳ درصد) و ۳ (۲/۴۷ درصد) بود.

بحث و نتیجه‌گیری: وجود مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه در ایزوله‌های مورد مطالعه، استفاده از روش‌های مولکولی در کنار آزمون آنتی بیوگرام برای انتخاب مؤثرترین آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت و لزوم برقراری نظام مراقبت آنتی‌بیوتیکی به منظور موفقیت در برنامه کنترل عفونت را در آینده نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: *استیتو باکتر بومانی*، عفونت‌های بیمارستانی، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی

* نویسنده مسؤول مکاتبات

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

اسینتوباکترها کوکوباسیل‌های گرم منفی و هوازی اجباری هستند که زندگی در محیط‌های مرطوب را ترجیح می‌دهند (۱). مهم‌ترین گونه از این جنس *اسینتوباکتر بومانی* است که عامل بیماری‌های مختلفی از قبیل پنومونی، سپتی سمی، عفونت‌های دستگاه ادراری، عفونت‌های پوستی و زخم، منتژیت و اندوکاردیت می‌باشد (۲ و ۳). میزان کلونیزاسیون *اسینتوباکتر بومانی* در افراد بستری شده در بیمارستان به ویژه در آن‌هایی که مدت بستری شدنشان به درازا کشیده و یا درمان آنتی‌بیوتیکی وسیع و یا درمان ضد سرطان دریافت داشته‌اند، در حال افزایش است (۴ و ۵). یکی از مشکلات موجود در مورد *اسینتوباکتر بومانی* ظهور سویه‌هایی با مقاومت چند دارویی است که به کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیک‌ها نظیر بتالاکتام‌ها، آمینوگلیکوزیدها و فلوروکینولون‌ها مقاوم‌اند (۳). این مقاومت‌ها بیشتر با واسطه ژن‌هایی انجام می‌شود که بر روی عناصر ژنتیکی متحرک مثل ترانسپوزون‌ها و اینتگرون‌ها قرار داشته و به سادگی در میان باکتری‌ها انتشار می‌یابند (۶). مقاومت به آمینوگلیکوزیدها توسط ژن‌های *aacC1* (استیل ترانسفرازی را کد می‌کند که باعث مقاومت به جنتامایسین می‌شود)، 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 جنتامایسین، توبرامایسین و کانامایسین می‌شود) و ژن *aphA6* (فسفوترانسفرازی را کد می‌کند که باعث مقاومت به جنتامایسین، آمیکاسین، کانامایسین و نئومایسین می‌شود). مقاومت به پنی سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها از طریق آنزیم بتالاکتامازی است که توسط ژن *ADC7* و یا ژن *OXAset* کد می‌شود (۷). به نظر می‌رسد عوامل ضد میکروبی جدیدی که بتواند در مقابل این باکتری فعالیت مؤثر داشته باشند در آینده نزدیک در دسترس نباشد که این موضوع اهمیت فعالیت عوامل ضد میکروبی رایج را بیشتر می‌کند. مطالعه حاضر با هدف ردیابی شایع‌ترین ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های *اسینتو باکتر بومانی* جدا شده از بیماران بستری در دو بیمارستان بزرگ شهر تهران و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی این ایزوله‌ها انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

ایزوله‌های باکتریایی: در این مطالعه توصیفی- مقطعی، ۵۰۰ نمونه بالینی شامل خون (۹۸ نمونه)، خلط (۱۴۱ نمونه)، ادرار (۹۲ نمونه)، چرک (۱۳۴ نمونه) و مایع مغزی نخاعی (۳۵ نمونه) از بیماران بستری در بیمارستان‌های پیامبران و بقیهٔ اله (عج) تهران طی مدت ۶ ماه (اسفند۹۱ تا شهریور ۹۲) جداسازی و به آزمایشگاه انتقال داده شد. در آزمایشگاه هر نمونه روی محیط‌های مک کانکی آگار و بلاد آگار کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از ۲۴ ساعت، با آزمایش مستقیم (رنگ آمیزی گرم) وجود کوکوباسیل‌های گرم منفی *اسینتوباکتر* به روش میکروسکوپی تایید شد. سپس، برای تشخیص گونه‌های مختلف *اسینتو باکتر* تست‌های بیوشیمیایی IMVIC، اوره آز، TSI، OF، MRVP، SIM، کاتالاز و اکسیداز و رشد در ۳۷ و ۴۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. ایزوله‌هایی که دارای واکنش لاکتوز منفی، غیر متحرک، اکسیداز منفی، کاتالاز مثبت، اندول منفی، پیگمان منفی، اوره آز مثبت، سیترات مثبت، H_2S منفی، MR منفی و VP منفی بودند به عنوان *اسینتو باکتر بومانی* جداسازی شد و در منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد در محیط

www.SID.ir

Archive of SID

پپتون واتر که حاوی ۳۰ درصد گلیسرول، نگه داری شد.

به منظور تایید قطعی *استینتو باکتر بومانی* در ایزوله‌های مورد مطالعه، از آزمایش PCR در حضور زوج پرایمرهای نشان داده شده در جدول ۱ (با ردیابی ژن *S-23S ribosomal DNA ۱۶*) استفاده شد. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر واجد ۲/۵ میکرولیتر بافر با غلظت ۱۰ برابر[۱]، ۱/۵ میلی‌مولکلرید منیزیم[۲]، ۱۰۰ میکرومول dNTP mix، 1 واحد آنزیم پلی مراز[۳] (فرمنتاس- لیتوانی)، ۱ میکرومول از زوج پرایمرهای F و R و ۲ میکرولیتر از DNA مربوط به هر ایزوله تنظیم شد. برنامه حرارتی مورد استفاده در این مرحله شامل یک سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، ۳۰ سیکل تکراری ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه، ۵۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۵ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه و سیکل انتهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ دقیقه بود. وجود قطعه ۲۰۸جفت بازی تکثیر یافته در این واکنش نشانگر وجود *استینتو باکتر بومانی* در کلونی‌های مورد مطالعه بود (۸).

آزمون تعیین حساسیت و مقاومت ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها: مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی ساخت شرکت پادتن طب، ایران، بر اساس دستورالعمل ۲۰۱۰ CLSI[۴] و مطالعات مشابه و با استفاده از روش انتشار دیسک در محیط مولر هینتون آگار ارزیابی شد (۷، ۹، ۱۰ و ۱۱). شایان ذکر است از سویه استاندارد *اشریشیا کلی ATCC* 25922 به عنوان کنترل منفی کیفیت آنتی بیوگرام و سویه استاندارد *استینتوباکتر بومانی ATCC* 19606 به عنوان کنترل مثبت کیفیت آنتی بیوگرام استفاده شد. آنتی‌بیوتیک‌های آزمون شده شامل: تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم/ دیسک)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم/ دیسک)، سیپروفلوکساسین (۳۰ میکروگرم/ دیسک)، کوتریموکسازول (۱/۲۵/ ۲۳/۷۵ میکروگرم/ دیسک)، توبرامایسین (۱۰ میکروگرم/ دیسک)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم/ دیسک)، نورفلوکساسین (۱۰ میکروگرم/ دیسک)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم/ دیسک)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم/ دیسک)، ریفامپین (۵ میکروگرم/ دیسک)، سفالوتین (۳۰ میکروگرم/ دیسک)، استرپتومایسین (۱۰ میکروگرم/ دیسک)، تری متوپریم (۵ میکروگرم/ دیسک)، لووفلوکساسین (۵ میکروگرم/ دیسک)، ایمی پنم (۱۰ میکروگرم/ دیسک)، مروپنم (۱۰ میکروگرم/ دیسک)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰ میکروگرم/ دیسک)، آزیترومایسین (۱۵ میکروگرم/ دیسک) و اریترومایسین (۱۵ میکروگرم/ دیسک) بودند. در این روش سوسپانسیون باکتری با کدورت معادل ۰/۵ مک فارلند بر روی محیط مولر هینتون آگار تلقیح شد. پس از گذاشتن دیسک‌ها در محیط کشت و ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد برای هر آنتی‌بیوتیک مطابق با دستورالعمل مربوطه به عنوان حساس و مقاوم ثبت شد.

ردیابی ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی: برای ردیابی شایع‌ترین ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی شامل ژن‌های *aadA1* (کدکننده مقاومت به استرپتومایسین)، *aac (3) -IV* (کدکننده مقاومت به جنتامایسین) ، *sul1* (کدکننده مقاومت به سولفونامید)، bla_{SHV}، *CITM* (کدکننده مقاومت به بتالاکتام)، *cat1* و *cmlA* (کدکننده مقاومت به کلرامفنیکل)، *tet (A)* و *tet (B)* (کدکننده مقاومت به تتراسایکلین) ، *dfrA1* (کدکننده مقاومت به تری متوپریم)، *qnr* (کدکننده مقاومت به کوئینولون)، *imp* و *vim*و *sim* (کدکننده مقاومت به کربنی سیلین)، *Oxa-51-like*، *Oxa-23-like*، *Oxa-24-like*، *Oxa-58-like* (کدکننده مقاومت به

www.SID.ir

Archive of SID

اگزاسیلین)، از زوج پرایمرهای نشان داده شده در جدول ۱ به روش PCR استفاده شد. برای این منظور ابتدا DNA ژنومی از ایزوله‌های *استینتو باکتر بومانی* جدا شده در مرحله قبل با استفاده از کیت استخراج [۵] DNA ساخت شرکت فرمنتاس- لیتوانی [۶] استخراج و بسته به اندازه قطعات ژنی مورد مطالعه در چند مرحله به روش DNA چندگانه‌ای آزمایش شد:

برای ردیابی ژن‌های *aadA1*، *aac (3) -IV*، *sul1*، *bla_{SHV}*، *CITM*، *cat1*، *cmlA*، *tet (A)*، *tet (B)*، *dfrA1* و *qnr* واکنش PCR چندگانه ای [۷] در حجم ۵۰ میکرولیتر واجد ۵ میکرولیتر بافر با غلظت ۱۰ برابر، ۲ میلی‌مول کلرید منیزیم، ۱۵۰ میکرومول dNTP mix، ۰/۵ میکرومول از زوج پرایمرهای F و R (مربوط به هر ژن)، ۱/۵ واحد آنزیم پلی مراز و ۲ میکرولیتر از DNA مربوط به هر نمونه تنظیم شد. برنامه حرارتی مورد استفاده برای تکثیر قطعات ژنی فوق شامل یک سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ دقیقه، ۳۳ سیکل تکراری ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۰ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۵ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ دقیقه بود (۱۲- ۱۵).

ردیابی سه ژن *imp*، *vim* و *sim* در یک واکنش PCR چندگانه ای به حجم ۵۰ میکرولیتر واجد ۵ میکرولیتر بافر با غلظت ۱۰ برابر، ۱/۵ میلی‌مول کلرید منیزیم، ۱۰۰ میکرومول dNTP mix، ۱ میکرومول از زوج پرایمرهای F و R مربوط به هر ژن، ۱ واحد آنزیم پلی مراز و ۲/۵ میکرولیتر از DNA مربوط به هر نمونه با برنامه حرارتی زیر انجام شد:

یک سیکل ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه، ۳۰ سیکل تکراری ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه (۱۶). به منظور ردیابی ژن‌های کدکننده مقاومت به اگزااسیلین (ژن‌های *Oxa-51-like*، *Oxa-23-like*، *Oxa-24-like*، *Oxa-58-like*)، از یک واکنشPCR چندگانه‌ای با حجم ۵۰ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر بافر با غلظت ۱۰ برابر، ۲/۵ میلی‌مول کلرید منیزیم، ۲۰۰ میکرومول dNTP mix، ۰/۵ میکرومول از زوج پرایمرهای F و R مربوط به هر ژن، ۱/۵ واحد آنزیم پلی مراز و ۲ میکرولیتر ازDNA مربوط به هر ایزوله استفاده شد. برنامه حرارتی مورد استفاده در این مرحله عبارت بود از: یک سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۲ سیکل تکراری ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۰ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه (۱۷).

برای تکثیر قطعات ژنی مورد مطالعه از دستگاه ترموسایکلر [۸] استفاده شد. به منظور ردیابی قطعه ژنی تکثیر یافته در PCR از الکتروفورز محصول PCR روی ژل آگاروز استفاده شد. در این مرحله ۱۵ میکرولیتر از محصول PCR مربوط به هر مرحله از آزمایش در حضور مارکر ۱۰۰ جفت بازی DNA (فرمنتاس- لیتوانی) روی ژل ۱/۵ درصد آگاروز واجد اتیدیوم بروماید در ولتاژ ثابت ۹۰ ولت به مدت در حدود ۴۵ دقیقه الکتروفورز و پس از مشاهده ژل به دست آمده با دستگاه ترانس لومیناتور (UVitech) UV، انگلستان، تصویر به دست آمده روی کاغذ حرارتی ثبت شد.

تجزیه و تحلیل آماری نتایج: داده‌های حاصل از نتایج به دست آمده در این مطالعه با نرم افزار آماری SPSS ver.16 و مدل‌های آماری مربع کای و دقیق فیشر در سطح اطمینان ۹۵ درصد تحلیل شد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی شایع‌ترین ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های *اسینتو باکتر بومانی*

مقاومت آنتی‌بیوتیکی	نام ژن	توالی پرایمر (۵'-۳')	اندازه محصول (جفت باز)	منبع
Streptomycin	*aadA1*	(F) TATCCAGCTAAGCGCGAACT (R) ATTTGCCGACTACCTTGGTC	۴۴۷	۱۲
Gentamicin	*aac (3) -IV*	(F) CTTCAGGATGGCAAGTTGGT (R) TCATCTCGTTCTCCGCTCAT	۲۸۶	۱۲
Sulfonamide	*sul1*	(F) TTCGGCATTCTGAATCTCAC (R) ATGATCTAACCCTCGGTCTC	۸۲۲	۱۲
Beta-lactams	bla_{SHV}	(F) TCGCCTGTGTATTATCTCCC (R) CGCAGATAAATCACCACAATG	۷۶۸	۱۲
Beta-lactams	*CITM*	(F) TGGCCAGAACTGACAGGCAAA (R) TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC	۴۶۲	۱۲
Chloramphenicol	*cat1*	(F) AGTTGCTCAATGTACCTATAACC (R) TTGTAATTCATTAAGCATTCTGCC	۵۴۷	۱۲
Chloramphenicol	*cmlA*	(F) CCGCCACGGTGTTGTTGTTATC (R) CACCTTGCCTGCCCATCATTAG	۶۹۸	۱۲
Tetracycline	*tet (A(*	(F) GGTTCACTCGAACGACGTCA (R) CTGTCCGACAAGTTGCATGA	۵۷۷	۱۳
Tetracycline	*tet (B(*	(F) CCTCAGCTTCTCAACGCGTG (R) GCACCTTGCTGATGACTCTT	۶۳۴	۱۳
Trimethoprim	*dfrA1*	(F) GGAGTGCCAAAGGTGAACAGC (R) GAGGCGAAGTCTTGGGTAAAAAC	۳۶۷	۱۴
Quinolones	*qnr*	(F) GGGTATGGATATTATTGATAAAG (R) CTAATCCGGCAGCACTATTTA	۶۷۰	۱۵
Carbiniciline	*imp*	(F) GAATAGAATGGTTAACTCTC (R) CCAAACCACTAGGTTATC	۱۸۸	۱۶
Carbiniciline	*vim*	(F) GTTTGGTCGCATATCGCAAC (R) AATGCGCAGCACCAGGATAG	۳۸۲	۱۶
Carbiniciline	*sim*	(F) GTACAAGGGATTCGGCATCG (R) GTACAAGGGATTCGGCATCG	۵۶۹	۱۶
Oxacillinases	*Oxa-51-like*	(F) TAATGCTTTGATCGGCCTTG (R) TGGATTGCACTTCATCTTGG	۳۵۳	۱۷
Oxacillinases	*Oxa-23-like*	(F) GATCGGATTGGAGAACCAGA (R) ATTTCTGACCGCATTTCCAT	۵۰۱	۱۷
Oxacillinases	*Oxa-24-like*	(F) GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA (R) AGTTGAGCGAAAAGGGGATT	۲۴۶	۱۷
Oxacillinases	*Oxa-58-like*	(F) AAGTATTGGGGCTTGTGCTG (R) CCCCTCTGCGCTCTACATAC	۵۹۹	۱۷
A. baumannii detection	*16S-23S ribosomal DNA*	(F) CATTATCACGGTAATTAGTG (R) AGAGCACTGTGCACTTAAG	۲۰۸	۸

نتایج

همان‌گونه که در جدول ۲ مشهود است از مجموع ۵۰۰ نمونه اخذ شده از انواع عفونت‌های بیمارستانی تعداد ۱۲۱ نمونه (۲۴/۲۰ درصد)، آلوده به *اسینتو باکتر بومانی* بودند که در این میان بیش‌ترین میزان آلودگی مربوط به نمونه‌های اخذ شده از خون (موارد باکتریمی) با ۴۳/۸۷ درصد و کم‌ترین میزان مربوط به نمونه‌های اخذ شده از چرک‌ها و آبسه‌های سطحی با ۱۱/۹۴ درصد آلودگی برآورد شد. تجزیه و تحلیل آماری نتایج نشانگر وجود اختلاف آماری معناداری (*P value* = ۰/۰۲۳) بین میزان آلودگی نمونه‌های خون با نمونه‌های اخذ شده از عفونت‌های چرکی و مایع مغزی نخاعی[۹] بود. تمام ۱۲۱ ایزوله *اسینتو باکتر بومانی* جدا شده به منظور تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در حضور شایع‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در درمان بیماری‌های عفونی در انسان به روش انتشار دیسکی ساده مطالعه شدند، که نتایج آن در جدول ۳ نشان داده شده است. بر اساس اطلاعات این جدول ۹۰/۹۰ درصد از ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین مقاوم بودند اما مقاومت به آنتی‌بیوتیک

www.SID.ir

Archive of SID

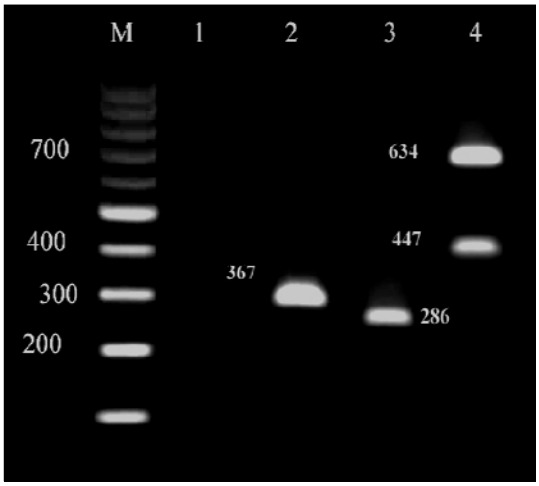
کلرامفنیکل، نیتروفورانتوئین و مروپنم با فراوانی ۱/۶۵ درصد کم‌ترین مقدار بود.

تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات مربوط به جدول بالا نشانگر وجود اختلاف آماری معنادار بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *اسینتو باکتر بومانی* به تتراسایکلین با سه آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل، نیتروفورانتوئین و مروپنم (*P value* = ۰/۰۱۲)، بین مقاومت به تتراسایکلین و مقاومت به ایمی پنم و لووفلوکساسین (*P value* = ۰/۱۴۶) و نیز بین مقاومت به تری متوپریم با پنج آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل، نیتروفورانتوئین، مروپنم، ایمی پنم و لووفلوکساسین (*P value* = ۰/۳۲۱) بود.

حضور شایع‌ترین ژن‌های کدکننده مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های معمول در درمان عفونت‌های بیمارستانی در انسان به روش PCR چندگانه ای بررسی شدند. همان گونه که در جدول ۴ آورده شده است، فراوانی حضور ژن‌های کدکننده مقاومت به تتراسایکلین (۹۵/۰۳ درصد) بیش‌ترین و ژن‌های کدکننده مقاومت به کلرامفنیکل (۶/۶ درصد) کم‌ترین مقدار بود. در این میان ژن‌های کدکننده مقاومت به کربنی سیلین‌ها و اگزاسیلین‌ها با ۲۹/۷۳ و ۳۵/۵۲ درصد از ایزوله‌های *اسینتو باکتر بومانی* جدا شده ردیابی شدند.

تحلیل آماری اطلاعات جدول بالا نشانگر وجود اختلاف آماری معنا دار بین فراوانی حضور ژن‌های *tetA* و *tetB* با سایر ژن‌های مورد مطالعه (*P value* = ۰/۲۴۱) بود.

تصاویر مربوط به الکتروفورز محصول PCR مربوط به تعدادی از ژن‌های مورد مطالعه در شکل ۱ نشان داده شده است:



شکل ۱- ژل حاصل از الکتروفورز محصول PCR مربوط به ژن‌های *dfrA1* (قطعه ۳۶۷ جفت بازی)، *tetB* (قطعه ۶۳۴ جفت بازی)، *aadA1* (قطعه ۴۴۷ جفت بازی) و *aac (3) -IV* (قطعه ۲۸۶ جفت بازی)، ستون M= مارکر ۱۰۰ جفت بازی DNA، ستون ۱= کنترل منفی

جدول ۲- فراوانی ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* برحسب نوع نمونه بالینی

نوع نمونه	تعداد نمونه اخذ شده	تعداد ایزوله *اسینتو باکتر بومانی*	درصد
خون	۹۸	۴۳	۴۳/۸۷
خلط	۱۴۱	۳۴	۲۴/۱۱
ادرار	۹۲	۲۲	۲۳/۹۱
چرک	۱۳۴	۱۶	۱۱/۹۴
مایع مغزی نخاعی (CSF)	۳۵	۶	۱۷/۱۴
تعداد کل	۵۰۰	۱۲۱	۲۴/۲۰

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های *استینتو باکتر بومانی* جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی

نمونه	استرپتومایسین	جنتامایسین	آمیکاسین	توبرامایسین	کوتریموکسازول	سفالوتین	سفتازیدیم	تتراسایکلین	تری متوپریم
خون (۴۳)	۱۱	۱۹	۸	۷	۲۹	۱۲	۸	۴۱	۲۸
خلط (۳۴)	۷	۱۰	۳	۲	۱۷	۹	۲	۳۰	۲۶
ادرار (۲۲)	۶	۷	۴	۳	۱۱	۲	۷	۲۰	۱۲
چرک (۱۶)	۱۲	۲	۰	۰	۴	۰	۳	۱۵	۹
مایع مغزی نخاعی (۶)	۲	۰	۰	۰	۱	۲	۰	۴	۰
کل (۱۲۱)	۳۸ (٪ ۳۱/۴۰)	۳۸ (٪ ۳۱/۴۰)	۱۵ (٪ ۱۲/۳۹)	۱۲ (٪ ۹/۹۱)	۶۲ (٪ ۵۱/۲۳)	۲۵ (٪ ۲۰/۶۶)	۲۰ (٪ ۱۶/۵۲)	۱۱۰ (٪ ۹۰/۹۰)	۷۵ (٪ ۶۱/۹۸)
نمونه	سیپروفلوکساسین	لووفلوکساسین	ایمی پنم	مروپنم	کلرامفنیکل	نیتروفورانتوئین	آزیترومایسین	ریفامپین	اریترومایسین
خون (۴۳)	۵	۰	۱	۱	۰	۰	۴	۲	۴
خلط (۳۴)	۴	۳	۲	۰	۰	۰	۲	۴	۳
ادرار (۲۲)	۱	۲	۱	۱	۱	۲	۳	۴	۳
چرک (۱۶)	۰	۲	۲	۰	۱	۰	۱	۰	۷
مایع مغزی نخاعی (۶)	۲	۱	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰
کل (۱۲۱)	۱۲ (٪ ۹/۹۱)	۸ (٪ ۶/۶۱)	۷ (٪ ۷۸/۵)	۲ (٪ ۱/۶۵)	۲ (٪ ۱/۶۵)	۲ (٪ ۱/۶۵)	۱۰ (٪ ۸/۲۶)	۱۰ (٪ ۸/۲۶)	۱۷ (٪ ۱۴/۰۴)

جدول ۴- توزیع ژن‌های کدکننده مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در ایزوله‌های *استینتو باکتر بومانی* جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی

نمونه	*aadA1*	*aac (3) - IV*	*sul1*	*bla_{SHV}*	*CITM*	*tetA*	*tetB*	*dfrA1*	*qnr*
خون (۴۳)	۱۲	۳۴	۳۰	۸	۱۲	۳۱	۱۱	۲۸	۱۶
خلط (۳۴)	۸	۱۳	۱۸	۸	۱۰	۲۰	۱۲	۲۷	۷
ادرار (۲۲)	۷	۱۴	۱۲	۵	۲	۱۴	۷	۱۲	۳
چرک (۱۶)	۱۲	۷	۵	۳	۱	۶	۹	۱۰	۰
مایع مغزی نخاعی (۶)	۲	۰	۲	۰	۳	۰	۵	۲	۳
کل (۱۲۱)	۴۱ (٪ ۳۳/۸۸)	۶۸ (٪ ۵۶/۱۹)	۶۷ (٪۵۵/۳۷)	۲۴ (٪۱۹/۸۳)	۲۸ (٪۲۳/۱۴)	۷۱ (٪۵۸/۶۷)	۴۴ (٪۳۶/۳۶)	۷۹ (٪۶۵/۲۸)	۲۹ (٪۲۳/۹۶)
نمونه	*vim*	*sim*	*Oxa-51-like*	*Oxa-23-like*	*Oxa-24-like*	*Oxa-58-like*	*cat1*	*cmlA*	*imp*
خون (۴۳)	۴	۷	۳	۰	۱	۰	۰	۰	۲
خلط (۳۴)	۲	۰	۳	۴	۸	۳	۰	۰	۴
ادرار (۲۲)	۷	۵	۲	۳	۲	۶	۴	۱	۲
چرک (۱۶)	۳	۵	۰	۱	۰	۲	۱	۲	۲
مایع مغزی نخاعی (۶)	۰	۰	۱	۰	۱	۳	۰	۰	۰
کل (۱۲۱)	۱۶ (٪۱۳/۲۲)	۱۷ (٪۱۴/۰۴)	۹ (٪۷/۴۳)	۸ (٪۶/۶۱)	۱۲ (٪۹/۹۱)	۱۴ (٪۱۱/۵۷)	۵ (٪۴/۱۳)	۳ (٪۲/۴۷)	۱۰ (٪۸/۲۶)

www.SID.ir

Archive of SID

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه گسترش ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی با ایجاد مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی چندگانه به مشکل مهمی در درمان عفونت‌های حاصل از *استینتو باکترها* تبدیل شده است (۱۸). مطالعات مختلف نشان داده که *استینتو باکتر بومانی* به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام و کینولون‌ها مقاوم بوده و مقاومت آن به آمینوگلیکوزیدها نیز در حال افزایش است (۱۹). مطالعه حاضر با هدف تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *استینتو باکتر بومانی* جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی با دو روش معمول آنتی بیوگرام و ردیابی ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی (به روش PCR) انجام گرفت و مشخص شد که تمام ایزوله‌های مورد بررسی دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه بوده‌اند و به آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین، جنتامایسین، تتراسایکلین، تری متوپریم و کوتریموکسازول مقاوم هستند؛ اما تمام آن‌ها نسبت به سه آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل، نیتروفورانتوئین و مروپنم حساس بودند که در مطالعه انجام شده توسط کارولوسکی[10] و همکاران در فاصله سال‌های ۱۹۹۸ تا ۲۰۰۱ این امر به اثبات رسیده و آن‌ها نیز حساسیت ایزوله‌های *استینتو باکتر* به مروپنم را ۹۰ درصد گزارش کرده‌اند (۲۰). در مطالعه‌ای که توسط آیان[11] و همکاران در سال ۲۰۰۳ انجام گرفت مشخص شد که از ۵۲ سویه مورد مطالعه، همه ایزوله‌ها به پیپراسیلین، تازوباکتام، تیکارسیلین-کلاولانیک اسید، سفپیم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفتریاکسون، جنتامایسین و آزترونام مقاوم بوده و مقاومت به توبرامایسین، سیپروفلوکساسین، آمپی سیلین- سولباکتام، کوتریموکسازول و آمیکاسین به ترتیب در ۵، ۸، ۵۵، ۶۶ و ۷۴ درصد ایزوله‌ها مشاهده شد (۲۱). مطالعه‌ای که توسط باسوستاگلو[12] و همکاران در سال ۲۰۰۱ به منظور بررسی ویژگی‌های اپیدمیولوژیک سویه‌های *استینتو باکتر بومانی* انجام گرفت نشان داد که از ۳۲ ایزوله *استینتو باکتر بومانی* مورد بررسی، همه ایزوله‌ها به ایمی پنم حساس بودند که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (۲۲). در مطالعه‌ای که توسط اسمولیلکوو[13] و همکاران به منظور بررسی عفونت‌های ناشی از *استینتو باکتر بومانی* با مقاومت دارویی چندگانه انجام گرفت مشخص شد که ۹۳ درصد سویه‌ها به ایمی پنم و ۱۰۰ درصد سویه‌ها به کلیستین و آمپی سیلین- سولباکتام حساس می‌باشند (۲۳). در مطالعه وانگ[14] و همکاران در سال ۲۰۰۳ که بر روی اپیدمی‌های ناشی از *استینتو باکتر بومانی* مقاوم به دارو در بخش ICU انجام گرفت، مشخص شد که تمام سویه‌ها به آزترونام، آمیکاسین، آمپی سیلین- سولباکتام، سفتازیدیم، سفپیم، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، ایمی پنم، مروپنم، پیپراسیلین- تازوباکتام و تیکارسیلین- کلاولانیک اسید مقاوم و به پلی میکسین حساس هستند (۲۴). در مطالعه ما ۸۷/۶ درصد سویه‌ها به آمیکاسین حساس بودند که در این مورد نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش وانگ و همکاران مطابقت ندارد. همچنین برخلاف مطالعه اسمولیاکوو در مطالعه وانگ تمام سویه‌ها به ایمی پنم و آمپی سیلین -سولباکتام مقاوم بودند (۲۳ و ۲۴). میرنژاد[15] و همکاران در مطالعه انجام شده در سال ۱۳۹۰ نشان دادند که مروپنم و توبرامایسین مؤثرترین آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت‌های بیمارستانی ناشی از اسینتوباکتر بومانی بوده در حالی که ایزوله‌های مورد بررسی مقاومت بسیار بالایی در برابر سفپیم و آمیکاسین نشان دادند (۲۵). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۸ در ترکیه انجام شد، میزان مقاومت نسبت به پیپراسیلین، پیپراسیلین- تازوباکتام، سیپروفلوکساسین و

www.SID.ir

Archive of SID

سفتازیدیم به ترتیب ۱۰۰، ۹۲/۴، ۸۳/۳ و ۷۴/۲ درصد بود و مقاومت بالایی نیز نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها گزارش شد (۲۶)، در حالی که در مطالعه کای[۱۶] و همکاران در سال ۲۰۱۲ از مجموع ۱۷۶ ایزوله *اسینتو باکتر*، ۱۲۸ ایزوله MDR بوده اند که از میان آن‌ها ۹۰/۶۳ درصد به ایمی پنم و ۹۵/۳۱ درصد به مروپنم مقاوم بوده اند اما در عین حال تنها ۱۵/۶۳ درصد نسبت به سیپروفلوکساسین مقاومت داشتند (۲۷). کرباسی زاده و حیدری [۱۷] در بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۵۰ ایزوله اسینتوباکتر بومانی جدا شده از بخش مراقبت‌های ویژه در شهر اصفهان نشان دادند که ۸۵ درصد ایزوله‌ها دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه هستند (۲۸). طالبی طاهر[۱۸] و همکاران از ۵۱ نمونه خلط مورد مطالعه ۳۵ ایزوله اسینتوباکتر جدا کردند که درصد بالایی از ایزوله‌ها به ایمی پنم، پیپراسیلین، تازوباکتام، سفالوسپورین‌های نسل سوم و جنتامایسین مقاوم بوده و نتیجه گرفتند که مقاومت آنتی‌بیوتیکی در گونه‌های اسینتوباکتر رو به افزایش بوده و اقدامات پیشگیری کننده سریع انجام شود (۲۹).

در بخش ردیابی ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی ژن‌های *tetA*و*tetB* با فراوانی ۹۵/۰۴ درصد شایع‌ترین ژن‌های ردیابی شده در ایزوله‌های مورد مطالعه بودند.

ژن‌های کدکننده مقاومت به کربنی سیلین‌ها (*vim*، *sim* و *imp*) و اکساسیلین‌ها (*Oxa-51-lik*، *Oxa-23-lik*، *Oxa-24-lik*و*Oxa-58-lik*) در ۳۵/۵۳ و ۳۶/۳۶ درصد از ایزوله‌های *اسینتو باکتر بومانی* جدا شده حضور داشتند. در مطالعه انجام شده توسط هوجر[۱۹] و همکاران فراوانی حضور ژن‌های *blaADC* و *blaOXA-like*، ۹۹ و ۹۷ درصد بود که در مقایسه با این پژوهش بیش‌تر بود.

در این مطالعه ژن‌های *aacC1*، *apha6*، *aadB* و *aadA1* در ۵۶، ۷۱، ۴۸ و ۳۹ درصد از ایزوله‌ها ردیابی شد (۶). در حالی که در مطالعه حاضر ژن *aadA1* در ۸۸/۳۳ و *aac (3) -IV* در ۱۹/۵۶ درصد از ایزوله‌های مورد مطالعه حضور داشت. نمک[۲۰] و همکاران با ردیابی ژن‌های کدکننده مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در ۱۰۱ ایزوله *اسینتو باکتر بومانی* نشان دادند که ژن‌های *aacC1* و *aadA1* در ۶۸ ایزوله، ژن *apha6* در ۵۵ ایزوله و ژن *aadB* در ۳۱ ایزوله وجود دارند (۳۰). فراهانی خلت آبادی[۲۱] و همکاران (۱۳۸۷) الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی وتوزیع ژن های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در گونه‌های *اسینتوباکتر* جدا شده از بیمارستان شهید بهشتی کاشان را مطالعه کردند. در این بررسی ۴۸ ایزوله *اسینتوباکتر بومانی*، ۶ ایزوله *اسینتوباکتر لوفی* و ۶ ایزوله از سایر گونه‌های *اسینتوباکتر* از بیماران جدا شد. گونه های *اسینتوباکتر* به ترتیب بیش‌ترین مقاومت را به آمیکاسین، توبرامایسین، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، پیپراسیلین-تازوباکتام، داکسی سیکلین، تریمتوپریم/ سولفامتوکسازول، مینوسیکلین، لووفلوکساسین، ایمی پنم و سولباکتام/ آمپی سیلین نشان دادند. مقاومت به چند آنتی‌بیوتیک در ۶۶/۷ درصد ایزوله‌ها دیده شد. میزان حضور ژن های، *aphA6*، *aacC1*، *ADC-7*، *OXA SET C*، *aadA1* و *aadB*، به ترتیب ۳۹ (۶۵ درصد)، ۳۸ (۶۳/۲ درصد)، ۳۴ (۵۶/۷ درصد)، ۳۲ (۵۳/۳ درصد)، ۲۵ (۴۱/۷ درصد) و ۲ (۳/۳ درصد) گزارش شد (۳۱). علت اختلاف در الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی تعیین شده در این مطالعه با مطالعات مشابه انجام شده در ایران و خارج از ایران می‌تواند مربوط به تفاوت در نوع نمونه بالینی اخذ شده، تعداد نمونه‌های مورد مطالعه، روش نمونه گیری، نوع

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعه طراحی شده، منطقه جغرافیایی و شرایط آب و هوایی منطقه، اولویت در تجویز آنتی‌بیوتیک‌های مختلف توسط پزشکان منطقه و در دسترس بودن آنتی‌بیوتیک‌های مختلف باشد.

در پایان به این موضوع باید اشاره کرد که آنچه در بیشتر مطالعات به چشم می‌خورد، این است که بیش‌تر ایزوله‌های *اسینتو باکتر* به سفالوسپورین‌های نسل سوم، تیکارسیلین- آزترونام و تیکارسیلین- کلاولانیک اسید مقاوم و به کلیستین حساس هستند. با توجه به این که در کشور ما مطالعات کمی در رابطه با ویژگی‌های اپیدمیولوژیک و الگوی مقاومت دارویی ایزوله‌های *اسینتو باکتر بومانی* انجام گرفته است، توجه به نقش این باکتری به عنوان یک عامل بالقوه خطرناک در عفونت‌های بیمارستانی ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از زحمات مدیریت محترم بخش عفونی بیمارستان‌های مورد مطالعه و کارشناس محترم آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد جناب آقای مهندس منوچهر مومنی تشکر و قدردانی می کنند.

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. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2007; 51 (11): 4022- 8.

(2) Gordon NC., Wareham DW. Multidrug-resistant Acinetobacter baumannii: mechanisms of virulence and resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2010; 35 (3): 219- 26.

(3) Bou G., Cerveró G., Domínguez MA., Quereda C., Martínez-Beltrán J. Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter* baumannii strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in A. baumannii is not due solely to the presence of beta-lactamases. *Journal of Clinical Microbiology* 2000; 38 (9): 3299- 305.

(4) Bergogne-Bérézin E., Towner KJ. Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clinical Microbiology Reviews* 1996; 9 (2): 148- 65.

(5) Coelho J., Woodford N., Turton J., Livermore DM. Multiresistant acinetobacter in the UK: how big a threat? *Journal of Hosptal Infection* 2004; 58 (3): 167- 9.

(6) 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- 6.

(7) 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. *Antimicrobal Agents and Chemotherapy* 2006; 50 (12): 4114- 23.

(8) Chiang MC., Kuo SC., Chen YC., Lee YT., Chen TL., Fung CP. Polymerase chain reaction assay for the detection of *Acinetobacter baumannii* in endotracheal aspirates from patients in the intensive care unit. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 2011; 44 (2): 106- 10.

(9) Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing; 20th informational supplement. CLSI/ NCCLS M100-S20. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa, 2010.

www.SID.ir

Archive of SID

(10) Najafipour S., Jafari S., Kargar M., Abdollahy A., Mardaneh J., Fasihy Ramandy M., et al. Phenotypical Evaluation of Multi-Drug Resistant *Acinetobacter Baumannii*: Original Article. *Journal of Fasa University of Medical Sciences* 2012; 2 (4): 254- 8.

(11) Moosavian M., Shoja S., Peymani A., Tabatabaiefar MA., Rostami S., Ebrahimi N. Genotyping of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from tracheal tube discharge of hospitalized patients in intensive care units, Ahvaz, Iran. *Iranian Journal of Medical Microbiology* 2013; 5 (4): 315-22.

(12) Van TT., Chin J., Chapman T., Tran LT., Coloe PJ. Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of Escherichia coli isolations for antibiotic resistance and virulence genes. *International Journal of Food Microbiology* 2008; 124 (3): 217- 23.

(13) Randall LP., Cooles SW., Osborn MK., Piddock LJ., Woodward MJ. Antibiotic resistance genes, integrons and multiple antibiotic resistance in thirty-five serotypes of Salmonella enterica isolated from humans and animals in the UK. *Journal of Antimicrobal Chemotherapy* 2004; 53 (2): 208- 16.

(14) Toro CS., Farfán M., Contreras I., Flores O., Navarro N., Mora GC., et al. Genetic analysis of antibiotic-resistance determinants in multidrug-resistant Shigella strains isolated from Chilean children. *Epidemiology* & *Infection* 2005; 133 (1): 81- 6.

(15) Mammeri H., Van De Loo M., Poirel L., Martinez-Martinez L., Nordmann P. Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Escherichia coli* in Europe. *Antimicrobal Agents and Chemotherapy* 2005; 49 (1): 71- 6.

(16) Mendes RE., Kiyota KA., Monteiro J., Castanheira M., Andrade SS., Gales AC., et al. Rapid detection and identification of metallo-beta-lactamase-encoding genes by multiplex real-time PCR assay and melt curve analysis. *Journal of Clinical Microbiology* 2007; 45 (2): 544- 7.

(17) Woodford N., Ellington MJ., Coelho JM., Turton JF., Ward ME., Brown S., et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in Acinetobacter spp. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2006; 27 (4): 351- 3.

(18) Garnacho-Montero J., Amaya-Villar R. Multiresistant Acinetobacter *baumannii* infections: epidemiology and management. *Current Opinion in Infectious Diseases* 2010; 23 (4): 332- 9.

(19) Van Looveren M., Goossens H.; ARPAC Steering Group. Antimicrobial resistance of Acinetobacter spp. in Europe. *Clinical Microbiology and Infectious* 2004; 10 (8): 684- 704.

(20) Karlowsky JA., Draghi DC., Jones ME., Thornsberry C., Friedland IR., Sahm DF. Surveillance for antimicrobial susceptibility among clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii from hospitalized patients in the United States, 1998 to 2001. *Antimicrobal Agents and Chemotherapy* 2003; 47 (5): 1681- 8.

(21) Ayan M., Durmaz R., Aktas E., Durmaz B. Bacteriological, clinical and epidemiological characteristics of hospital-acquired Acinetobacter baumannii infection in a teaching hospital. *Journal of Hosptal Infection* 2003; 54 (1): 39- 45.

(22) Basustaoglu AC., Kisa O., Sacilik SC., Ozyurt M., Yildiran ST. Epidemiological characterization of hospital-acquired Acinetobacter baumannii isolates from a 1500-bed teaching hospital by phenotypic and genotypic methods. *Journal of Hosptal Infection* 2001; 47 (3): 246- 7.

(23) 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. *Journal of Hosptal Infection* 2003; 54 (1): 32- 8.

www.SID.ir

Archive of SID

(24) Wang SH., Sheng WH., Chang YY., Wang LH., Lin HC., Chen ML., et al. Healthcare-associated outbreak due to pan-drug resistant *Acinetobacter baumannii* in a surgical intensive care unit. *Journal of Hosptal Infection* 2003; 53 (2): 97- 102.

(25) Mirnejad R., Mostafavi S., Masjedian F. Role of Class 2 Integron in Antibiotic Susceptibility Pattern of *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated from Hospitals in Tehran. *Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences* 2012; 18 (4): 22- 9.

(26) Baran G., Erbay A., Bodur H., Ongürü P., Akinci E., Balaban N., et al. Risk factors for nosocomial imipenem-resistant Acinetobacter baumannii infections. *International Journal of Infectious Diseases* 2008; 12 (1): 16- 21.

(27) Cai Y., Chai D., Wang R., Liang B., Bai N. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2012; 67 (7): 1607- 15.

(28) Karbasizade V., Heidari L. Antimicrobial Resistance of *Acinetobacter Baumannii* Isolated from Intensive Care Units of Isfahan Hospitals, Iran. *Journal of Isfahan Medical School* 2012; 30 (191): 759- 63.

(29) Talebi-Taher M., Latifnia M., Javad-Moosavai SA., Adabi M., Rastgar Lari A., Abdizadeh MF., et al. Risk factors and antimicrobial susceptibility in ventilator associated pneumonia: a brief report. *Tehran University Medical Journal* 2012; 70 (9): 577- 82.

(30) Nemec A., Dolzani L., Brisse S., van den Broek P., Dijkshoorn L. Diversity of aminoglycoside-resistance genes and their association with class 1 integrons among strains of pan-European Acinetobacter baumannii clones. *Journal of Medical Microbiology* 2004; 53 (Pt 12): 1233- 40.

(31) Farahani Kheltabadi R., Moniri R., Shajari GR., Nazem Shirazi MH., Musavi SGA., 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 Journal of Kashan University of Medical Sciences* 2009; 12 (4): 61- 7.

[1]- PCR buffer 10X
[2]- $MgCl_2$
[3]- Taq DNA Polymerase
[4]- Clinical and Laboratory Standards Institute
[5] - DNA Genomic Purification Kit
[6] - Fermentas-Lithuania
[7]- Multiplex PCR
[8]- Thermo Cycler (Eppendorf, Mastercycler ® 5330, Eppendorf- Netheler- Hinz GmbH, Hamburg, Germany)
[9]- Cerebral Spinal Fluid (CSF)
[10]- Karlowsky
[11]- Ayan
[12]- Basustaoglu
[13]- Smolyakov
[14]- Wang
[15]- Mirnejad
[16]- Cai
[17]- Karbasizade and Heidary
[18]- Talebi-Taher
[19] -Hujer
[20]- Nemec
[21] -Farahani Kheltabadi

www.SID.ir

Archive of SID

Detection of the most prevalent antibiotic resistance genes in *Acinetobacter baumannii* strains isolated from hospital infections and determination of their antibiotic resistance pattern

Marziyeh Tavakol *
M.Sc. of Microbiology, Ashkzar Branch, Islamic Azad University, Ashkzar -Iran, marziyeh.tavakol@yahoo.com
Hassan Momtaz
Associated Professor of Microbiology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord-Iran, hamomtaz@yahoo.com

Abstract

Introduction: *Acinetobacter baumannii* is a gram-negative coccobacill that has a great distribution in the nature and is considered as one of the important causes of hospital infections. Due to the antibiotic resistances in this bacterium several problems in the successful treatment of patients and subsequently their mortality have been occurred. The present study was carried out in order to detect the most prevalent antibiotic resistance genes in *Acinetobacter baumannii* strains isolated from the hospital infections.

Materials and methods: This descriptive study was carried out on 121 strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from clinical samples of two hospitals of Tehran city. After identifying isolates using the biochemical tests, the antibiotic resistance pattern of them was done using the disk diffusion and molecular (in order to identify the antibiotic resistance genes) methods.

Results: Of 121 strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from infectious samples, the most commonly detected antibiotic resistance was against tetracycline and the most sensitivity was achieved against chloramphenicol, nitrofurantoin and meropenem by distribution of 1.65 %. The distribution of *dfrA1, tet(A), aac(3)-IV, sul1, tet(B), aadA1, qnr, CITM, blaSHV, sim, vim, oxa-58-like. Oxa-24-like, imp, oxa-51-like, oxa-23-like, cat1* and *cmlA* were 79 (65.27 %), 71 (58.67 %), 68 (56.19 %), 67 (55.37 %), 44 (36.36 %), 41 (33.88 %), 29 (23.96 %), 28 (23.14%), 24 (19.83 %), 17 (14.04 %), 16 (13.22 %), 14 (11.57 %), 12 (9.91 %), 10 (8.26 %), 9 (7.43 %), 8 (6.61 %), 5 (4.13 %) and 3 (2.47 %), respectively.

Discussion and conclusion: Multiple antibiotic resistance in studied isolates the use of molecular techniques in the antibiogram test to select the most effective antibiotic treatment of infections and the importance of continued antibiotic surveillance that will provide succession in the efforts of infection control programs for the future.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, Hospital infections, Antibiotic resistance pattern, Antibiotic resistance genes

* Corresponding author
Received: April 6, 2014 / **Accepted:** June 21, 2014

www.SID.ir